

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ОРДЕНА ЛЕНИНА СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ ПУБЛИЧНАЯ
НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКАЯ БИБЛИОТЕКА
АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
ИНСТИТУТ КЛИНИЧЕСКОЙ И
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ

И. Б. Цырлов

ХЛОРИРОВАННЫЕ ДИОКСИНЫ
БИОЛОГИЧЕСКИЕ
И МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ

Аналитический обзор

НОВОСИБИРСК
1990

Цырлов И.Б. Хлорированные диоксины: биологические и медицинские аспекты: Аналит. обзор / ГПНТБ СО АН СССР; ИКЭМ СО АМН СССР. - Новосибирск: Изд-во ГПНТБ СО АН СССР, 1990. - 210 с.

Автор: Цырлов И.Б., д-р биол. наук.

Обзор является первым в отечественной литературе достаточно полным обобщением сведений о медицинских и биологических аспектах проблемы полихлорированных полициклических соединений типа диоксинов. Включены данные советской и, главным образом, зарубежной литературы за последние 10 лет по эпидемиологии медицинских последствий галогенированных ароматических углеводородов, их распределению и биотрансформации в организме, биологической активности полихлорированных бифенилов, биологическим эффектам полихлорированных дибензо-*p*-диоксинов и сходных соединений. Обзор предназначен работникам санитарно-эпидемиологической службы, медицинским работникам различных специальностей, исследователям в области медицины, охраны природы и химии физиологически активных веществ, преподавателям высших учебных заведений медицинского и химического профиля.

Ответственный редактор В.В. Власов, д-р хим. наук
Обзор подготовлен к печати А.Н. Лебедевой, О.Л. Лаврик

© Государственная публичная научно-техническая библиотека Сибирского отделения Академии наук СССР
(ГПНТБ СО АН СССР), 1990

В В Е Д Е Н И Е

Прогрессирующее загрязнение окружающей среды различными вредными органическими и неорганическими примесями является постоянным стимулом для развития токсикологических исследований. Одним из наиболее токсичных химикатов считается диоксин, спектр его воздействия на биологические системы чрезвычайно широк. Эффекты воздействия диоксина на организмы проявляются на молекулярном, клеточном, тканевом и организменном уровнях.

В предлагаемом обзоре обобщаются литературные данные, а также результаты, полученные автором и его сотрудниками в Институте клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения Академии медицинских наук СССР, касающиеся биологических и медицинских аспектов воздействия на организмы полихлорированных полициклических соединений типа диоксин. Проанализирована отечественная и зарубежная литература за последние 10 лет, в том числе материалы У (Байрейт, ФРГ, 1985 г.), УІ (Фукуока, Япония, 1986 г.) и УІІ (Лас Вегас, США, 1987 г.) международных симпозиумов по диоксину.

Для удобства изложения в обзоре приняты сокращения некоторых терминов и названий:

2,3,7,8-ТХДД - 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-п-диоксин

ПХДД - полихлорированные dibenzo-п-диоксины

ПХДФ - полихлорированные dibензофураны

2,3,7,8-ТХДФ - 2,3,7,8-тетрахлордibenзофуран

2,4-Д - 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота

2,4,5-Т - 2,4,5-трихлорфеноксиуксусная кислота

ppm - частей на миллион (мг/кг)

ppb - частей на миллиард (мкг/кг)

ppt - частей на триллион (нг/кг)

ПХБ - полихлорированные бифенилы

ДХБ, - ТХБ, - ПХБ, - ГХБ, - ГпХБ, - ОХБ, - ДХДД, - ПХДД, - ГХДД,
- ГпХДД, - ОХДД, - ДХДФ, - ПХДФ, - ГХДФ, - ГпХДФ - полихлори-
рованные изомеры ПХБ, ПХДД или ПХДФ, содержащие соответствен-
но два, три, четыре, пять, шесть, семь и восемь заместителей,
локализация которых обозначена цифрами

МХ - 3-метилхолантрен

ФБ - фенобарбитал натрия

БП - 3,4-бензпирен

"Agent Orange" - дефолиант, состоящий из смеси равных коли-
честв 2,4-Д и 2,4,5-Т

Глава I. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ МЕДИЦИНСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

Когда сегодня говорят об источниках ПХДД и ПХДФ, прежде всего имеют в виду /418/:

- их содержание в таких технических продуктах, как хлорфеноксиислоты, хлорфенолы и ПХВ (см. главу 3). В большинстве индустриальных стран резко сокращено использование веществ, загрязненных ПХДД и ПХДФ, при этом, хотя использование ПХВ в США с 1978 г. ограничено "полностью закрытыми" системами, многочисленные случаи местного загрязнения стимулируют интенсивные токсикологические и экологические исследования различных модельных систем;

- муниципальные твердые отбросы при их сжигании. Фактически все изомеры ПХДД и ПХДФ присутствуют в этом материале; выбросы из печей для сжигания отбросов составляют 1 - 100 нг/гм³ "эквивалентов 2,3,7,8-ТХДД" (см. с. 10), что для одной печи составляет выброс 1 - 100 г "эквивалентов 2,3,7,8-ТХДД" в год;

- технологические высокотемпературные процессы типа плавления меди и проката в электродуговых печах;

- моторное масло автомобилей, где могут присутствовать хлорированные добавки; так, автомобили, заправленные бензином с добавкой свинца и снабженные дихлорэтановым уловителем, выбрасывают на 1 км до 30 - 540 пг "эквивалентов 2,3,7,8-ТХДД";

- процесс отбеливания бумаги.

Перечисленные источники загрязнения окружающей среды галогенированными производными дибензо-*p*-диоксина и дибензофурана обуславливают все реальные случаи контакта человека с этими по-

тенциально опасными ксенобиотиками. Кроме того, с 1949 г. в мире произошло более 200 связанных с выбросом 2,3,7,8-ТХДД аварий и инцидентов, характеристика которых частично обобщена в докладе Янга и сотрудников /647/. Наибольшей опасности подвергаются работники текстильной промышленности, люди, занятые дублением кожи, проведением лесозащитных мероприятий, участвующие в производстве древесной массы и бумаги, в производствах, связанных с использованием пестицидов, лекарств, косметики, красок, в сельском хозяйстве, дорожном строительстве, производстве и ремонте трансформаторов и конденсаторов, в химических лабораториях и в уборке муниципальных отходов. В этот перечень следует включить военнослужащих США и население ряда районов Южного Вьетнама, подвергшихся воздействию "Agent Orange" во вьетнамской войне.

Среди получивших широкую известность крупных инцидентов нужно упомянуть инцидент в Севезо (Италия), происшедший 10 июля 1976 г., когда большое количество 2,3,7,8-ТХДД (по современным оценкам, от 300 г до 130 кг) в результате аварии на фабрике, производившей 2,4,5-трихлорфенол, было диссеминировано на территории более 2000 акров. 220 тысяч жителей 11 муниципалитетов в окрестности Милана проживали на территории, загрязненной 2,3,7,8-ТХДД в результате аварии в Севезо, из них 5 тысяч проживали в наиболее загрязненной зоне, а 30 тысяч - в непосредственной близости от этой зоны.

Главным симптомом расстройства здоровья у живущих в зоне загрязнения оказалось хлоракне (тяжелая форма дерматита), обнаруженное в 196 случаях /74/, а также ожоги кожи и спонтанные аборты. По мнению Мерло и сотрудников /357/, кроме хлоракне никаких других серьезных расстройств здоровья у жителей в районе Севезо не было /343/. Авторы полагают, что "реальная жизнь" опровергла "теоретические постулаты" о сверхтоксичности 2,3,7,8-ТХДД.

В действительности картина медицинских последствий инцидента в Севезо гораздо более сложная, и окончательные выводы можно будет сделать, как полагают Вертацци и сотрудники /74/, лишь после 20-летнего наблюдения. Недавно эта группа опубликовала предварительные данные десятилетнего медицинского наблюде-

ния людей, подвергшихся воздействию 2,3,7,8-ТХДД при аварии в Севезо. Отмечен высокий риск смертности от сердечно-сосудистых болезней сразу вслед за инцидентом; полагают, что в более позднее время среди причин смертности возрастет доля рака печени; авторы сетуют, что система информации в здравоохранении Италии не позволила им получить достаточно полные данные, касающиеся онкологических заболеваний населения с учетом его миграции. В связи с инцидентом в Севезо справедливо подчеркивается необходимость комплексного и динамичного анализа подобных ситуаций с помощью двух подходов - химического и биологического /358/.

Поскольку после вьетнамской войны прошло более 15 лет, медико-эпидемиологические данные наблюдений за этот период времени, представленные как вьетнамской, так и американской стороной, являются очень важными.

Ретроспективные данные акушерско-гинекологической больницы г. Хошимина за период с 1952 по 1985 гг. показывают, что в 16 провинциях Южного Вьетнама частота спонтанных абортос выросла с 1,2% (1953 г.) до 14,5% (1967 г.) и 18,14% (1979 г.), а затем снизилась до 10% (1981 г.) и 7,13% (1985 г.); частота внутриутробных смертей плодов выросла с 0,59% (1952 г.) до 1,56% (1967 г.) и затем находилась на уровне 1,5% (1,68% в 1985 г.); частота пузырного заноса (без или с хориокарциномой) возрастала с 0,76% (1952 г.) до 1,43% (1967 г.) и 3,85% (1977 г.) и затем установилась на уровне 4% (4,4% в 1985 г.); частота врожденных уродств возрастает постоянно, с 0,73% (1963 г.) до 1,24% (1967 г.) и 1,42% (1985 г.) /20/.

Эти факты красноречиво свидетельствуют о тяжелых последствиях американской агрессии для мирных жителей во Вьетнаме, хотя приведенные результаты касаются не всего юга страны, где применялся в качестве дефолианта "Agent Orange" (содержащий в равных количествах 2,4-Д и 2,4,5-Т с долей содержания 2,3,7,8-ТХДД). О влияющем значении химических средств (а не других факторов ведения войны) в развитии акушерско-гинекологической патологии свидетельствуют, к примеру, данные Фуонга и сотрудников /439/ о врожденных уродствах и пузырных заносах, которые чаще наблюдались у женщин, контактировавших с содержащими феноксиацетаты гербицидами, загрязненными 2,3,7,8-ТХДД.

Проведено изучение долговременных эффектов 2,3,7,8-ТХДД на репродуктивную функцию женщин из Южного Вьетнама, для чего сравнивали состояние здоровья жительниц двух деревень, одна из которых подвергалась интенсивной обработке в годы войны, а над другой "Agent Orange" никогда не распылялся /438/. В первой деревне частота случаев врожденных уродств (по сравнению с числом беременностей) составила 1,1%, а во второй - только 0,4%; частота внутриутробных смертей - соответственно 0,8% и 0,02%; частота случаев пузырного заноса - 0,73% и 0,36%. Авторы справедливо замечают, что научно обоснованная взаимосвязь между репродуктивными аномалиями и уровнем загрязнения среды хлорированными производными дибензо-п-диоксина должна быть подкреплена данными о содержании этих ксенобиотиков в тканях обследованных людей.

В этом смысле характерны данные о том, что у 90% обследованных из Южного Вьетнама уровень содержания 2,3,7,8-ТХДД в жировой ткани в 3 - 4 раза выше, чем в группах из Северного Вьетнама /481/ или из Канады, Японии, США, ФРГ, где этот уровень составляет 4 - 6 ppt в расчете на жировую основу /526/. Что касается уровня 2,3,7,8-ТХДД в женском молоке (см. главу 2), то наибольшее его содержание у жительниц Южного Вьетнама наблюдалось в 70-х годах, затем уровень 2,3,7,8-ТХДД в грудном молоке женщин начал снижаться /526/.

Исследование показателей здоровья американцев - ветеранов войны во Вьетнаме (как служивших в наземных войсках, так и пилотов ВВС, участвовавших в операции "Ranch Hand" по распылению "Agent Orange") началось в начале 70-х годов. Внимание международной общественности к медицинским последствиям использования 2,3,7,8-ТХДД было обращено в 1973 г. на конференции Национального института по изучению влияния окружающей среды на здоровье. К 1981 г. было опубликовано около 1400 работ по проблеме диоксина, его предшественников и производных. У детей ветеранов вьетнамского конфликта обнаружено значительно больше дефектов внутриутробного развития /542/.

В плазме крови и жировой ткани 675 ветеранов, с учетом времени их контакта с "Agent Orange" и загрязняющим его 2,3,7,8-ТХДД, выявлен более высокий уровень содержания этого ксено-

биотика /269, 275/. У 75 участников операции "Ranch Hand" в 1982 и 1987 гг. в плазме крови определяли содержание 2,3,7,8-ТХДД и время его полужизни ($t_{1/2}$) /444/. В целом изучение плазмы крови, содержащей связывающие 2,3,7,8-ТХДД липопротеины, сегодня расценивается как подход к выявлению уровня ксенобиотика и его перераспределения между жировой тканью и плазмой /392/.

В лаборатории Арнольда Шехтера (где ранее удалось зарегистрировать повышенный уровень 2,3,7,8-ТХДД в жировой ткани через 32 года после одного из инцидентов) через 15 лет после окончания вьетнамской войны у ветеранов было выявлено превышающее в 10 раз контрольный уровень содержания 2,3,7,8-ТХДД в жировой ткани /521/.

В целом содержание 2,3,7,8-ТХДД в грудном молоке кормящих женщин в США не выше уровня, наблюдаемого в других промышленно развитых странах /526/. Уровень концентрации ксенобиотика в грудном молоке, как показали проведенные в Южной Калифорнии исследования, зависит от потребления населением рыбы, загрязненной 2,3,7,8-ТХДД /559/.

В 1979 г. в результате железнодорожной аварии в штате Миссури местность оказалась загрязненной 0-хлорфенолом, содержащим 37 ppb 2,3,7,8-ТХДД; в целом с 1971 г., когда в этом штате использовали содержащие 2,3,7,8-ТХДД масляные отходы для борьбы с пылью на ипподромах и земляных дорогах, более ста мест были загрязнены этим ксенобиотиком. У 59 жителей штата Миссури, контактировавших с 2,3,7,8-ТХДД, в жировой ткани зарегистрирован уровень 112 ppt, в то время как этот показатель у контрольной группы не превышает 7 ppt /50/.

Около 30 тонн 2,4,5-Т было захоронено в районе Ниагарских водопадов, сжигание муниципальных отходов обусловило выброс 2,3,7,8-ТХДД в атмосферу поблизости от химического завода в Мичигане, распыление 2,4,5-Т в лесах Орегона... Эти и другие инциденты послужили причиной публичных дебатов в США и усиления мер по контролю за распространением диоксина, а также научно-исследовательских разработок по данной проблеме.

Исследователи из ФРГ полагают, что одним из основных путей попадания 2,3,7,8-ТХДД в организм человека является потребление

его с пищей, суточная доза составляет ~ 15 пг, с учетом других хлорированных изомеров дибензо-п-диоксинов граждане ФРГ в сутки поглощают 80 пг "эквивалентов 2,3,7,8-ТХДД" /346/. В жировой ткани жителей Мюнхена содержится от I до 18 ppt /580/. В молоке женщин, вскармливающих второго ребенка, содержится значительно меньше 2,3,7,8-ТХДД, чем в грудном молоке первородящих женщин /159/.

Эпидемиологические исследования в других странах касаются в основном конкретных нозологических форм заболеваний в их связи с воздействием на организм человека полигалогенированных бифенилов, дибензофуранов, дибензо-п-диоксинов. Так, ранее было показано, что употребление рисового масла, загрязненного ПХБ и ПХДФ (описано образование в рисовом масле токсичных изомеров ПХДФ из ПХБ), вызывает симптомокомплекс (основной синдром - хлоракне), известный как болезнь Юшо (Япония, 1968 г.) или Ю-уенг (о. Тайвань, 1979 г.) /314/.

Больные Юшо имеют повышенное содержание копланарных изомеров ПХБ (2400 ppt) в тонком кишечнике и 800 ppt в печени, что для кишечника в 20 раз превышает уровень, наблюдаемый в контрольной группе. У больных Юшо в жировой ткани обнаружены различные хлорированные изомеры дибензо-п-диоксинов (от 5 до 8 заместителей): общая концентрация их составляет 0,13 ppm; выявлено также повышенное содержание 2,3,7,8-ТХДД и токсичного 2,3,7,8-ПХДФ /362/.

Согласно современным взглядам, уровень 2,3,7,8-ТХДД и других ПХДД и ТХДФ в жировой ткани и в крови коррелирует с содержанием липидов, следует отметить, что кровь содержит 0,3% липида. Учитывая эти данные, Райан с сотрудниками /506/ измерили уровень 2,3,4,7,8-ПХДФ в крови 67 детей, рожденных от больных Юшо, который составил в расчете на весь организм 210 мкг/кг массы тела (210 мкг "эквивалентов 2,3,4,7,8-ПХДФ"). Общая нагрузка этим токсичным изомером ПХДФ в популяции США равна 0,6 мкг "эквивалентов 2,3,4,7,8-ПХДФ". Принимая во внимание, что время полужизни этого ксенобиотика в организме составляет 2 года, дневное поглощение 2,3,4,7,8-ПХДФ населением США не превышает 8 пг/кг массы тела. Таким образом, общая нагрузка токсичным изомером ПХДФ в 200 раз ниже уровня, способного вызвать хлоракне.

По данным шведских авторов, больные с саркомами мягких тканей, как правило, предварительно контактировали с хлорированными феноксикислотами /219/. Выдвигается предположение, что 6-кратное увеличение риска возникновения саркомы появляется при контакте с этими ксенобиотиками. Вместе с тем, в отличие от данных шведских ученых, в Новой Зеландии не обнаружено какого-либо влияния феноксигербицидов на частоту саркомы мягких тканей /551/. Кроме сарком у работающих с феноксикислотами в Швеции отмечается повышенный риск возникновения неходжкинской злокачественной лимфомы гистиоцитарного типа; из 15 больных этой формой рака II имели в анамнезе длительный контакт с хлорированными феноксикислотами или хлорфенолами, причем латентный (скрытый) период составил 15 лет /220/. Повышенная смертность от рака легкого зарегистрирована у сельскохозяйственных рабочих ФРГ, имевших постоянный контакт с 2,4-Д и другими хлор-содержащими пестицидами /64/.

Данные, полученные на животных (см. главу 4) и человеке, позволяют отнести 2,3,7,8-ТХДД к категории 2B ("возможно, канцерогенен для людей") по международной классификации IARC /236/.

За последние годы значительно возросла чувствительность методов определения 2,3,7,8-ТХДД и сходных с ним соединений: если лимит определяемого в 1969 г. ксенобиотика в продуктах составлял 1 ppb, то в 1980 г. - 1 ppb, в воздухе окружающей среды в 1970 г. - 50 ppb, а в 1979 г. - 1 ppt. Разработаны подходы к надежному определению 2,3,7,8-ТХДД и 2,3,7,8-ТХДФ в твердых матрицах (до 1 - 2 ppt) и в жидких средах (до 1 - 10 ppq) /555/. Ныне стало возможным использовать моноклональные антитела, выработанные к конъюгату 2,3,7,8-ТХДД с тироглобулином, для скрининговой оценки специфического содержания 2,3,7,8-ТХДД в тканях организма с помощью радиоиммунных и иммуноферментных методов анализа /262/.

Изменился сам принцип оценки загрязнения поверхности почвы диоксиновыми производными. Если еще в 1974 г. она проводилась в основном на сельскохозяйственных угодьях, то, по докладу Агентства по охране окружающей среды США, с 1979 г. - только на обочинах дорог и в лесах, где обнаружены в ряде случаев уровни, в 10^4 - 10^6 раз превышающие норму.

Минздравом СССР предложены следующие ПДК для 2,3,7,8-ТХДД (рабочий вариант): атмосферный воздух - 2,12 нг/м³, вода водосмов хозяйственно-бытового назначения - 0,26 мкг/л, почва - 133,3 мкг/кг, пищевые продукты (суточный рацион) - 35,8 мкг/кг; ДСП для человека - 0,52 мкг/кг/сутки. По данным американских ученых, суммарное поглощение человеком 2,3,7,8-ТХДД не превышает 10 мкг/кг/сутки /81/.

Именно такой уровень поглощения человеком 2,3,7,8-ТХДД был подтвержден на основе современного способа оценки дозы, не вызывающей токсического эффекта (**NoEs - no-effect dosage**). Так, общее количество 2,3,7,8-ТХДД, которое ежедневно с пищей поглощается без наблюдаемого токсического эффекта, составляет для рыб 0,76 мкг/кг, для птиц 2,1 мкг/кг, для млекопитающих 0,55 - 5,2 мкг/кг /279/. Доза, не вызывающая токсического эффекта, высчитывается с учетом биоконцентрационного фактора BCF (см. главу 2):

$$NoES_o = BCF \times NoES_m \quad (I)$$

где o - концентрация в организме, m - концентрация в среде.

Исходя из NoES для млекопитающих, можно подсчитать ежедневную "толерантную" дозу для человека, которая составляет 1 - 10 мкг/кг массы тела /51/.

Значительное место занимают работы, посвященные оценке факторов риска галогенированных ароматических углеводородов. В большом обзоре Агентства по защите окружающей среды США приводятся многочисленные данные по видовым особенностям фактора риска для животных и человека, по острым и хроническим воздействиям этих ксенобиотиков, по "канцерогенным потенциалам" 2,3,7,8-ТХДД /371/. В оценке риска преобладает ныне многофакторный анализ, основанный на токсикологической оценке среды /81/ и, как специально подчеркивается в последних исследованиях, на выяснении биохимических механизмов действия 2,3,7,8-ТХДД, в первую очередь, роли цитоплазматического белка-рецептора (см. главу 5), опосредующего все биологические эффекты 2,3,7,8-ТХДД /547/.

Несколько лет назад Агентство стало использовать следующие шесть положений при анализе факторов риска воз-

действия ПХДД на здоровье людей при сжигании муниципальных отходов:

1. Канцерогенные свойства всех ПХДД и репродуктивные расстройства, вызываемые ими, такие же, как и у 2,3,7,8-ТХДД.

2. Для всех образующихся при сгорании отходов загрязнителей считать концентрации (действующие дозы) равными максимальной концентрации одного из компонентов смеси. Как правило, это концентрация 2,3,7,8-ТХДД.

3. Считать, что компоненты выбросов попадают в организм с вдыхаемым воздухом и задерживаются в нем значительное время.

4. Все ПХДД на пылевых частицах биологически доступны людям.

5. Сжигание отходов осуществляется постоянно.

6. Чувствительность людей к ПХДД (а также к ПХДФ) сравнима с таковой у животных, если принять во внимание площадь поверхности тела.

Если считать, что человек потребляет ежедневно с водой 1 мкг/л 2,3,7,8-ТХДД, а во вдыхаемом воздухе содержится 1 мкг/м^3 этого ксенобиотика, то индивидуальный риск развития онкологических заболеваний составляет соответственно $4,5 \cdot 10^{-3}$ и $3,3 \cdot 10^{-5}$ /81/. Поскольку существует 75 изомеров и гомологов ПХДД и 135 - ПХДФ, обладающих различной токсичностью, возникла необходимость ввести понятие "эквивалент токсичности 2,3,7,8-ТХДД", то есть оценить силу различных полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов, нормализованных относительно 2,3,7,8-ТХДД. Для оценки токсичности изомеров в смесях (известен аддитивный биологический эффект смесей ПХДД и ПХДФ), используя ТЭФ - "2,3,7,8-ТХДД - эквивалентные факторы", токсичность компонентов в смесях оценивается по формуле (2):

2,3,7,8-ТХДД эквиваленты = (ТЭФ каждого гомолога 2,3,7,8-ТХДД (ТХДФ) умножить на концентрацию соответствующего гомолога) + (ТЭФ каждого другого гомолога умножить на концентрацию соответствующего гомолога). (2)

В США была проведена оценка ТЭФ в различных регионах страны /63/.

За последние годы заметно изменилась методология клинического обследования людей, подвергавшихся воздействию хлорированных ксенобиотиков типа 2,3,7,8-ТХДД. Изменения эти касаются:

1) оценки роли генетического полиморфизма человеческой популяции, объясняющего различный уровень реагирования на одинаковые по силе и характеру воздействия ксенобиотиков /270, 292, 389/; 2) межвидовых различий в чувствительности к 2,3,7,8-ТХДД, прежде всего различий между грызунами и человеком (см. главу 4); 3) введения в клиническую практику современных методов детекции, например использования моноклональных антител в чувствительных иммунохимических реакциях RIA и ELISA для специфической регистрации 2,3,7,8-ТХДД /282/ или применения высокоразрешающей газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией для оценки содержания 2,3,7,8-ТХДД в плазме крови /392/.

В 1981 - 1984 гг. Администрацией американских ветеранов войны во Вьетнаме был опубликован 6-томный обзор литературы по эффектам, которые оказывают на здоровье феноксигербициды и сходные диоксины /534/. 17 статей обзора посвящено проблеме онкологических болезней, 36 - репродуктивным аномалиям и тератогенным явлениям, 29 - генотоксичности, 12 - нейротоксичности, 10 - иммунопатологии, 26 - проникновению, распределению и метаболизму, 30 - индукции содержащих цитохром P-450 ферментов биотрансформации ксенобиотиков, 107 - проблемам летальности, механизма действия, гепатотоксичности и кожным болезням.

Такое распределение интересов специалистов сегодня уже может быть пересмотрено применительно к хроническим эффектам хлорированных диоксинов на здоровье людей. Так, противоречивы данные об опасности онкозаболеваний (см. выше). Медицинское обследование работавших в период с 1940 по 1979 гг. в компании Dow Chemical 2189 мужчин, длительно контактировавших с хлорированными диоксином, показало, что эти контакты не увеличивают вероятность возникновения саркомы мягких тканей, неходжкинской лимфомы, лимфогранулематоза, рака печени, желудка, носовой полости /116/. Вновь и вновь медики, ученые и общественность США возвращаются к вопросу о возможности онкологических последствий для ветеранов войны во Вьетнаме /214/; ответ специалистов таков: "ситуация не дает повода для опасений...".

С другой стороны, резко возросло внимание к иммунологической системе, повреждение которой сегодня считается единственным серьезным фактором нарушения здоровья у людей, длительно контактировавших с 2,3,7,8-ТХДД /238, 544/. Основным фактором его действия является снижение клеточного иммунитета, хотя это не проявляется клинически, но имеет, очевидно, неблагоприятные последствия /149/ (см. главу 4).

В связи с важностью раннего выявления заражения местности галогенированными дибензо-*p*-диоксинами (ПХДД), дибензофуранами (ПХДФ), их предшественниками, а также с целью оценки уровня загрязнения и возможных вредных последствий для здоровья широкое распространение получили работы по биоиндикации эффектов этих ксенобиотиков. Традиционно объектом такого рода исследований являются мелкие грызуны. Так, при обследовании популяции полевых мышей во Флориде на площади 3 км², обрабатывавшейся в течение восьми лет гербицидом 2,4,5-Т, было выявлено, что содержание 2,3,7,8-ТХДД в печени составляет 300 – 2900 ppt /577/, обнаружена также хорошая корреляция концентраций 2,3,7,8-ТХДД в почве и в печени полевок: его наивысшее содержание в печени наблюдалось в тех местах, где было измерено наивысшее содержание ксенобиотика в почве. Биоаккумуляционный фактор различается у самцов (18) и самок (6). Анализ плодов свидетельствует о трансплацентарном переносе 2,3,7,8-ТХДД (см. главу 4); вес печени беременных самок из загрязненной зоны был больше, чем у самок из контрольной группы. Авторы заключили, что длительное воздействие 2,3,7,8-ТХДД в низких дозах имеет минимальное влияние на мышей. Сходные результаты были получены и при наблюдении крыс /501/.

Наблюдение в течение года за мышами в зоне загрязнения, исследование содержания ПХДД и ПХДФ в их печени и в коже позволили выяснить, что изомеры, хлорированные в положениях 2,3,7,8-, концентрируются в основном в печени /58/ (максимальная концентрация – 22,5 ppt). Характерно, что уровень содержания ПХДД/ПХДФ у травоядных мышей был значительно ниже, чем у плотоядных.

Объектом биоиндикации иногда выбирают лягушек, живущих в воде и на земле и кумулирующих загрязняющие окружающую среду ксенобиотики типа 2,3,7,8-ТХДД /124/. Недавно показано, что

2, 3, 7, 8-ТХДД кумулируется только у сухопутных и береговых млекопитающих, в то время как 2, 3, 4, 7, 8-ПХДФ - как у этих, так и у морских млекопитающих /573/. Авторы заключили, что ПХДФ, а не ПХДД, является "глобальным загрязнителем" окружающей среды.

Вместе с тем часто в качестве объекта биоиндикации 2, 3, 7, 8-ТХДД используют рыб. У рыб достаточно активна содержащая цитохром Р-450 монооксигеназная система, индуцируемая ксенобиотиками МХ-типа /558, 570/, которая может быть чувствительным биоиндикатором загрязнения 2, 3, 7, 8-ТХДД /68/. Так, лишь у двух из 34 обследованных балтийских лососей обнаружены токсичные 1, 2, 3, 7, 8-ПХДД и 2, 3, 4, 7, 8-ПХДФ в концентрации 3 - 9 ppb /417/.

Получили распространение методы биоиндикации у рыб и птиц на ранних стадиях их жизни (E.L.S. - Bioassay). У родившихся рыб после обработки 2, 3, 7, 8-ТХДД развивается отек и появляются геморагии, вслед за которыми, в зависимости от дозы ксенобиотика, наступает смерть. В такой модели определены "2, 3, 7, 8-ТХДД эквивалентные факторы" для ряда ПХДФ. Так, 2, 3, 4, 7, 8-ПХДФ характеризуется фактором 0,4 /228/. Цыплята *Carov argentatus*, родители которых питаются рыбой, в низовьях Великих озер часто рождаются с признаками отека и расстройства порфиринового обмена. Ретроспективный анализ выявил в тканях этих птиц 2, 3, 7, 8-ТХДД, а также ПХБ /177/.

Глава 2. СУДЬБА ПОПАВШИХ В ОРГАНИЗМ ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

2.1. Распределение, ретенция и элиминация

Ретенция ПХДД, ПХДФ и ПХБ в тканях высокоспецифична, она относится к изомерам, содержащим 4 атома хлора в латеральных положениях молекулы: тканевая ретенция ПХБ гораздо меньше зависит от структуры ксенобиотика /71/. Среди факторов, обуславливающих этот феномен, на первое место сегодня выдвигают белки-носители, в частности, обсуждается вероятное участие цитоплазматического Ah-рецептора (см. главу 5) и микросомного цитохрома P-450 (см. главу 6). Длительная персистенция 2,3,7,8-ТХДД и сходных соединений в организме животных /241/ и человека /527/ может рассматриваться как составляющая нескольких процессов: поступления, распределения по тканям, собственно ретенции и элиминации. Должен приниматься во внимание также биоаккумуляционный фактор. Эти процессы в значительной степени, как указывалось выше, зависят от структуры галогенированного ксенобиотика, от вида и линии животных, от характера их питания и содержания жировой ткани.

Большинство ПХДД и ПХДФ (см. данные о ПХБ в главе 3), за исключением высокогалогенированных изомеров, легко абсорбируется из желудочно-кишечного тракта /67, 346, 402, 569/, проникает в организм через кожные покровы /28, 371/. В главе приводятся данные о переносе этих ксенобиотиков через плаценту и с молоком кормящей матери /69/. Предложены адекватные модели для изучения абсорбции 2,3,7,8-ТХДД кожей человека и лишенных тимуса безволосых мышей /567/. Так, после аппликации 2,3,7,8-ТХДД в ацетоне

на кожу крыс 13% абсорбируется кровью в течение 5 часов и 10% ксенобиотика остается на коже. Если же этот участок кожи предварительно гидратировать в течение получаса, уже 52% дозы 2,3,7,8-ТХДД проникает в кровь и 16% остается на коже. Через человеческую кожу в этих же условиях проникает не более 14% дозы ксенобиотика.

Механизм проникновения ПХДД в клетку пока не ясен, но, возможно, аналогично гидрофобным полициклическим ароматическим углеводородам этот процесс включает перенос в клетки из липопротеинов или из фосфолипидных везикул /445/.

Внутриклеточное распределение прослежено на примере 2,3,4,7,8-ПХДД, основного изомера, обнаруженного в печени и жировых тканях людей с болезнью Шо (см. главу 3) и способного вызывать атрофию тимуса /650/. Меченный ^{14}C ПХДД аккумулируется в печени крыс, а в крови связывается частично с липопротеинами, но больше с альбумином, и такое связывание усиливает включение ПХДД в гепатоциты, где ксенобиотик локализован в эндоплазматическом ретикулуме, будучи связанным с цитохромом P-448. Когда микросомы из печени преиндуцированных ^{14}C ПХДД крыс солибилизовали хлоратом натрия и подвергли хроматографии на 8-аминооктилсепарозе 4В, ксенобиотик и цитохром P-448 элюировались в виде единого пика; формой гемопротеида, связывающей ^{14}C ПХДД, оказался цитохром P-450_d, продукт гена P-450IA2 (см. главу 6).

Картина внутриклеточного распределения ^3H 2,3,7,8-ТХДД характеризуется тем, что в гепатоцитах крыс связывается в микросомной фракции до 90% всего содержания радиозонда, а в гепатоцитах мышей и золотистых хомячков - до 50%. На втором месте - грубая ядерная фракция, затем митохондрии и растворимая фракция /165/. Кстати, именно преимущественной аккумуляцией 2,3,7,8-ТХДД в микросомной фракции объясняется способность этого ксенобиотика вызывать разрастание мембран гладкого эндоплазматического ретикулума /264/, хотя для 2,3,7,8-ТХДД как индуктора МХ-типа (см. главу 6) это качество достаточно необычно. В последующие годы в литературе не встречалось подтверждения этого феномена.

Помимо изложенных выше факторов распределение и персистенцию ПХДД определяют также их общая растворимость, и особенно ли-

пидорастворимость, метаболизм (см. далее). Воздействие каждого из этих факторов крайне сложно оценить в количественной форме, но, несомненно, все они в той или иной мере влияют на общую картину распределения галогенированных ароматических ксенобиотиков по органам у животных разных видов /349/.

Таблица I

Распределение галогенированных ароматических углеводородов в тканях крыс и золотистых хомячков

Ксенобиотик	Вид	Печень/ кровь	Жировая ткань/ кровь	Жировая ткань/ печень
2,4,5-Т	крыса	0,24	0,11	0,46
Пентахлорфенол	крыса	1,6	0,13	0,11
2,3,7,8-ТХДД	крыса			1,0
2,3,7,8-ТХДД	хомяк	34,0	24,0	0,71
2,3,7,8-ТХДД	крыса	74,0	21,0	0,28
Гексахлорбензол	крыса	19,0	163,0	8,6
2,4,5,2',4',5'- гексахлорбифенил	крыса	12,0	400,0	33,0

Как следует из табл. I, межтканевое распределение зависит как от структуры ксенобиотика, так и от видовых особенностей. Последнее достаточно убедительно показано в табл. 2, где приведены данные распределения ^{14}C -меченного 2,3,7,8-ТХДД /165/.

Таблица 2

Распределение 2,3,7,8-ТХДД в печени и жировой ткани животных разных видов

В и д	День после введения	Печень (% дозы/г)	Жировая ткань (% дозы/г)
I	2	3	4
Морская свинка	II	2,2	2,1

I	2	3	4
Крыса	7	4,54	3,46
Золотистый хомячок	10	4,02	2,03
Взрослая обезьяна	7	0,09	0,16
Детеныш обезьяны	7	0,13	0,49

Многочисленные данные об аккумуляции и элиминации различных полигалогенированных ароматических углеводородов у экспериментальных животных обобщены в табл. 3.

В дополнение к "статичным" данным об элиминации в табл. 3 даны результаты фармакокинетических исследований. Так, в лаборатории Мартина Берга было выяснено, что после перорального введения 1,2,3,7,8-ПХД_Ф, 1,2,3,6,7,8-ГХД_Ф и 2,3,4,7,8-ПХД_Ф крысам-самкам Sprague-Dawley элиминация из печени этих соединений происходит в течение соответственно 28, 42 и 133 дней /70/. Время полужизни этих галогенированных дибензофуранов составляет соответственно 3,3, 61 и 108 дней, причем $t_{1/2}$ для 1,2,3,7,8-ПХД_Ф не изменяется значительно в присутствии 2,3,4,7,8-ПХД_Ф и в целом 1,2,3,7,8-ПХД_Ф элиминируется из печени значительно быстрее, чем 2,3,7,8-ТХДД. Это согласуется с более ранними данными лаборатории М. Берга о результатах внутривенного введения экстракта из сажи и элиминации из печени крыс, когда $t_{1/2}$ для 2,3,7,8-ТХДД составляло 6,4 дня, а для 2,3,7,8-ТХД_Ф - 0,2 дня /69/.

Выявлена сходная нагрузка организма при внутривенном и пероральном введении 2,3,7,8-ТХДД (правда, в последнем случае не абсорбируется 15 - 20% дозы), показано также (см. табл. 3) его селективное распределение в печени и жировой ткани. Радиоактивный 2,3,7,8-ТХДД элиминируется у всех животных с калом, а у мышей и хомячков основной путь выведения - с мочой. Элиминирование 2,3,7,8-ТХДД является процессом первого порядка /165/. Авторы обнаружили, что при однократном введении крысам 1 мкг/кг 2,3,7,8-ТХДД среднее $t_{1/2}$ составляет 31 день; почти такое же время полужизни (30,3 дня) наблюдается и у сверхчувствительных к токсическому действию 2,3,7,8-ТХДД морских свинок. Таким об-

Таблица 3

Ретенция и элиминация галогенированных ароматических углеводородов
у животных разных видов

Соединение	Доза (путь введения, продолжительность)	Вид животного (порода/линия, пол)	Место ретенции (время после последней дозы: ткань)	Элиминация (% дозы: время)	Источник информации
I	2	3	4	5	6
Гексахлорбензол	10 мг/кг (рег ов ежедневно в теч. 14 дней)	крысы-самцы (Sprague-Dawley)	24 час.: жировая ткань	-	/615/
Гексахлорбензол	1х0,1 мг/животное	крысы-самцы (Sprague-Dawley)	48 час.: жировая ткань	<2%:48 час.	/646/
Гексахлорбензол	-*-	обезьяны-самцы (Macaca Mulatta)	1 год: жировая ткань, костный мозг	30%:1 год	/646/
Пентахлорфенол	1х18,2 мг/кг (в/бр)	мыши-самки (NMRI)	4 дн.: печень, >почки	50%:24 час.	/255/
Пентахлорфенол	1х10 мг/кг (рег ов)	крысы-самцы (Sprague-Dawley)	9 дн.: печень, >почки	50%:26 час.	/95/
Пентахлорфенол	-*-	крысы-самцы (Sprague-Dawley)	-	50%:29 час.	/95/
Пентахлорфенол	1х(3I - 4I) мг/кг (рег ов)	крысы (самцы и самки)	40 час.: печень, почки	50%:24 час.	/315/

1	2	3	4	5	6
Пентахлорфенол	1x10 мг/кг (per os)	обезьяны-самцы (Macaca Mulatta)	-	50%:45 час.	/94/
Пентахлорфенол	"-"	обезьяны-самки (Macaca Mulatta)	15 дн.: кишечник > печень	50%:112 час.	/94/
4, 4'-дихлор- бифенил	1x0,6 мг/кг (в/в)	крысы-самцы (Sprague-Dawley)	24 час.: жировая ткань	50%:24 час.	/348/
4, 4'-дихлор- бифенил	1x0,6 мг/кг (в/в)	крысы-самцы (Sprague-Dawley)	жировая ткань	50%:24 час.	/333/
4, 4'-дихлор- бифенил	"-"	собаки-самцы (Beagle)	24 час.: жировая ткань	50%:24 час.	/549/
4, 4'-дихлор- бифенил	"-"	обезьяны-самцы (Macaca Mulatta)	24 час.: 9 дн.: жировая ткань	50%:20 дн.	/549/
3, 4, 3', 4'-ТХБ	"-"	крысы-самцы (линия CD)	24 час.: 7 дн.: жировая ткань	50%:36 час.	/22/
3, 4, 3', 4'-ТХБ	"-"	крысы-самки (линия CD)	-	50%:48 час.	/22/
3, 4, 3', 4'-ТХБ	"-"	обезьяны-самки (Macaca Mulatta)	-	50%:12 дн.	/22/
2, 4, 5, 2', 5'-ПХБ	"-"	крысы-самцы (Sprague-Dawley)	24 час.: жировая ткань	50%:58 час.	/348/

1	2	3	4	5	6
2,4,5,2',5'-ПХБ	Ix0,6 мг/кг (в/в)	крысы-самцы (Sprague-Dawley)	жировая ткань	50%:58 час.	/333/
2,4,5,2',4',5'- ГХБ	"-	"-	24 час.: жировая ткань	< 20%: время не указано	/348/
2,4,5,2',4',5'- ГХБ	"-	"-	жировая ткань	< 10%:100 час.	/333/
2,4,5,2',4',5'- ГХБ	"-	"-	24 час.: 20 нед.: жировая ткань	18%: время не указано	/369/
2,4,5,2',4',5'- ГХБ	Ix3,6 мг/кг (в/в)	"-	20 нед.: жировая ткань	"-	/369/
2,4,5,2',4',5'- ГББ	Ix1,0 мг/кг (в/в)	"-	24 час.: жировая ткань	< 10%: время не указано	/347/
2,4,5,2',4',5'- ГББ	Ix10 мг/кг (per os в виде смеси FF-1)	крысы-самцы (линия SEN)	24 час.: 28 дн.: жировая ткань	-	/139/
1,2-дихлор- нафталин	Ix400 мг/кг (per os)	крысы-самцы (Wistar)	24 час.: кишечник > почки 7 дн.: жировая ткань	50%:29 час.	/110/
1,8-дихлор- нафталин	Ix1,0 мг/кг (в/в)	мыши-самцы (JCL : ICR)	24 час.: жировая ткань	-	/404/
2,7-дихлор- нафталин	"-	"-	24 час.: жировая ткань	-	/404/

1	2	3	4	5	6
Октахлор- нафталин	IхI,0 мг/кг (в/в)	мыши-самцы JCL : ICR	24 час.: печень > жировая ткань	-	/404/
2, 3, 7, 8-ТХДЦ	Iх50 мкг/кг (per os)	крысы-самцы (Sprague-Dawley)	72 час.: печень, жировая ткань	50%:17 дн.	/442/
2, 3, 7, 8-ТХДД	Iх50 мкг/кг (в/желу- дочно)	"-	24 час.:2I день печень	50%:13 дн.	/41/
2, 3, 7, 8-ТХДЦ	IхI,0 мг/кг (per os)	крысы - самки и самцы (Sprague-Dawley)	22 дн.: печень, жировая ткань	50%:31 дн.	/515/
2, 3, 7, 8-ТХДД	Iх2,0 мкг/кг (в/бр)	морские свинки- самцы (Hartley)	24 час.: жировая ткань, печень 15 дн.: печень, жировая ткань	50%:30 дн.	/164/
2, 3, 7, 8-ТХДЦ	Iх650 мкг/кг (в/бр)	хомячки-самцы (Golden Syrian)	-	50%:12 дн.	/410/
2, 3, 7, 8-ТХДД	Iх650 мкг/кг (per os)	"-	24 час.: печень, жировая ткань 20 дн.: печень > жировая ткань	50%:15 дн.	/410/

1	2	3	4	5	6
2, 3, 7, 8-ТХДФ	I x 30 мкг/кг (в/в)	мыши-самцы (C57BL)	24 час.: печень	50%:48 час.	/130/
2, 3, 7, 8-ТХДФ	"-	мыши-самцы (DBA/2)	24 час.: печень	50%:96 час.	/130/
2, 3, 7, 8-ТХДФ	I x 3I мкг/кг (в/в)	крысы-самцы (Fisher)	24 час.: печень	50%:38 час.	/82/
2, 3, 7, 8-ТХДФ	I x 6, I мкг/кг (в/в)	морские свинки- самцы (Hartley)	24 час.: жировая ткань, печень 9 дн.: печень > жировая ткань	50%:20 дн.	/119/
2, 3, 7, 8-ТХДФ	I x 3I мкг/кг (в/в)	обезьяны-самцы (Macaca Mulatta)	2I дн.: печень, жировая ткань	50%:8 дн.	/83/

разом, не обнаружено отчетливой взаимосвязи между способностью животного данного вида к экскреции 2,3,7,8-ТХДД и острой (летальной) токсичностью 2,3,7,8-ТХДД (см. главу 4) для этих животных.

Впрочем, у устойчивых к токсическим эффектам 2,3,7,8-ТХДД хомячков процесс элиминации ксенобиотика - также первого порядка, но $t_{1/2} = 10,8$ дня при внутривентральном введении и 15 дней при пероральном введении /165/. Возможно, частично объясняет устойчивость хомячков к 2,3,7,8-ТХДД именно то обстоятельство, что они в 2 - 3 раза быстрее элиминируют его из организма, нежели крысы элиминируют 2,3,7,8-ТХДД или 1,2,3,7,8-ПХДД /622/.

Отдельно стоит вопрос о ретенции и элиминации 2,3,7,8-ТХДД у инбредных мышей, генетически чувствительных (C57BL/6) и устойчивых (DBA/2) к индукции печеночных бензпирен-гидроксилаз (см. главу 6). Были обнаружены значительные различия в распределении 2,3,7,8-ТХДД у мышей C57BL/6 и B6D2F1 по сравнению с мышами DBA/2; $t_{1/2}$ для 2,3,7,8-ТХДД равны соответственно 11,0, 12,6 и 24,4 дня. Согласно данным, полученным в лаборатории Томаса Гасиевича, $t_{1/2}$ для 2,3,7,8-ТХДД у мышей C57BL/6 равно 17 дней, а у мышей DBA/2 - 37 дней /161, 165/. Хотя 2,3,7,8-ТХДД выводится со значительно большей скоростью, нежели 2,3,7,8-ТХДД, время его полужизни у мышей C57BL/6 составляет 2 дня, а у мышей DBA/2 - 4 дня /119/. Авторы полагают, что эти различия отчасти обусловлены распределением 2,3,7,8-ТХДД в жировой ткани, содержание которой в 2 раза больше у мышей DBA/2.

Действительно, одной из возможных причин медленного (низкого) клиренса 2,3,7,8-ТХДД может быть его секвестрация в жировой ткани вследствие высокой липидорастворимости этого ксенобиотика /165/. В такой связи понятны данные Ахотупа и Мантиля касательно содержания мышей линии DBA/2 на голодной диете, когда резкое снижение количества жировой ткани сопровождается снижением величины ED_{50} (индукция монооксигеназ печени) с 44 до 8 ммоль/кг, то есть до уровня, незначительно отличающегося от такового у мышей C57BL/6 /33/.

С другой стороны, как подчеркивалось выше, селективную ретенцию 2,3,7,8-ТХДД во многом обуславливают внутриклеточные

функциональные белки - Ah-рецептор (см. главу 5) и терминальный компонент монооксигеназной системы цитохром P-450IA2 (см. главу 6). Характерно, что мыши C57BL/6 и DBA/2 различаются аффинностью к лигандам, содержанием и индуцибельностью именно этих двух белков /385/. Была предложена физиологически обоснованная фармакокинетическая модель, учитывающая, помимо биохимических параметров, внутренние объемы органов, скорость движения крови и коэффициенты распределения 2,3,7,8-ТХДД /321/. Авторы выявили существенную роль цитозольного Ah-рецептора и микросомной монооксигеназной системы в распределении 2,3,7,8-ТХДД у мышей альтернативных линий, а также у крыс. Так, у мышей C57BL/6 связывание в микросомах 2,3,7,8-ТХДД характеризуется величиной K_m , равной 20 нМ, а в целом связывающая способность монооксигеназной системы составляет 0,14 нмоль/печень. Напротив, у мышей DBA/2 снижено отношение концентраций в печени и жировой ткани только из-за сниженного связывания 2,3,7,8-ТХДД в микросомах, а не из-за большего содержания жира у мышей этой линии.

Представляют практический интерес данные о стимулирующем влиянии сквалена и жидкого парафина на фекальную экскрецию 2,3,4,7,8-ПХДФ, основного соединения, вызывающего у людей болезнь Юшо /403/.

Хотя вопрос о реальной биотрансформации 2,3,7,8-ТХДД окончательно не решен, необходимо подчеркнуть, что для метаболитов этого ксенобиотика не показано биоаккумуляции, они хорошо выводятся из организма /630/. Авторы полагают, что метаболизм является скоростью-лимитирующим фактором элиминации 2,3,7,8-ТХДД. Трудно сегодня что-либо сказать по этому поводу, но очевидно, что ткани содержат галогенированные производные дибензо-*p*-диоксина и дибензофурана в их исходном состоянии, а гидроксильные метаболиты быстро конъюгируются и поэтому имеют меньшее время полужизни в организме /28, 165/.

Проблема персистенции 2,3,7,8-ТХДД и сходных соединений в тканях человека, оценка концентрации этих ксенобиотиков привлекают внимание специалистов в целях сравнения с данными, полученными на экспериментальных животных, но, главное, в связи с реальной опасностью ПХДД, ПХДФ и ПХБ для здоровья людей.

Так как в аграрных странах в тканях людей зарегистрирован уровень содержания ПХДД/ПХДФ, на порядок величины уступающий уровню его содержания у населения индустриальных стран (например, 145 ppt в Северном Вьетнаме против 1200 ppt в ряде районов США), а также поскольку ПХДД не обнаружены в донных отложениях озер, был сделан вывод об антропогенном происхождении большинства ПХДД/ПХДФ /524/. Гипотезы об образовании следовых количеств 2,3,7,8-ТХДД при лесных пожарах отступили на второй план еще задолго до начала промышленного загрязнения среды этим ксенобиотиком. Встала проблема возможной эволюции животных и человека в присутствии 2,3,7,8-ТХДД.

Интересно, что изомерный состав и содержание в тканях людей ПХДД и ПХДФ одинаковы в образцах, взятых в индустриальных странах разных континентов. Уровень содержания ПХДД возрастает с увеличением количества атомов хлора в молекуле; так, содержание октахлордibenзо-п-диоксина (ОХДД) составляет 400 - 900 ppt. Что касается изомеров ПХДФ, то в тканях человека в наибольших количествах присутствуют 2,3,4,7,8-ПХДФ и 1,2,3,6,7,8-ГХДФ /483/.

Проведенные в Канаде исследования позволили Райану и сотрудникам заключить, что уровень 2,3,7,8-ТХДД положительно коррелирует с возрастом /192/, но не с полом человека; у шестимесячного плода практически не определяется ни 2,3,7,8-ТХДД, ни 2,3,7,8-ТХДФ /523/. В жировой ткани взрослых канадцев 2,3,7,8-ТХДД находится в концентрации 5 нг/кг, а октахлордibenзо-п-диоксин - в концентрации 1000 нг/кг, то есть в пределах величин, характерных для организмов жителей Швеции /483/, Японии /523/ и других индустриальных стран. Изомерный анализ ПХДФ показал, что в частицах вдыхаемой японцами сажи основными компонентами являются гептахлор-изомеры, в то время как пентахлор-изомеры преобладают в их жировой ткани /402/.

В главе I говорилось о сохранении эффектов ПХДД в течение очень длительного времени. В этой связи характерен тот факт, что, хотя применявшийся во вьетнамской войне "Agent Orange" содержит не более 2 - 80 ppt 2,3,7,8-ТХДД, в жировой ткани жителей юга Вьетнама в 1986 г. содержалось до 27 ppt этого ксенобиотика (у жителей севера страны - 2 - 3 ppt) /481, 525/.

На аутопсийном материале проведено специальное исследование с целью выяснения равенства показателей концентрации 2,3,7,8-

ТХДД в жировых тканях, взятых из разных мест человеческого тела /356/. Результат получился положительным. В образцах жировой ткани брюшной стенки 35 людей, умерших в г. Сент-Луисе (США), обнаружены изомеры ПХДД, от 2,3,7,8-ТХДД до октахлор-изомера, причем количественно удалось определить 20 - 80 ppt ПХДД в семи образцах; количество 2,3,7,8-ТХДД достигло 17 нг/кг жировой ткани /192/.

В жировой ткани общей популяции жителей США концентрация 2,3,7,8-ТХДД составляет в среднем 5 нг/кг, а в жировой ткани жителей Мюнхена она равна 9 нг/кг /583/. В организмах жителей Швеции, Дании и северной части ФРГ содержание 2,3,7,8-ТХДД колеблется в пределах 2 - 6 ppt /485/. В 136 изомерах концентрация только 12 из них была выше минимального уровня /572/. Эти же авторы показали, что у канадцев, живущих в районе Великих озер, содержание 2,3,7,8-ТХДД в жировой ткани составляет 4 - 130 ppt.

В США описан случай смертельного отравления пентахлорфенолом: в жировой ткани погибшего было обнаружено 250 нг/кг "эквивалентов 2,3,7,8-ТХДД", а в печени - 130 нг/кг, это концентрации, в 50 - 100 раз превышающие контрольный уровень /524/.

В главе I приведены данные о содержании копланарных изомеров ПХБ в печени и тонком кишечнике японцев, страдающих болезнью Юпо /362/. Загрязняющие ПХБ различные изомеры ПХДФ содержатся в жировой ткани больных Юпо в суммарной концентрации 9 - 22 нг/г (в контрольной группе - 40 - 80 пг/г), в печени этих больных определяется 10 - 70 нг/г, а в легких - 0,8 нг/г ПХДФ /311/.

В ряде работ оценивается этап элиминации галогенированных производных дибензо-*p*-диоксина и дибензофурана у людей. Так, по данным /321/, $t_{1/2}$ для 2,3,7,8-ТХДД у людей равно 3,5 года, по данным /75/ - 5 лет, а по данным, полученным при обследовании принимавшего 2,3,7,8-ТХДД добровольца, - 6 лет /443/. Время полужизни 2,3,7,8-ТХДД в жировой ткани человека - больше 1 года /428/. У 75 ветеранов - летчиков США, участвовавших в распылении препарата "Agent Orange" в ходе вьетнамской войны, выявлена при элиминации 2,3,7,8-ТХДД кинетика реакции первого порядка, определено $t_{1/2}$ в организме каждого человека и получена гистограмма популяционного распределения этого параметра /444/.

В некоторых исследованиях подчеркивается преимущество определения параметров общей нагрузки организма 2,3,7,8-ТХДД по показателям его содержания в жировой ткани, а не в грудном молоке, поскольку в последнем случае приходится ограничиваться кругом женщин детородного возраста /429/. Другие ученые, напротив, считают грудное молоко "отличным материалом - индикатором загрязнения хлорорганическими соединениями" /402/. Этот материал, утверждают авторы, позволяет легко регистрировать увеличение загрязнения токсичными хлорорганическими соединениями именно потому, что репродуктивный возраст женщин ограничен и возрастающее загрязнение находит свое отражение в содержании этих соединений в жире грудного молока.

В грудном молоке 150 женщин земли Северный Рейн - Вестфалия (ФРГ), в течение 1985 - 1986 гг. определяли содержание изомеров ПХДД и ПХДФ /159/. Чувствительность используемого метода не позволяла выявлять концентрации 2,3,7,8-ТХДД выше 5 ppt (5 нг/кг). Полученные результаты свидетельствуют, что ни в одной пробе содержание 2,3,7,8-ТХДД не превышает этого уровня, хотя во всех образцах присутствовало некоторое количество ксенобиотика. Более 50% содержания всех изомеров ПХДД составляет октахлордибензо-*p*-диоксин, а среди изомеров ПХДФ преобладает 2,3,4,7,8-ПХДФ.

Изучение зависимости концентрации ПХДД и ПХДФ от периода лактации позволило установить обратную пропорциональность этих показателей /159/. Таким образом, можно говорить о кормлении грудью как о "детоксикационном процессе" для матери. С другой стороны, нельзя забывать о риске грудного вскармливания для младенцев /572/, хотя в грудном молоке жительниц ФРГ и Северной Швеции концентрация 2,3,7,8-ТХДД составляет 1 - 8 ppt, а в молоке женщин США - 1 - 4 ppt, уровень "2,3,7,8-ТХДД-эквивалентов" в молоке американок в 2 - 4 раза выше, чем в молоке жительниц Северного Вьетнама, и в 18 - 60 раз ниже, чем у жительниц Южного Вьетнама /523/. Авторы считают, что риск грудного вскармливания для младенцев США в 2 - 43 раза больше рекомендованного правительством уровня, который не может быть превышен ("do not exceed"), а в Южном Вьетнаме в 1973 г. этот риск был выше рекомендованного уровня в 800 - 23500 раз.

В 1973 г. среднее содержание 2,3,7,8-ТХДД в молоке женщин из деревень Южного Вьетнама было равно 4,6 ppt (на мокрый вес)

или 110 ppt (на липидный материал, составляющий 4,2% от общего веса). В 1985 г. содержание 2,3,7,8-ТХДД в молоке снизилось до 0,32 или 8,4 ppt /528/. В Канаде в 1979 - 1981 гг. содержание 2,3,7,8-ТХДД в грудном женском молоке было зарегистрировано на уровне 0,2 или 5,9 ppt, а в коровьем молоке 2,3,7,8-ТХДД и был обнаружен /67/. Оценивая динамику хронологических изменений в содержании 2,3,7,8-ТХДД в грудном молоке женщин США, Канады, Японии, ФРГ, Таиланда и Вьетнама, Арнольд Шехтер и его сотрудники /522/ приходят к заключению, что уровень содержания ксенобиотика у женщин промышленно развитых стран (до 1200 ppt на липидную базу) выше, чем у женщин развивающихся стран, и что он практически стал равен уровню содержания 2,3,7,8-ТХДД в жировой ткани; уровень концентрации ксенобиотика в молоке женщин Южного Вьетнама постепенно, начиная с 70-х годов, снижается.

Действительно, в 1984 - 1985 гг. в грудном молоке шведок определяли 0,6 ppt 2,3,7,8-ТХДД, в молоке немок - 1,9 ppt, то есть в целом выявлены низкие уровни содержания ксенобиотика в грудном молоке женщин ФРГ, Швеции, Дании, Нидерландов, Югославии и Северного Вьетнама /412, 484, 528/. Впрочем, нужно еще раз подчеркнуть, что хотя в жире грудного молока женщин и представлены токсичные изомеры с 2,3,7,8-конфигурацией, все-таки до 75% составляет окта-изомер /67, 402/.

Как отмечалось выше, в последнее время получили известность способы определения концентрации ПХДД и ПХДФ в плазме крови /484, 539/, иногда в сочетании с одновременной регистрацией этих ксенобиотиков в жировой ткани /429/ или в плаценте /593/.

В предыдущей главе приведены экспериментальные данные о биоконцентрационном факторе как движущей силе переноса ПХДД и ПХДФ из окружающей среды в организм /24, 279, 575/, о решающей роли такого параметра, как растворимость ксенобиотиков /23/, особенно их липидорастворимость /71/. Была предпринята попытка измерить биоконцентрационный фактор у человека двумя непрямими методами - ежедневным измерением в жировых тканях и измерением времени полужизни 2,3,7,8-ТХДД с использованием однокомпарментной фармакокинетической модели. Таким образом удалось определить величину этого фактора, равную 153 (среднее значение) /170/.

2.2. Биотрансформация

Среди работ, посвященных проблеме биологической активности галогенированных ароматических углеводородов, особое место принадлежит тем, в которых речь идет о биотрансформации наиболее токсичных изомеров, в первую очередь 2,3,7,8-ТХДД. Метаболизм таких ксенобиотиков вот уже многие годы находится в центре внимания специалистов в области биологии диоксинов. Вопрос действительно важен, поскольку связан с персистенцией 2,3,7,8-ТХДД в тканях, его детоксификацией и выведением из организма, что в значительной степени определяет выраженность и продолжительность токсических, тератогенных и других вредных для здоровья эффектов диоксиновых производных. Все это на субклеточном уровне трансформируется в проблемы специфичности связывания 2,3,7,8-ТХДД с цитозольным белком-рецептором (см. главу 5), определяющим все биологические эффекты ксенобиотиков – стереоизомеров 2,3,7,8-ТХДД. Для ксенобиохимии важна проблема индукции различных форм монооксигеназ либо исходной молекулой галогенированного ароматического углеводорода, либо, напротив, продуктом (продуктами) его микросомного метаболизма (см. главу 6). Ранее автором и сотрудниками^{*/10, 11, 14, 16, 60/} было показано, что именно этот параметр определяет принципиальные различия в механизме действия индукторов ФБ- и МХ-типа (см. главу 6). Наконец, понятен интерес химиков к проблеме окислительных превращений химически инертной молекулы 2,3,7,8-ТХДД и сходных с ним соединений, где все латеральные положения замещены отрицательно заряженными галогенами. Необходимо, однако, отметить, что полностью в изложенных выше проблемах пока нет.

Более определенная картина складывается при анализе данных по метаболизму галогенированных феноксикислот. Эти соединения благодаря своей относительно высокой гидрофильности быстро экскретируются (в основном в неизмененном виде) с мочой. Видимо, какой-либо значительной биотрансформации галогенированные феноксикислоты в организме млекопитающих не претерпевают. В зависимости от дозы часть этих соединений выводится в виде конъюгатов с

*Здесь и далее: Институт клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения Академии медицинских наук СССР.

глицином, таурином или глюкуроновой кислотой. В настоящее время не ясно, возможна ли в организме млекопитающих метаболическая активация бензольного фрагмента (но не уксусной кислоты) галогенированных феноксикислот, как это наблюдается в растительных организмах, а также не ясны механизмы канцерогенной активности хлорфенолов, потенциальных продуктов метаболизма хлорфеноксикислот, в организмах животных. Вероятно, они могут быть похожими на механизм канцерогенного действия клофибрата, активирующего в клетке продукцию перекиси водорода, вызывающей повреждения ДНК /638/.

О метаболизме ПХДД и ПХДФ (о ПХБ см. главу 3) говорится во многих работах, из которых следует, что гидроксильрованные метаболиты этих ксенобиотиков иногда можно зарегистрировать в вивальных экспериментах и почти никогда - в исследованиях *in vitro* /338, 515/. В ранних работах показано, что гидроксильрованные метаболиты 2,3,7,8-ТХДД по меньшей мере на 2 порядка величины менее токсичны в организме животных, что увеличение времени ретенции при жидкостной хроматографии высокого разрешения после обработки образца β -глюкуронидазой свидетельствует, что глюкурониды - возможные продукты биотрансформации 2,3,7,8-ТХДД в печени крыс и хомяков /165, 338/. Последнее обстоятельство позволило предполагать в качестве метаболитов фенолы и предшествующие эпоксиды этого ксенобиотика. В ряде случаев показано усиление биологической активности предполагаемых метаболитов 2,3,7,8-ТХДД. Например, предшествующая индукция микросомных монооксигеназ усиливает его иммунодепрессивный эффект /614/.

В ходе исследований с полихлорированными бензолами установлено, что увеличение галогенирования ведет к замедлению окислительного метаболизма и что позиция заместителей является определяющим моментом, так как метаболизм протекает по смежным незамещенным углеродным атомам, которых не имеет 2,3,7,8-ТХДД. Поэтому не удивляют полученные данные об отсутствии биотрансформации этого ксенобиотика /619/. Позднее было проведено систематическое исследование метаболизма дибензо-*p*-диоксина и ряда его моно-, ди-, три-, тетра- и октазамещенных и показано, что менее хлорированные дибензо-*p*-диоксины превращаются в моно- и дигидроксильрованные производные с гидроксильными группами по 2- и 3-положе-

ниям, а у октахлордибензо-*p*-диоксина не обнаружено образование метаболитов /607/.

В желчи собак и крыс выявлены продукты биотрансформации 2,3,7,8-ТХДД /457/: газовой хроматографией с масс-спектрометрией показано, что у собак происходит гидроксילирование в латеральных позициях со смещением галогена в смежную позицию - 2-окси-1,3,7,8-ТХДД, а у крыс обнаружен только один метаболит - тетрахлордигидроксибензо-*p*-диоксин. В желчи получавших пентаХДД крыс выявлены полярные метаболиты, хотя не удалось определить сам субстрат /622/.

Выделение неэкстрагируемого пула 2,3,7,8-ТХДД с микросомной фракцией, наличие среди кофакторов связывания НАДФН, ингибирующее влияние СО и 7,8-бензофлавона и стимулирующее влияние предварительного введения крысам 3-метилхолантрена - все это говорит о возможности биотрансформации 2,3,7,8-ТХДД микросомными монооксигеназами /165/. Авторами показана также возможность для 2,3,7,8-ТХДД индуцировать собственный метаболизм в гепатоцитах крыс.

Как указывалось ранее, большая часть работ посвящена *in vivo* биотрансформации 2,3,7,8-ТХДД у собак и крыс. Эти исследования были проведены в лаборатории Германа Пойджера /456, 457, 459, 630/. Обобщая полученные им данные, можно заключить, что после введения крысам или собакам 2,3,7,8-ТХДД ускоряется выход с желчью его производных и метаболизм ксенобиотика является скоростью-лимитирующим фактором его элиминации из печени. Анализ химической структуры метаболита позволил идентифицировать 2-гидрокси-1,3,7,8-ТХДД. Это основной метаболит в желчи собак, но он является минорным в желчи крыс; у последних в качестве главных метаболитов определены тетрахлордигидроксибензо-*p*-диоксин и трихлордигидроксибензо-*p*-диоксин. Весь комплекс полученных данных позволяет утверждать, что биотрансформация 2,3,4,5-ТХДД у крыс и собак различается лишь количественно. По данным других авторов, основными метаболитами 2,3,7,8-ТХДД в гепатоцитах крыс являются 1-гидрокси-2,3,7,8-ТХДД и 8-гидрокси-2,3,7-трихлордибензо-*p*-диоксин. Содержание этих метаболитов достигает 60% от общего их количества /379/.

Выявлены значительные различия в метаболизме 2,3,7,8-ТХДД в гепатоцитах крыс и морских свинок. Ранее было показано, что LD_{50} для крыс в 25 раз больше, чем LD_{50} для морских свинок /641/. Так, скорость метаболизма $^3H/2,3,7,8\text{-ТХДД}$ в клетках крыс контрольной группы в 2,8 раза выше скорости в гепатоцитах контрольных групп морских свинок. У обработанных 2,3,7,8-ТХДД крыс общая скорость его метаболизма в 3,2 раза выше контрольной и в 9 раз выше скорости, наблюдаемой в гепатоцитах морских свинок, которым вводили 2,3,7,8-ТХДД. Полученные данные свидетельствуют, что 2,3,7,8-ТХДД может метаболизироваться формой монооксигеназы, индуцируемой им в микросомах печени крыс, но не морских свинок; этой формой является 7-этоксирезорурфин-0-деэтилаза, бензпиренгидроксилаза, или цитохром P-450IA1 (см. главу 6). Таким образом, данные об отсутствии влияния 2,3,7,8-ТХДД на собственный метаболизм в печени морских свинок, чрезвычайно чувствительных к его токсическому действию, подтверждают взгляды о биотрансформации 2,3,7,8-ТХДД как детоксикационном процессе.

Влияние атомов хлора в смежных к кислородному мостику положениях на тип образующихся метаболитов 1,3,7,8-ТХДФ и 2,3,6,8-ТХДФ выявилось, когда среди метаболитов оказались гидрокси-тетра-, три-ХДФ и дигидрокси-три-ХДФ, но не гидроксиклорбифенилы или хлорированные фенолы /458/. Авторы показали также, что метаболизм ПХДФ в печени крыс сильно затруднен, когда по меньшей мере 3 атома хлора присутствуют в каждом из фенильных колец.

Полученные данные в суммированном виде представлены в табл. 4.

Таблица 4

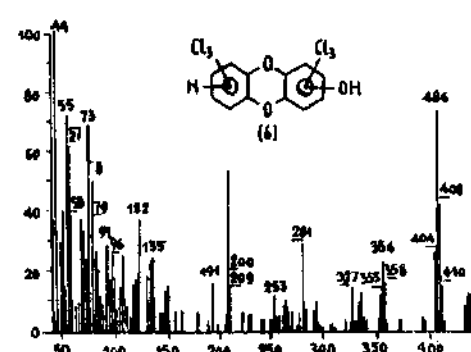
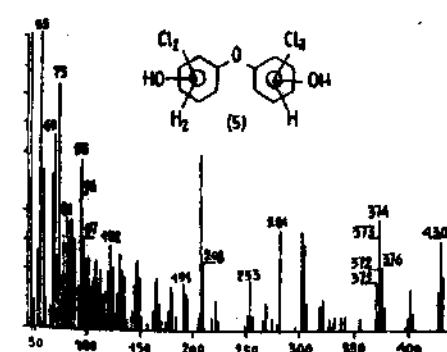
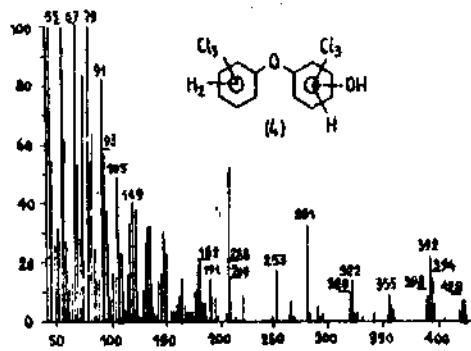
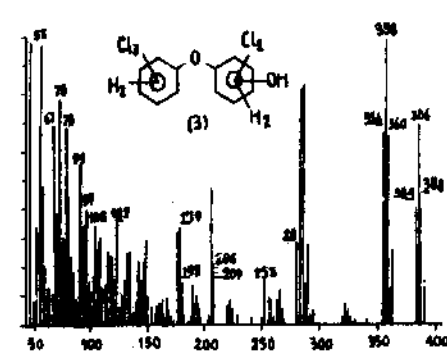
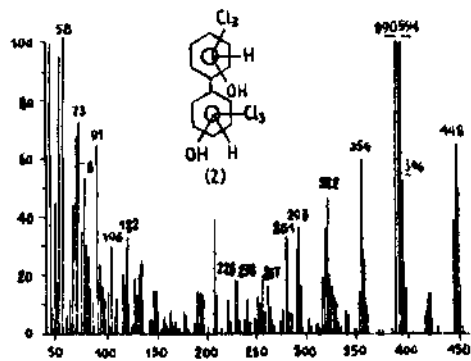
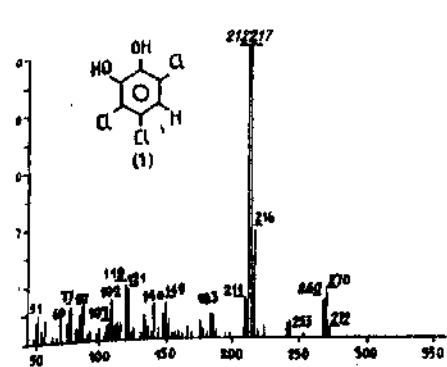
Параметры биотрансформации
галогенированных ароматических углеводов у млекопитающих

	ПХДД	ПХДФ	ПХВ	ПХН
I	2	3	4	5
I. Скорость метаболизма снижается с увеличением количества хлорзаместителей	+	+	++	+

I	2	3	4	5
2. Специфичность положения гидроксирования	+	+	+	н.д.
3. Фенольные (или диольные) метаболиты	+	+	++	+
4. Связывание с макромолекулами	+	н.д.	++	н.д.
5. Гидроксилирование катализируется монооксигеназами	+	+	++	+
6. Метаболиты менее токсичны, чем их предшественники	+	н.д.	+	н.д.

Обозначения: ПХН - полихлорированные нафталины; н.д. - нет данных.

В заключение отметим недавно появившееся важное, на наш взгляд, сообщение об образовании хлорированных дибензо-*p*-диоксинов, бифенилов и феноксифенолов из 2,4,5-трихлорфенола в присутствии постмитохондриальной фракции клеток печени крыс /103/ (см. рис. I).



ис. I. Данные ГХ-МС по образованию хлорированных бифенилов, феноксикислоты и диоксина при метаболизме 2,4,5-Т в микросомной фракции печени крыс (по данным /103/).

Обозначения: (1) 1,2,4-трихлор-5,6-диоксибензол, (2) гидроксилированный ПХБ; (3 - 5) три различных хлорированных феноксифенола; (6) гидроксилированный ПХДД.

Глава 3. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ

В этой главе обсуждаются данные, касающиеся физико-химических и субстратных свойств полихлорированных и полибромированных бифенилов, способности смесей галобифенилов и их индивидуальных изомеров вызывать биосинтез множественных молекулярных форм цитохрома Р-450. Показана количественная взаимосвязь между структурой галобифенилов (форма и размеры молекулы, количество и локализация заместителей) и их биологической активностью, выявляемой по специфичности индуцированного синтеза различных форм монооксигеназ, по взаимодействию с цитоплазматическим белком-рецептором и выраженности токсических и мутагенных эффектов галобифенилов.

Индукцированный синтез ферментов биотрансформации ксенобиотиков сегодня рассматривается как биологический феномен, сфокусировавший на себе интересы не только биохимиков и молекулярных биологов, но и в равной степени интересы специалистов по проблемам фармакологии, генетики, токсикологии, химического мутагенеза /3, 86, 148/. Из более чем трехсот известных ныне ксенобиотиков - индукторов монооксигеназ традиционно выделяют два больших класса чужеродных соединений: барбитураты и другие лекарственные вещества (так называемые индукторы ФБ-типа) и полициклические ароматические углеводороды (индукторы МХ-типа), - а также отличные от первых двух групп специфичные индукторы: прегненолон-16 α -карбонитрил, изосафрол, этанол и др. /553/. Эти низкомолекулярные гидрофобные соединения способны *in vivo* вызывать в микросомной фракции клеток эукариот синтез одной или координированный синтез множественных молекулярных форм цитохрома Р-450, что об-

условливает широкую субстратную специфичность монооксигеназной системы и в целом поддержание химического гомеостаза организма /6/.

Вместе с тем за последние годы накопились многочисленные данные об индуцирующем влиянии на монооксигеназы большого ряда чужеродных веществ (полихлорированных и полибромированных бифенилов) и о связанном с индукцией токсическом действии этих ксенобиотиков на животных и человека /28, 626/.

3.1. Ферментативная биотрансформация галобифенилов в микросомах

Галобифенилы, в частности ПХБ, с тридцатых годов используются в промышленности США и других развитых стран в качестве диэлектриков, в трансформаторах и конденсаторах, в огнеупорителях, как теплоносители, смазочные вещества и пластификаторы, а также как пестициды. Такое широкое применение ПХБ обусловлено их устойчивостью к температурному распаду, невоспламеняемостью, высокой диэлектрической постоянной и пластичностью /43/.

Галобифенилы не относятся к естественным компонентам клетки, они являются типичными ксенобиотиками, нежелательными химическими соединениями, широкое распространение которых выявлено практически во всем мире, особенно в последние 20 лет /626/. Годовой выброс ПХБ составляет приблизительно 2 тысячи тонн. Разработаны эффективные способы мониторинга ПХБ /434/, прослежены пищевые цепи накопления этих ксенобиотиков /514/.

Помимо устойчивости к химической, температурной и фотохимической деградациии ПХБ характеризуются высокой липидорастворимостью, не удивительно поэтому данные о преимущественной аккумуляции ПХБ в жировых тканях /8/ (см. также главу 2). Так, в жире у крыс накапливается в 65 раз больше ПХБ, нежели в печени /119/, а у человека соотношение концентраций ПХБ в жировой ткани и в плазме составляет 190 : 1 /434/. Большинство галобифенилов попадает в организм из желудочно-кишечного тракта /350/, а также абсорбируясь через кожу /76/. В организм плодов и новорожденных ПХБ проникают трансплацентарно или с материнским молоком /43, 631, 637/.

Уже в ранних исследованиях подчеркивалось, что ПХБ способны вызывать в организме животных и человека токсические эффекты: потерю веса, кожные болезни, атрофию тимуса и иммунодепрессию, расстройство порфиринового метаболизма и внутриклеточной миграции липопротеинов в печени, эндокринные дисфункции, репродуктивные аномалии, нарушения обмена простагландинов, гормонов и витаминов, наконец, ПХБ вызывают явления мутагенеза, тератогенеза и канцерогенеза /290, 424, 471, 637/.

Количественная оценка биологических эффектов галобифенилов, как правило, затруднена из-за использования многокомпонентных коммерческих смесей различных изомерных форм, общее число которых для ПХБ составляет 209 /434, 514/. Смеси разнообразного состава известны под фабричными марками Ароклор (США), Клофен (ФРГ), Делор (СССР), Канехлор (Япония), Совол (СССР) и др.

Автором и сотрудниками ранее была выявлена взаимосвязь между биотрансформацией ксенобиотиков и их индуцирующей активностью /12, 16, 599/. Поэтому в обзоре приводятся результаты исследований по микросомному метаболизму бифенила и его галогенированных производных. Гидроксилирование молекулы бифенила монооксигеназами идет в основном по 4-положению, а также по 2- и 3-положениям. Соотношение минорных метаболитов составляет 2 : 1 для микросом печени кроликов и хомяков и 1 : 1 для микросом мышей /78/, в то время как соотношение выхода 4- и 2-оксибифенилов, например у крыс, достигает 14 : 1 /274/.

Введение животным индуктора ФБ сопровождается увеличением скорости гидроксилирования бифенила по 2-, 3- и 4-положениям с преимущественным возрастанием окисления по 4-положению, а МХ-индукция, напротив, так резко увеличивает гидроксилирование бифенила по 2-положению, что соотношение выхода 4- и 2-оксибифенилов не превышает 2 : 1 /274, 432/.

В отличие от метаболизма бифенила, региоспецифичность различных индуцированных форм микросомного цитохрома Р-450 не проявляется, если в качестве субстратов используются 2-, 3- или 4-МХБ; преобладающим местом гидроксилирования является 4'-положение МХБ как в контрольных микросомах, так и в индуцированных ксенобиотиками ФБ- и МХ-типа /280/. Отсутствие изменений в региоспецифичности авторы подтвердили расчетами по методу молекуляр-

ных орбит. Что касается скорости гидроксилирующих реакций, то характерен гораздо более эффективный метаболизм 2-МХБ в микросомах крыс, индуцированных соединениями ФБ-типа и, напротив, преимущественный метаболизм 4-МХБ, а также других 4-галобифенилов при использовании индукторов МХ-типа /280, 432/.

В первых работах по гидроксилированию ДХБ показано, что из 2, 3-ДХБ в микросомах образуются 2, 3-дихлор-4'-бифенилол /191/, а из 2, 2'- и 2, 4'-ДХБ образуются соответственно четыре и два моногидрокселированных продукта /193/. Проведенные Каминским с сотрудниками /273, 281/ исследования метаболизма десяти различных ДХБ в микросомных и реконструированных монооксигеназных системах позволили установить, что ДХБ превращаются в моногидрокселированные и дигидродиольные метаболиты; для ДХБ, содержащих оба атома хлора в одном фенильном кольце, копланарные (плоские) изомеры характеризуются разной региоспецифичностью при окислении различными формами цитохрома Р-450 и имеют большее сродство к МХ-индуцированному цитохрому Р-448; ДХБ с некопланарной конфигурацией теряют региоспецифичность при метаболизме различными формами Р-450 (во всех случаях наблюдается 4'-гидрокселирование) и характеризуются высокой аффинностью к ФБ-форме монооксигеназы; позиции гидрокселирования ДХБ с атомом галогена в каждом из колец в значительной степени определяются электронным влиянием заместителей; скорости образования дигидродиолов ДХБ возрастают только в МХ-микросомах. Таким образом, наличие или отсутствие галогенов в орто-положениях молекулы ДХБ обуславливает преимущественный метаболизм этих ксенобиотиков различными формами цитохрома Р-450.

Что касается микросомного метаболизма ПХБ с числом заместителей от 3 до 7, то существующие данные немногочисленны /347, 565/, так как большинство работ выполнено в экспериментах *in vivo*. Биотрансформация ПХБ в значительной степени определяется количеством и локализацией атомов галогена в молекуле бифенила и в меньшей мере - типом заместителя. Как и для МХБ и ДХБ, для ПХБ характерен метаболизм с образованием промежуточных эпоксидов между смежными незамещенными углеродными атомами или между смежными замещенным и незамещенным атомами углерода. В последнем случае важен тип галогена и количество заместителей в молекуле.

Увеличение степени галогенирования снижает образование эпоксидных метаболитов из-за электронных и стерических препятствий, создаваемых отрицательно заряженными атомами галогена. При низкой скорости эпоксирирования ПХБ возможно их прямое гидроксильрование или восстановительное дегалогенирование /347/.

Характерно, что в микросомах печени крыс 2,5,2',5'-ТХБ образует один моногидроксильрованный продукт /171/, в то время как метаболизм этого галобифенила в печени кроликов приводит к образованию двух моногидроксильрованных продуктов /233/. Этот ТХБ слабее гидроксильруется у крыс, нежели 4,4'-ДХБ /247/. Не удалось обнаружить продуктов гидроксильрования 2,4,5,2',4'5'- и 2,4,6,2',4',6'-ГХБ у крыс, кроликов и голубей, хотя имеются свидетельства метаболизма других ГХБ. Среди содержащих семь заместителей галобифенилов окислительным превращениям подвергаются только 2,3,4,5,6,2'5'-ГпХБ и 2,3,4,5,2',3',6'-ГпХБ, а ОХБ совсем не метаболизируются в организме /233, 545/.

Альбро и МакКинней /38/ на основе оценки физико-химических параметров ПХБ разделили их на три группы: 1) быстро метаболизирующиеся - те, у которых в 3,4- или 4,5-положениях отсутствуют заместители (например 2,3,6,2'3',6'-ГХБ); 2) медленно метаболизирующиеся - с незамещенными 2,3- или 5,6-, но с блокированными 3,4- и 4,5-положениями (например 2,3,4,2',3',4'-ГХБ); 3) очень медленно или совсем не метаболизирующиеся - изомеры без смежных пар незамещенных углеродов (например 3,4,5,3',4',5'-ГХБ).

Данные многих авторов позволяют сделать вывод, что для галобифенилов как ксенобиотиков биотрансформацию нужно рассматривать не только как детоксификацию /635/. В ряде случаев для них показана "метаболическая активация" до токсичных продуктов. Эпоксирирование ПХБ сопровождается появлением мутагенных эффектов /642/ или ковалентным связыванием метаболитов с клеточными белками /543/. Гидроксильрованные производные ряда ПХБ в смеси с эритроцитами человека обладают более выраженной гемолитической активностью, нежели исходные ПХБ /360/. Гидроксильрованный продукт 2,4,3',4'-ТХБ характеризуется в 5 раз меньшей LD₅₀ для мышей по сравнению с субстратом /645/. В клеточной культуре гидроксильрованные продукты и их эпоксидные предшественники более токсичны, нежели исходный 2,5,2',5'-ТХБ /557/.

3.2. Индуцирующее влияние смесей галобифенилов на монооксигеназы

Индукцию монооксигеназных систем у получавших ПХБ животных впервые обнаружили Райзбро и его сотрудники /491/, изучавшие гидроксילирование стероидов у свиней. Затем индуцирующие эффекты ПХБ были зарегистрированы у нескольких видов лабораторных животных, отличающихся как по активности монооксигеназ в печени и внепеченочных тканях, так и по чувствительности к индукторам /28, 46/.

Как правило, отмечаются "смешанный" характер, выраженность и продолжительность индуцирующего влияния ПХБ, зависящие от структуры входящих в смеси изомеров, а внутри них - от количества и локализации заместителей в молекуле бифенила /112, 183/. Ранее же подчеркивалась только роль персистенции ПХБ в тканях /213/. Действительно, коммерческие смеси ПХБ состоят из множества изомеров и гомологов с различным уровнем галогенирования и положением заместителей /317/. Это объясняет "смешанный" тип индукции монооксигеназ смесями Ароклор 1254, Канехлор КС 400 и т.д. /42, 648/, то есть сопряженную индукцию ФБ- и МХ-типа. В многочисленных работах показано одновременное возрастание монооксигеназной активности разных форм цитохрома Р-450 при введении животным смесей ПХБ /3/. Так, Ароклор 1254 охарактеризован как индуктор "смешанного" типа в экспериментах на взрослых /508, 584/ и новорожденных животных /14/. У получавших Ароклор 1254 крыс в интактных гепатоцитах, в их митохондриальном надосадке (так называемая фракция S_9) и в микросомах зарегистрировано одновременное возрастание скорости реакций О-деалкилирования пентоксирезорифина и этоксирезорифина, катализируемых соответственно ФБ- и МХ-индуцированными формами цитохрома Р-450 /100, 325/.

Экспериментально доказано, что микросомный цитохром Р-450 существует в виде набора индуцируемых различными ксенобиотиками молекулярных форм /5/. На основе спектральных, электрофоретических, кинетических и иммунохимических данных, а также через сравнение чувствительности к специфичным индукторам в микросомах печени крыс выявлены и получены в высокоочищенном виде следующие формы (в скобках указан основной индуктор): цитохром Р-450_{РВ-3}

/199/, аналогичный P-450_D /508/, P-450 "C" /632/, P-450_{PB} /147/, P-450 /345/, P-450₄ /187/ и P-450_{PB} /179/ (индуктор - ФБ); цитохром P-450_{PB-D} /199/, аналогичный P-450_e / 553/ (индуктор - ФБ); цитохром P-450_{PB/PCN-E} /199/, идентичный форме PCN-P-450 /147/ (индукторы - прегненэлон-16 α - карбонитрил, ФБ); цитохром P-450_{NF/ISF-G} /199/, аналогичный P-450_a /222/, P-450_{HCB} / 185/ (индукторы - изосафрол, 5,6-бензофлаван, 3,4,5,3',4',5'-ГХБ); цитохром P-450_{NF-B} /198, 199/, сходный с P-450_c /508/, MC-P-448 /147/, P-448 /636/, P-448 /345/, P-448 /217/, P-448₂ / 249/ (индукторы - МХ и другие ПАУ). Кроме того, известна форма P-450_{UT-F} /198/, соответствующая цитохрому P-450_a /508/, а также формы P-450_{UT-A}, P-450_{PB-C} /42/, этанольная форма P-450 /557/.

В лаборатории Левина впервые из микросом печени индуцированных Ароклором I254 крыс выделен гемопроteid, не отличающийся по спектральным и каталитическим свойствам от смеси ФБ- и МХ-цитохромов /509/. Авторы модифицировали процедуру выделения - ввели обработку фракции частично очищенного гемопротеида эмульгеном 9II с последующей хроматографией на ДЕАЕ-52 целлюлозе при 23°C /508/. При этом были изолированы три отличающиеся по "пептидным картам" формы цитохрома: P-450_a (M_r 48 кДа, СО-пик при 452 нм, преимущественное гидроксирование тестостерона в 7 α -положении и слабая активность в отношении других субстратов), P-450_b (M_r 52 кДа, СО-пик при 450 нм, эффективное гидроксирование тестостерона в 16 α -положении и N-деметилирование бензфетамина) и P-450_c (M_r 56 кДа, СО-пик при 447 нм, высокая активность в реконструированной системе метаболизма 3,4-бензпирена, 7-этоксикумарина и зоксазоламина).

С помощью специфичных антител к различным молекулярным формам цитохрома P-450 иммунохимическими и радиоиммунными методами было определено относительное содержание данных форм в микросомах печени крыс, индуцированных Ароклором I254, а также изомерами ПХБ, относящимися к ФБ-, МХ- и индукторам "смешанного" типа (см. табл. 5). Как следует из таблицы, Ароклор I254 вызывает приблизительно равное увеличение содержания цитохромов P-450_b + P-450_e из семейства ФБ-форм и P-450_c + P-450_a из оппозитного семейства МХ-форм монооксигеназ. Обращает на себя внимание то,

что радиоиммунным методом в микросомах определяется в два раза меньшее относительное содержание форм P-450_C и P-450_D, нежели при регистрации этих форм иммунохимическими методами /331/. Что касается других форм, то в ароклоровых микросомах наблюдается незначительное увеличение относительного содержания цитохрома P-450_{PB/PCN-B} практически равный контрольному уровень содержания форм P-450_{PB-C} и P-450_A /198, 426, 585/, а также выраженное снижение концентрации формы P-450_{UT-A} /198/. После введения Ароклора I254 в микросомах печени крыс выявлена различная динамика изменений концентраций молекулярных форм цитохрома P-450, что может провоцировать ошибки в определении "типа" индукции на разных этапах этого процесса. Так, по сравнению с другими формами, содержание цитохромов P-450_B и P-450_E повышается и затем снижается особенно быстро /420/.

Наряду с монооксигеназами ПХБ индуцируют активность ферментов "II фазы" биотрансформации ксенобиотиков: УДФ-глюкуро-нилтрансфераз, эпоксид-гидразы и глутатион-S-трансферазы /31, 49, 426, 652/. Характерно, что ферменты "II фазы" позже монооксигеназ реагируют на индуцирующее воздействие ПХБ, позднее начинает снижаться и активность этих ферментов после отмены индуктора /28/.

Смеси ПХБ, в основном Ароклор I254, используют для стимуляции активности микросомных ферментов при тестировании "метаболической активации" ксенобиотиков до мутагенных продуктов /9/. Генотоксические свойства этих электрофильных соединений выявляют в клеточных и бесклеточных системах. Среди последних чаще используют так называемую фракцию S₉ из печени крыс, преиндуцированных Ароклором I254 /5, 436/. Учитывая повсеместное применение фракции S₉ в качестве активирующей системы, отметим недостатки практикующегося теста Эймса. Во-первых, активация 3,4-бензпирена и четырех его метаболитов в интактных гепатоцитах Ароклор I254-индуцированных крыс в большей степени коррелирует с *in vivo* канцерогенностью гомогенизированных гепатоцитов /179/. Во-вторых, при сравнении систем метаболической активации ароматических аминов из печени мышей, крыс, хомячков, свиней и человека выяснилось, что крысы являются самыми слабыми "активаторами" данных промутагенов; реакция N-гидроксилирования ароматических аминов

наиболее эффективно протекает в микросомах печени хомяков /436/
В-третьих, введение животным Ароклора I254 сопровождается за-
метным снижением мутагенной активности диметилнитрозамина и
бензидина - субстратов этанольной формы цитохрома P-450 /342/.

Показано, что в реконструированной монооксигеназной систе-
ме цитохром P-450_a более активен, нежели цитохром P-450_c в ре-
акции метаболической активации (N-гидроксилирование) 2-ацетил-
аминофлуорена, 4-аминобифенила и продукта пиролиза триптофа-
на Tgr-P-2 /87,272, 495/. С другой стороны, только форма P-
450_c метаболизирует 3,4-бензпирен-7,8-диол до проксимального
мутагенного продукта /495/. Цитохром P-450_b, изолированный из
Ароклора I254-микросом, оказался более активен, нежели цитохро-
мы P-450_a и P-450_c в метаболической активации противоопухолево-
го препарата циклогексилнитрозомочевины /476/.

Таблица 5

Эффект Ароклора I254 и индукторов ФБ- и МХ-типа
на относительное содержание молекулярных форм
цитохрома P-450 в микросомах печени крыс

Индукторы	Формы	P-450 _a	P-450 _b	P-450 _b	P-450 _c	P-450	P-450 _c	
			P-450 _e	P-450 _e			P-450 _e	
		% от общего содержания СО-гемопротеида						
I		2	3	4	5	6	7	
I. Контроль ^I		6		4	3	5		
Фенobarбитал ^I		6		55	I	2		
3-Метилхолантрен ^I		I4		I	78	24		
Изоафлор ^I		5		I7	16	38		
Ароклор I254 ^I		7		37	27	22		
Ароклор I254 ²		4-7	30/34		34	29		
Ароклор I254 ³				47			53	
Ароклор I254 ⁴					16-20	14-17		
Ароклор I254 ⁵				38			43	
Ароклор I254 ⁶		9		43	24	20		

I	2	3	4	5	6	7
2. Изомеры ФБ-типа ⁶ :						
2,4,2',4'-ТХБ	4		64	I	I	
2,4,5,2',4',5'-ГХБ	5		66	I	I	
3. Изомеры МХ-типа ⁶ :						
3,4,3',4'-ТХБ	10		I	44	26	
3,4,5,3',4'-ПеХБ	14		I	30	47	
3,4,5,3',4',5'-ГХБ	14		I	30	55	
3,4,5,3',4',5'-ГХБ ⁴						
4. Изомеры "смешанного" типа ⁶ :						
2,3,4,3',4'-ПеХБ	12		20	33	21	
2,3,4,3',4',5'-ГХБ	9		27	32	20	
2,3,4,2',3',4'-ГХБ	11		36	18	4	

Примечание: 1 /585/, 2 /198/, 3 /584/, 4 /331/, 5 /201/, 6 /426/

3.3. Характеристика физико-химических и индуцирующих свойств изомеров ФБ-типа

История изучения индуцирующих свойств смесей галобифенилов в отношении монооксигеназной системы фактически представляет собой историю выявления способности входящих в эти смеси изомеров и гомологов вызывать *de novo* синтез индивидуальных форм цитохрома Р-450, а также исследования количественных связей между структурой ПХБ- или ПВЕ- и их биологической активностью, измеряемой по специфичности индуцирующих и выраженности токсических эффектов конкретного галобифенила. На вопрос, может ли каждый изомер "комплексно" (подобно Ароклору I254) индуцировать различные формы монооксигеназ или же он является прототипом ксенобиотика - индуктора ФБ- или МХ-типа, принципиальный ответ был получен в 1977 г. /466/. При изучении влияния 16 галобифенилов на бензпирен-гидроксилазы печени мышей и зародышей цыплят было выяснено, что изомеры, хлорированные по 2- и 4-положениям (2,4,2',4'-ТХБ, 2,4,5,2',4',5'-ГХБ, 2,3,4,2',3',4'-ГХБ и 2,4,6,2',4',6'-ГХБ), увеличивают содержание цитохрома Р-450 и

метаболизм аминопирина, незначительно стимулируют гидроксирование 3,4-бензпирена, не изменяют отношения пиков 455 на/430 нм в дифференциальном спектре этилизоцианида, то есть выявляют свойства индукторов ФБ-типа.

Эти и полученные позднее результаты подтверждают выдвинутое нами в 1974 г. положение о том, что индукторы ФБ-типа реализуют свой эффект исходной, неметаболизированной молекулой /I2, I3, I6, 599, 60I/. Так, закрытие подвергающихся гидроксированию 2- и 4-положений в молекуле бифенила сопровождается практически полным отсутствием метаболизма этих изомеров в микросомах /247, 545/ и обуславливает индукцию монооксигеназы по ФБ-типу. Известно, что присутствие заместителей в мета-положениях бифенила, относительно слабо гидрокслирующихся в микросомах, не приводит к появлению индуцирующих эффектов у 3,5,3',5'-ТХБ /I83/.

Существенная роль блокирования заместителями подвергающихся метаболизму положений молекулы бифенила в реализации ФБ-типа индукции изомеров ПХБ компенсирует предположение Сэйфа и его сотрудников /42I, 422, 5I4/ об отсутствии четкой связи "структура - функция" для галобифенилов - индукторов ФБ-типа. В этом смысле примечательны данные о наибольшей активности гомологов, содержащих заместители в 2,3,4-, 2,4,5- или 2,4-положениях, по крайней мере, в одном из бензольных колец, о большей активности 2,4-дихлорзамещенных ПХБ, нежели 2- или 4-хлорированных аналогов /5II/. Эксперименты с первичной монослойной культурой гепатоцитов крыс показали, что изомеры ПХБ с двумя хлорированными орто-положениями максимально индуцируют синтез ФБ-формы монооксигеназы P-450_B /533/. В других исследованиях подчеркивается, что ФБ-активностью обладают изомеры с единственным орто-заместителем, смежным с группой СН, а не с заместителем в мета-положении (например 2,4- или 2,4,5- против 2,3,4- или 2,3,4,5-) /42I, 422/. Эти же авторы обнаружили, что "смешанный" индуктор 2,3,4,5,2',3',4'-ГлХБ при элиминации или переносе 3'-заместителя становится индуктором ФБ-типа /426/.

Большинство данных об индукторах - галобифенилах ФБ-типа касается 2,4,5,2',4',5'-ГХБ. Интересно, что первые эксперименты свидетельствовали о "смешанном" характере его индуцирующего вли-

нения на монооксигеназные системы /561/. Далее было выявлено загрязнение препарата 2,4,5,2',4',5'-ГХБ индуктором МХ-типа 2,3,7,8-тетрахлордибензофураном, который образуется на этапе синтеза ГХБ в катализируемой медью реакции сопряжения 2,4,5-трихлорйодбензола /182/; 2,4,5,2',4',5'-ГХБ является компонентом коммерческой смеси Ароклор 1016, используемой как индуктор ФБ-типа /12/ (его бромированный аналог служит основным компонентом огнетушительной смеси ВР-6) /493/.

С помощью жидкостной хроматографии высокого разрешения показано менее чем 4-кратное увеличение общего метаболизма 3,4-бензпирена в микросомах печени крыс, получавших 2,4,5,2',4',5'-ГХБ, 2,4,6,2',4',6'-ГХБ или их бромированные аналоги /206, 514/. При этом зарегистрировано почти 10-кратное возрастание выхода транс-4,5-дигидро-4,5-дигидроксibenзпирена, хотя образование 6,12-хинона только в 2 - 3 раза выше контрольного уровня. Данные о метаболизме 3,4-бензпирена до слабореакционных продуктов соответствуют сведениям о низкой токсичности самих 2,4,5,2',4',5'-ГХБ и 2,4,5,2',4',5'-ГББ /28, 31, 514, 519/. Поскольку выявлена корреляция между уровнем токсичности ПХБ и специфичностью их связывания с цитоплазматическим белком-рецептором (Ah-рецептор, см. главу 5), не удивительны данные о слабой способности этих галобифенилов конкурировать с /³H/ 2,3,7,8-ТХДД за точки связывания на Ah-рецепторе: лишь при 10³-кратном избытке ПХБ наблюдается невыраженная конкуренция, а полное ингибирование связывания радиолиганда с рецептором происходит только, когда избыток галобифенила составляет 10⁵ /59, 60/.

В экспериментах с изомерами ПХБ были подтверждены данные о нечувствительности легочных монооксигеназ к индукторам ФБ-типа /648/. Показан выраженный индуцирующий эффект галобифенилов ФБ-типа на активность печеночных ферментов "II фазы" биотрансформации ксенобиотиков, в частности УДФ-глюкуронилтрансфераз /31/.

Успехи в молекулярном клонировании ДНК, комплементарных мРНК, кодирующих различные формы цитохрома Р-450 /26/, позволили сотрудникам лаборатории де Вриза получить банк кДНК, используя поли (А⁺), обогащенные РНК из печени крыс, индуцированных ФБ и 2,4,5,2',4',5'-ГХБ /532/. При гибридизации различных колоний были выявлены индуцируемые последовательности и показана высо-

кая гомология и одинаковая длина последовательностей, индуцированных ФБ и ГХБ. После обработки специфичными рестриктазами кДНК были разделены на две группы: одни - гомологичные последовательностям, кодирующим форму P-450_в, а другие - P-450_е; 2,4,5,2',4',5'-ГХБ индуцирует преимущественно последовательность в-типа. Для всех индукторов ФБ-типа показано равное увеличение содержания P-450_{в/е} и концентрации мРНК, что свидетельствует об активации транскрипции. Так, инъекция крысам Вистар ФБ или 2,4,5,2',4',5'-ГХБ сопровождается быстрым 80-кратным возрастанием содержания P-450_{в/е} и уровня специфичной мРНК.

Введение крысам этих индукторов с последующим электрофоретическим разделением микросомных белков или их протеолитических фрагментов, электрофоретическим переносом на нитроцеллюлозную бумагу и обработкой антителами к P-450_{РВ/РСN-Е} (ФБ-индуцируемая форма цитохрома) позволили выявить идентичные полосы окрашивания в препаратах обеих групп /199/.

В сотрудничестве лабораторий Паркинсона и Левина /426/ с помощью моноспецифичных антител к основным индуцируемым формам микросомного цитохрома P-450 был проведен количественный анализ этих форм в печени крыс Long-Evans, получивших более сорока индивидуальных изомеров и гомологов галобифенилов, в том числе относящихся к индукторам ФБ-типа (см. табл. 5).

Из 27 исследованных ПХБ только колланарные индукторы МХ-типа заметно снижают содержание P-450_в и P-450_е в микросомах, а остальные в той или иной степени индуцируют эти формы цитохрома. Наибольшей активностью обладает 2,4,5,2',4',5'-ГХБ: концентрация форм P-450_в + P-450_е заметно превышает таковую для случая, когда крысам вводили ФБ. Изучено влияние различных структурных модификаций 2,4,5,2',4',5'-ГХБ на способность индуцировать ФБ-формы монооксигеназ. Так, элиминация одного или обоих пара-замещенных, а также элиминация или перемещение мета-заместителей снижает уровень индукции этих цитохромов. Но если данные структурные модификации обуславливают только количественные изменения, то элиминация или перемещение одного или обоих орто-заместителей сопровождается качественным изменением самого типа индукции /426/. С другой стороны, введение одного или двух орто-заместителей в молекулу колланарного МХ-индуктора 3,4,3'4'-ТХБ

обеспечивает индукцию форм P-450_B + P-450_E до уровня, равного соответственно 43% или 73% от общего содержания микросомного CO-связывающего гемопротейна.

Исследования количественных связей между структурой вещества и их биологической активностью (QSAR-анализ) получили широкое распространение в токсикологии и ксенобиохимии; в полной мере это относится и к ксенобиотикам - индукторам монооксигеназной системы /158, 324, 537/, в том числе к галобифенилам. QSAR - анализ в этом случае необходим в первую очередь для идентификации более токсичных ПХБ или ПББ, для понимания структурных и физико-химических особенностей, характеризующих галобифенилы как индукторы множественных форм цитохрома P-450. Приведенные выше данные об индукторах ФБ-типа объединяются структурным требованием к занятию галогеном орто-положений в обоих фенильных кольцах, а также к наличию заместителей в несметных с 2,2 латеральных положениях молекулы бифенила.

Методом рентгеноструктурной кристаллографии определена структура и конформация ряда изомеров ПХБ и ПББ /354/. Наличие орто-заместителей в молекуле индуктора ФБ-типа 2,4,6,2',4',6'-ГХБ обуславливает выраженную некопланарность молекулы с углом между планами двух фенильных колец, равным 87,3° /548/. Орто-заместители затрудняют вращение вокруг "стержневой" C(I) - C(I) связи. Показано, что 2,4,5,2',4',5'-ГХБ имеет четыре C-CI диполя, которые не умещаются в углах характерного для копланарных конформеров четырехугольника со сторонами 10 Å x 3 Å из-за затруднительной ротации вокруг "стержневой" связи и некопланарности фенильных колец /354/.

В лаборатории МакКиннея /38/ была выявлена взаимосвязь между поляризуемостью изомеров ПХБ и типом индуктора. Показано, что наиболее сильные индукторы ФБ-типа характеризуются индексом поляризуемости I53, значительно превышающим таковой для индукторов "смешанного" и МХ-типов. Таким образом, и геометрия, и поляризуемость молекулы ПХБ определяют качественную характеристику галобифенилов как индукторов монооксигеназ.

3.4. Анализ связи "структура - биологическая активность" для изомеров диоксинового типа

Накопившиеся к настоящему времени данные об изомерах МХ-типа свидетельствуют о корреляции структуры молекул галобифенилов, специфичности их взаимодействия с цитоплазматическим рецептором, индукции тех форм монооксигеназ, которые ответственны за "метаболическую активацию" ксенобиотиков, а также о выраженности токсических эффектов, вызываемых этими изомерами.

Уже в ходе первых исследований выяснилось, что среди галобифенилов истинными индукторами бензпирен-гидроксилазы в печени крыс, мышей и зародышей цыплят являются только три: 3,4,3',4'-ТХБ, 3,4,5,3',4',5'-ГХБ и 3,4,5,3',4',5'-ГББ /466/. Эти изомеры содержат два смежных атома галогена в латеральных позициях каждого бензольного кольца, но при этом отсутствуют заместители в орто-положениях молекулы бифенила. Изомеры, хлорированные по 4- и 3-положениям, вызывают синтез цитохрома Р-448, увеличение бензпирен-гидроксилазной активности, скорости УДФ-глюкуронилтрансферазной реакции, а также соотношения пиков 453 нм/430 нм в дифференциальном спектре этилизоцианида /183/. При этом данные изомеры снижают скорость реакции деметилирования аминопиринна и в целом более токсичны для организма /289, 353/.

Сформулированы структурные требования к индукторам МХ-типа, сводящиеся к присутствию заместителей в латеральных положениях, что придает молекуле плоскую конфигурацию /466/. Впрочем, сами авторы отметили относительную справедливость последнего положения, поскольку перевод 3,4,3',4'-ТХБ в более "жесткий" копланарный аналог 2,3,6,7-тетрахлорбифенилен сопровождается более чем 300-кратным увеличением его индуцирующей активности в отношении бензпирен-гидроксилазы печени куриных эмбрионов.

Действительно, из кристаллографических данных следует, что конформация молекул 3,4,3',4'-ТХБ, 3,4,5,3',4',5'-ГХБ и 3,4,3',4'-ТББ, строго говоря, не является копланарной, и угол между плоскостями двух бензольных колец составляет примерно 47°; еще менее вероятно сохранение копланарности молекул ПХБ в водной фазе /354/. По расчетам авторов, использовавших функцию распре-

деления Больцмана, только 1% всех молекул галобифенилов может существовать в плоской конфигурации. Это объясняет, в частности, почему 2,3,7,8-ТХДД, являющийся стереоизомером 3,4,5,3',4',5'-ГХБ, но фиксированный в ригидной плоской конфигурации, в 500 раз более эффективен как индуктор бензпирен-гидроксилазы, в 100 раз более специфичен как лиганд для Ah-рецептора и почти в 200 раз более токсичен для морских свинок, нежели сравниваемый ГХБ /354, 514/. Вместе с тем важно подчеркнуть, что копланарность изомеров-индукторов МХ-типа значительно более выражена относительно индукторов ФБ-типа; это обуславливает специфичность их индуцирующих эффектов, высокое сродство к рецептору и сильную токсичность.

Практически все структурные характеристики галобифенилов МХ-типа выявлены при сравнении их с наиболее сильным индуктором такого типа 2,3,7,8-ТХДД. Так, оказались критичными такие параметры, как форма, размеры молекулы, природа галогенированных заместителей и их локализация; вносят определенный вклад также поляризуемость молекулы и коэффициент распределения в бифазной системе "октанол - вода" /38, 354, 471, 514/. Оптимальной формой является копланарная (или близкая к ней) с длиной 10 - 10,5 Å, шириной 3 Å и поляризуемостью ПЗ. Наиболее активные индукторы-галобифенилы имеют одинаковые с 2,3,7,8-ТХДД молекулярные размеры и сходную пространственную ориентацию атомов галогена в латеральных положениях /354/. Известно, что активные ПББ могут содержать не четыре (как ПХБ), а три атома галогена в латеральных позициях обоих колец, что объясняется большей поляризуемостью атомов брома.

Показано, что относительно копланарные полициклические ароматические углеводороды способны индуцировать в клетках эукариот молекулярные формы монооксигеназ (в том числе бензпиренгидроксилазу), ответственные за метаболизм ксенобиотиков, сходных с индукторами по форме и размерам молекулы /368/. Эти индукторы характеризуются высокой аффинностью к цитоплазматическому рецептору - продукту регуляторного гена Ahg. Ключевая роль Ah-рецептора в индукции МХ-форм цитохрома Р-450 установлена с помощью технологии рекомбинантной ДНК, гибридизации соматических клеток, "обратной селекции" дефицитных по бензпирен-гидроксилазе мутантных клеток /365/. Что касается ПХБ, то Сайлом и его сотрудниками

/59/ установлено, что /³H/ 2,3,7,8-ТХДД вытесняется с рецептора только изомерами - индукторами МХ-типа, среди которых самым активным оказался 3,4,5,3',4'-ПеХБ. Ряд моно-орто-замещенных МХ-изомеров был значительно менее активен в конкуренции за точки связывания на Ah-рецепторе и в качестве индукторов бензпирен-гидроксилазы.

Авторы обнаружили, что 2,3,4,5,4'-ПеХБ, содержащий заместитель в орто-положении, является хорошим лигандом Ah-рецептора. Изучение галозаместителей 4-углерода позволило установить последовательность $I > Br > Cl > F$, свидетельствующую о роли поляризуемости молекулы галобифенилов и о том, что выраженная копланарность молекулы не является критичным параметром /61/. Согласно данным МакКиннея и сотрудников /38, 354/, копланарность молекулы ПХБ облегчает стерическую "подгонку" к рецептору, а способность к эффективному связыванию зависит от общей поляризуемости молекулы-лиганда. В экспериментах с 2,3,4,5,4'-ПеХБ, содержащим 13 различных латеральных заместителей, отмечается высокая корреляция степени сродства галобифенилов МХ-типа к Ah-рецептору и их активности как индукторов бензпирен-гидроксилаз в печени крыс и в клетках крысиной гепатомы Н-4-ПЕ /60/.

Для ПББ показано, что эффективными индукторами МХ-типа являются изомеры, содержащие заместители в обоих пара-положениях и от одного до четырех атомов брома в мета-положениях. Обнаруженный "переход" индуктора ФБ-типа 4,4'-ДББ в индуктор МХ-типа 3,4,3'-ТББ подчеркивает роль единственного заместителя в мета-положении молекулы бромированного изомера /493, 494/.

В ряде работ показан одноклазовый эффект индукции 3,4,3',4'-ТХБ и 5,6-бензофлавоном на скорость и региоспецифичность метаболизма МХБ и ДХБ /280, 281/. Соотношение выхода содержащих и не содержащих "К-область" гидроксированных метаболитов пирена в ТХБ-микросомах равно 0,3, а в ФБ-микросомах - 2,4 /254/. Такая же картина наблюдается при гидроксировании 3,4-бензпирена: в микросомах печени получавших 3,4,3',4'-ТХБ крыс общий метаболизм субстрата увеличивается более чем в 10 раз с преобладающим выходом содержащих "Бау-область" транс-7,8- и 9,10-диолов 3,4-бензпирена /206/. Известно, что 7,8-диол-9,10-эпоксид является самым активным связывающимся с нуклеозидами ДНК мета-

болитом 3,4-бензпирена; он же признается наиболее мутагенной и канцерогенной формой 3,4-бензпирена как в модельных опытах *in vitro*, так и в опытах на животных *in vivo* /3, 17, 87, 179, 578, 584/.

Среди множественных форм цитохрома P-450 истинной бензпирен-гидроксилазой (КФ I.14.14.2) является индуцируемая различными ксенобиотиками МХ-типа форма P-450_c, аналогичная P-450 LM₆ у кроликов и P_I-450 у мышей /6, 388/. В табл. 5 приведены данные иммунохимического анализа содержания цитохрома P-450_c в микросомах печени крыс, преиндуцированных МХ и галобифенилами МХ-типа. С помощью моноспецифичных антител к P-450_c показано наибольшее содержание этой молекулярной формы в 3,4,3',4'-ТХБ-микросомах /426/.

Из таблицы следует, что 3,4,5,3',4'-ПеХБ также обладает индуцирующей активностью в отношении формы P-450_c. Известны факты увеличения бензпирен-гидроксилазной активности в печени и легких получавших 3,4,5,3',4'-ПеХБ крыс, а также селективное ингибирование этой реакции 7,8-бензофлавоном, но не метирапоном /648/. Данный изомер индуцирует также скорость реакции 7-гидроксилирования тестостерона, катализируемой конститутивной формой P-450_a, но вызывает подавление активности 2 α - , 6 β - и 16 α -гидроксилаз /375/. В нашей лаборатории использование 3,4,5,3',4'-ПеХБ с ароматическими полициклическими и гетероциклическими углеводородами - индукторами МХ-типа позволило установить одновременный биосинтез в микросомах печени крыс двух молекулярных форм - P-450_c и P-450_a, первая из которых обладает высокой бензпирен-гидроксилазной и 7-этоксирезорифин-0-деэтилазной активностью, подавляемой антителами к P-450_c /18/. Действительно, данные табл. 5 свидетельствуют, что 3,4,5,3',4'-ПеХБ увеличивает в микросомах содержание как P-450_c, так и P-450_a /426/.

В настоящее время накоплен значительный экспериментальный материал о координированной индукции молекулярных форм P-450_c и P-450_a при воздействии индукторов МХ-типа /6, 388, 585/, о различиях в субстратной специфичности и спектральных свойствах этих цитохромов /198,199/, о частичной структурной гомологии P-450_c к P-450_a /554/ и частичной гомологии в нуклеотидной последовательности кодирующих эти формы генов /156/, о перекрестной иммуноре-

активности P-450_c и P-450_d у крыс /489/ и с аналогичными формами у кроликов (LM6, LM4), мышей (P₁-450 и P₃-450) и человека /6, 257, 288, 583, 640/, о преимущественной "метаболической активации" до мутагенных продуктов полициклических ароматических углеводородов - формой P-450_c и ароматических аминов - формой P-450_d /436, 590/.

В этой связи представляют интерес данные Гольдштейн и сотрудников /85/ о выделении из микросом печени получавших 3,4,5,3',4',5'-ГХБ крыс Sprague-Dawley цитохрома, который по своей электрофоретической подвижности напоминает форму P-450_v, по положению СО-пика - форму P-450_c (448 нм), но отличается от последних иммунологическими свойствами, хроматографическим поведением, "пептидными картами", спектром высокоспинового гемопротеида, слабым метаболизмом 3,4-бензпирена и бензфетамина, а также 7-этоксирезорифина. Авторы назвали эту форму цитохромом P-450_{НСВ}, который сегодня считается аналогичным форме P-450_d /199, 388/. С помощью специфичных антител к цитохрому P-450_{НСВ} /67/ и P-450_d /426/ иммунохимическими и радиоиммунными методами показано самое высокое относительное содержание формы P-450_d именно в микросомах печени крыс, получавших 3,4,5,3',4',5'-ГХБ (см. табл. 5).

При сравнении у этих крыс динамики содержания форм P-450_d и P-450_c (радиоиммунный анализ) и соответствующих им мРНК (трансляция полисом в бесклеточной системе с последующей иммунопреципитацией и электрофоретическим разделением продуктов трансляции) показано большее увеличение концентрации P-450_c (в 600 раз от контроля) и его мРНК (в 40 раз) по сравнению с изменением концентрации P-450_d (в 40 раз) и его мРНК (в 12 раз); при этом абсолютные уровни содержания P-450_d и специфичной мРНК выше как в контрольных, так и в индуцированных образцах /222/. В принципе такая же картина наблюдается при анализе содержания мРНК для цитохромов P-450_c и P-450_d в печени крыс, индуцированных смесью галобифенилов Канехлор KC500 /277/.

Как отмечалось ранее, самыми токсичными из всех галобифенилов являются индукторы МХ-типа 3,4,3',4'-ТХБ, 3,4,5,3',4',5'-ГХБ и их бромированные аналоги, у которых индуцирующая активность четко коррелирует с конфигурацией, размерами молекулы,

средством к Ah-рецептору и способностью вызывать снижение общего веса и веса печени, атрофию тимуса /426, 466, 514/. Согласно общему мнению, сама по себе индукция галобифенилами монооксигеназ не вызывает токсичности; последняя возникает как результат снижения уровня ряда эндогенных соединений: простагландина E₁ /579/, стероидных гормонов, тироксина, витаминов А, В и Е /5/, вследствие угнетения уропорфиноген-декарбоксилазы /519/, а также накопления в печени триглицеридов /518/ и холестерина /644/.

Вместе с тем имеются свидетельства прямого участия 3,4,5,3',4',5'-ГХБ-индуцированных форм Р-450 в метаболической активации промутагенов. Так, показана доминирующая роль формы Р-450_с в активации 3,4-бензпирена и его 7,8-диола в высокому-тагенный в системе Эймса 7,8-диол-9,10-эпоксид, а также преимущественное участие формы Р-450_а в метаболической активации 2-ацетиламинофлюорена и продукта пиролиза триптофана Tgp-P-2 /495/. Изучение активации ароматических аминов в реконструированной монооксигеназной системе выявило, что выход реакционно-способного продукта реакции N-гидроксилирования 2-ААФ превышает 15% только в случае, если реакция катализируется цитохромом Р-450_а /187/. Антитела к Р-450_а ингибируют на 60-процентную реакцию N-гидроксилирования как в МХ-, так и в 3,4,5,3',4',5'-ГХБ-микросомах, в то время как антитела к форме Р-450_с совсем не ингибируют реакцию активации ароматических аминов в контрольных и индуцированных препаратах. Очевидно, что реакция активации ариламинов осуществляется лишь одной из двух МХ-форм цитохрома, а именно Р-450_а. Действительно, в работе Каматаки и сотрудников /272/ показано, что изолированный из 3,4,5,3',4',5'-ГХБ-микросом цитохром Р-450_а в 8 раз активнее цитохрома Р-450_с в реакции N-гидроксилирования 2-ацетиламинофлюорена и 4-амино-бифенила.

Известно, что электрофильные продукты индуцированной галобифенилами биотрансформации полициклических ароматических углеводородов и ароматических аминов обладают дисморфогенетическими эффектами у эмбрионов /267, 432/. В частности, ПХБ вызывает индукцию N-гидроксилазы 2-ацетиламинофлюорена у культивированных эмбрионов крыс, что обуславливает тяжелые пороки развития. В этом

смысле характерен пример исследования плацент от женщин, перенесших в 1979 г. на о. Тайвань так называемую болезнь Юшо, еще в 1968 г. впервые описанную в Японии /331/. Употребление этими женщинами в пищу рисового масла, загрязненного ПХБ, привело к появлению у них характерных симптомов, а в дальнейшем, даже через 4 - 5 лет, к рождению детей с заметными аномалиями развития /637/. В микросомной фракции плацент этих женщин зарегистрировано 100-кратное превышение контрольного уровня активности 3-гидроксилирования 3,4-бензпирена и 0-деэтилирования 7-этоксирезорфуфина. Поскольку обе эти реакции катализируются в печени цитохромом P-450_c, авторы с помощью специфичных к этой форме антител методом перекрестного иммуноэлектрофореза выявили значительное увеличение содержания P-450_c в микросомах плаценты и печени перенесших болезнь Юшо женщин. Эксперименты с антителами против P-450_d свидетельствуют об отсутствии этой формы монооксигеназы в микросомах плаценты человека.

Из 209 возможных изомеров и гомологов ПХБ только 2, 4, 5, 3', 4', 5'-ГХБ оказался специфичным индуктором так называемого "изо-сафролового" типа, преимущественно увеличивающим содержание цитохрома P-450_d /422/. Этот вывод сделан на основе спектральных, электрофоретических данных, ингибированного анализа, а также путем совместного введения различных по механизму действия индукторов. Выяснилось, что ГХБ как индуктор формы P-450_d более специфичен, нежели изосафрол /420/. Кроме 2, 4, 5, 3', 4', 5'-ГХБ, семь из восьми орто-производных галобифенилов МХ-типа были охарактеризованы как индукторы "смешанного" типа /420/. Способность этих галобифенилов увеличивать содержание различных молекулярных форм монооксигеназ, а именно P-450_{в/с}, P-450_d, вытекает из данных табл. 5 /206, 426/. Хотя в настоящее время имеются свидетельства "смешанной" индуцирующей активности ряда замещенных ПХБ и ПББ /422, 493/, их физико-химических характеристик /59, 61, 354, 514/, прямой зависимости "структура - активность" для этих галобифенилов не выявлено.

Таким образом, в настоящей главе представлен материал о связанной с монооксигеназными системами биологической активности распространенных ксенобиотиков - галобифенилов. Хотя все галобифенилы имеют идентичный углеродный каркас, они проявляют

себя подобно соединениям различных типов - индукторам ферментов биотрансформации (детоксификации или метаболической активации) ксенобистиков и эндогенных неполярных субстратов. Очевидна уникальность исследований с изолированными изомерами ПХБ и ПББ, так как внутри одного класса соединений могут быть "конструированы" качественно различные типы индукторов путем направленного галогенирования исходного углеводорода.

Глава 4 БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ ДИБЕНЗО-П-ДИОКСИНОВ И СХОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

4.1. Токсические эффекты

Вопросы токсикологии ПХДД, ПХДФ (о ПХБ см. главу 3) и их предшественников получили достаточно широкое освещение в ряде обзоров, статей и в материалах симпозиумов по диоксину /40, 85, 125, 248, 300, 397/.

В табл. 6 приведены данные по острой токсичности 2,4-Д и 2,4,5-Т в отношении трех видов млекопитающих /502/.

Таблица 6

Токсичность 2,4-Д и 4,5-Т
для мышей, крыс и морских свинок

Соединение	LD ₅₀ (мг/кг)		
	мыши	крысы	морские свинки
2,4-Д			
Кислота	368	375	469
Натриевая соль	375	805	551
Изопропиловый эфир	541	700	550
Смесь бутиловых эфиров	713	620	848
2,4,5-Т			
Кислота	389	500	381
Изопропиловый эфир	551	495	449
Смешанный бутиловый эфир	940	481	750
Смешанный амиловый эфир		750	

Как с очевидностью следует из таблицы, галогенированные феноксикислоты обладают незначительной токсичностью для млекопитающих, возможно, вследствие их быстрой элиминации. Острые токсические эффекты включают мышечные расстройства, вызывающие атаксию, паралич, разрушение Т-трубочек в миокарде, а также гипохолестеринемии и снижение уровня триглицеридов плазмы крови /40/. Рабочие, участвующие в производстве 2,4,5-Т, страдают воспалительными заболеваниями кожи, печеночными расстройствами, неврологическими и обменными болезнями, у них часто развивается порфирия. Впрочем, эти патологические изменения справедливо приписывают эффектам 2,3,7,8-ТХДД, загрязняющего препараты 2,4,5-Т.

Хлорфеноксикислоты, используемые как гербициды, структурно похожи на естественный гормон роста растений индоло-3-уксусную кислоту и проявляют свое гербицидное действие, вызывая аномальный (летальный) рост. Гербицидные свойства хлорфеноксикислот, как показывает анализ связи их структуры и биологической активности, проявляются только когда боковая цепь содержит терминальную карбоксильную группу, нечетное число метиленовых групп и по меньшей мере один водородный атом у α -углерода, когда они находятся в (+)-стереоизомерной форме и содержат галогенированные заместители в положениях 2- и 4- фенильного кольца. Полагают, что активность 2,4-Д обусловлена положительным зарядом положения 6-, локализованного на расстоянии 5,5 Å от отрицательно заряженной карбоксильной группы.

В последние годы проводятся интенсивные исследования по токсикологии галогенированных дибензо-*p*-диоксинов и дибензофуранов в связи с достаточно выраженным загрязнением ими окружающей среды и сильной токсичностью некоторых соединений из этих двух классов ксенобиотиков. Особое внимание уделяют 2,3,7,8-ТХДД, который сегодня расценивается как наиболее токсичное из когда-либо синтезированных веществ /462, 473/.

Патологические изменения, вызываемые 2,3,7,8-ТХДД, во многих случаях включают изменения эпителиальных тканей. Токсические эффекты наблюдаются в виде: гиперплазии и(или) метаплазии кожи (хлоракне, см. раздел 4.4), слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, мочевых путей, желчного протока и(или) желчи-

ного мешка; отеки (отек); гепатомегалии или печеночного некроза; гипоплазии, атрофии или некроза тимуса, костного мозга и яичек; синдрома истощения, сопровождающегося истощением жировой ткани. Многие из этих токсических эффектов 2,3,7,8-ТХДД видоспецифичны (см. ниже). Важно подчеркнуть, что изостереомерные аналоги 2,3,7,8-ТХДД, такие как 2,3,7,8-тетрахлордифензофуран, 2,3,6,7-тетрахлорнафталин и 3,4,3',4'-тетрахлорбифенил, проявляют такие же токсические свойства в отношении млекопитающих, как и 2,3,7,8-ТХДД /535/.

Синдром истощения (снижение веса тела, уменьшение потребления пищи, моторной активности и остаточного потребления кислорода) у крыс и других животных является дозозависимым: дозы выше 50 мг/кг вызывают смерть животного в течение месяца; при введении 15 мкг/кг 2,3,7,8-ТХДД снижение потребления пищи и кислорода сохраняется в течение 2 недель, после этого животные съедают необходимое для восстановления веса количество пищи; если же введен ксенобиотик в дозе 50 мкг/кг (то есть на уровне LD_{50}), то принятие пищи уже становится несущественным для поддержания падающего веса тела /536/. Авторы показали, что если крыс лишить пищи до введения 2,3,7,8-ТХДД (25 мкг/кг), то сразу после этого введения они восстанавливают аппетит и, как следствие, вес тела. В дальнейшем было показано, что только сниженное потребление пищи не может объяснить вызываемый 2,3,7,8-ТХДД синдром истощения /504/. Авторы заключают, что падение скорости потребления кислорода у подопытных животных может быть результатом как уменьшения количества съедаемой пищи, так и нарушений уровня тироксина и трийодтиронина в плазме крови, что 2,3,7,8-ТХДД "активирует метаболические пути с расточительной утилизацией запасенной энергии".

Нейротоксичность 2,3,7,8-ТХДД проявляется у людей, у животных ее регистрируют только при использовании высоких доз препарата. Показано, что падение веса у животных вызывается помимо анорексии и нарушенного метаболизма мышечным истощением, 2,3,7,8-ТХДД в дозе 100 мкг/кг у крыс вызывает потерю 54% мышечной массы /546/. Но, как замечают авторы, это не похоже на эффекты глюкокортикоидов, так как снижается концентрация глюкокортикоидного рецептора, но повышается активность глутамин-

синтетазы. Поскольку мышечные и нервные клетки содержат цитозольный рецептор (наподобие Ah-рецептора), это позволяет рассматривать нервную систему и мышцы как "мишени" токсического действия 2,3,7,8-ТХДД.

Выявлена и доказана строгая корреляция токсичности 2,3,7,8-ТХДД и сходных соединений, их способности индуцировать микросомные монооксигеназы (продукты семейства генов P-450I) (см. главу 6) и средства к цитоплазматическому Ah-рецептору /405, 460, 473, 515/ (см. главу 5). В механизме токсического действия 2,3,7,8-ТХДД предполагается, что помимо (возможно, что и независимо, поскольку токсические эффекты выявляются при использовании доз ксенобиотика, на порядок ниже необходимых для индукции монооксигеназных форм) индуцирующего влияния на цитохромы семейства P-450I, он "включает" батарею других генов, контролирующих клеточную инволюцию, деление и (или) дифференцировку. Ключевым этапом является взаимодействие 2,3,7,8-ТХДД с Ah-рецептором: об этом свидетельствуют данные QSAR-анализа и то, что токсические эффекты как фенотипический признак "расщепляются" в потомстве инбредных мышей "устойчивой" и "чувствительной" линий точно так же, как и Ah-рецептор /473/. Именно поэтому индукцию микросомных бензпирен-гидроксилаз и средство 2,3,7,8-ТХДД и его стереоизомеров из числа производных ПХДФ, ПХБ и полихлорированных бензолов повсеместно используют сегодня для количественной оценки *in vivo* токсичности этих ксенобиотиков у млекопитающих /460, 514, 566/.

Среди характерных признаков токсичности галогенированных индукторов диоксинового типа (см. главу 6), наряду с синдромом истощения, можно назвать инволюцию тимуса. Практически во всех работах, посвященных экспериментальной токсикологии таких ксенобиотиков, токсические "2,3,7,8-ТХДД-эквиваленты" оцениваются сегодня по индукции бензпирен-гидроксилазы (7-этоксирезорубин-0-деэтилазы) в микросомах печени, потере веса тела (или увеличению отношения масс печени и тела) и выраженной атрофии вилочковой железы /516/.

Корреляция снижения функциональной активности иммунной системы (см. раздел 4.5) и снижения массы тимуса при воздействии 2,3,7,8-ТХДД в перинатальный период послужила основой модели

токсичности полихлорированных диоксинов и фуранов по оценке массы тимуса и индукции микросомных монооксигеназ у крыс /334/. Дозы 2,3,7,8-ТХДД, когда наблюдался минимальный эффект, были равны 0,25 мкг/кг (инволюция тимуса) и 0,1 мкг/кг (индукция). Таким образом, еще раз подтверждено, что этот ксенобиотик наиболее токсичен, поскольку активность 1,2,3,7,8-ПХДД составляла приблизительно 50%, а токсичность 2,3,4,7,8-ПХДФ - лишь 10 - 20% аналогичных показателей 2,3,7,8-ТХДД.

Количественные отношения структура - активность (QSAR-анализ) для галогенированных дибензо-*p*-диоксинов, дибензофуранов (о ПХВ см. главу 3) интенсивно исследовались в ряде лабораторий /351, 366, 460/. Как следует из данных табл. 7, выраженность острой токсичности 13 хлорированных дибензо-*p*-диоксинов отличается у мышей и морских свинок и зависит от числа и положения заместителей в молекуле. Так, наиболее токсичное соединение 2,3,7,8-ТХДД в 180 000 раз превышает токсичность 2,8-дихлородибензо-*p*-диоксина. Очевидно, что для проявления наибольшей токсичности все четыре латеральные положения (2,3,7,8-) должны быть заняты заместителями. Дополнительный атом хлора (амино- или нитрогруппы) в орто- или мета-положении хотя и снижает токсичность, но не до уровня, наблюдаемого при элиминации или замене галогена в одной из латеральных позиций. Характерно, что такие же структурные требования предъявляются к наиболее токсичным галогенированным дибензофуранам, бифенилам и нафталинам /28, 466, 514, 516/ (см. табл. 7).

Относительную токсичность наиболее активных членов каждого класса галогенированных углеводородов можно представить в такой последовательности: дибензо-*p*-диоксин > дибензофуран >> бифенил >> нафталин. Принимая во внимание изостеричную природу всех этих соединений, сходство вызываемых ими токсических эффектов, Поланд и Кнутсон /471/ постулировали общий механизм токсичности: все эти соединения имеют плоскую прямоугольную форму, а для производных дибензо-*p*-диоксина и бифенила молекулярные размеры - 6 Å x 11 Å. Согласно гипотезе авторов, эти ксенобиотики связываются с цитозольным Ah-рецептором, затем комплекс рецептор - лиганд переносится в ядро (см. главу 5) и вызывает экспрессию генов, контролирующую биохимические изменения (см.

главу 6), а также обычно репрессированных генов, что приводит к ряду токсических проявлений. Таким образом, изостеричные соединения другой структуры (например дибензотиофены, фенатиазины, антрахиноны и др.) с полностью замещенными галогенами латеральными положениями могут быть потенциально токсичными.

Таблица 7

Токсичность хлорированных диоксинов и сходных соединений для мышей и морских свинок

Соединение	LD ₅₀ (мкгмоли/кг)		Токсичность у морских свинок (за I принят 2,3,6,7-тетра- хлорнафталин)
	мыши	морские свинки	
I	2	3	4
Замещенные дибензо-п-диоксина			
2,8-дихлоро-	-	> 1180	0,01
2,3,7-трихлоро-	> 10	120,4	0,09
2,3,7,8-тетрахлоро-	0,88	0,006	1883,0
1,2,3,7,8-пентахлоро-	0,94	0,0009	1256,0
1,2,4,7,8-пентахлоро-	> 14	3,15	3,6
1,2,3,4,7,8-гексахлоро-	2,11	0,185	61,0
1,2,3,6,7,8-гексахлоро-	3,19	0,178- 0,255	44 - 63
1,2,3,7,8,9-гексахлоро-	> 3,69	0,153- 0,255	44 - 74
1,2,3,4,6,7,8-гептахлоро-	-	> 14	8
I-нитро-3,7,8-трихлоро-	-	> 90,0	0,13
I-амино-3,7,8-трихлоро-	-	> 99,0	0,11
I-нитро-2,3,7,8-тетрахлоро-	> 5,4	0,13	88,0
I-амино-2,3,7,8-тетрахлоро-	> 14,2	0,58	20,0
Сходные токсичные аналоги			
2,3,7,8-тетрахлордибензофуран	-	0,023	507,0
3,4',4,4',5,5'-гексахлоробифенил	-	1,39	8,0
2,3,6,7-тетрахлорнафталин	-	> 11,3	1,0
2,3,6,7-тетрабромнафталин	-	0,547	21,0

Принципиально важно подчеркнуть широкую вариабельность в чувствительности млекопитающих различных видов к токсическому действию 2,3,7,8-ТХДД и сходных соединений. При пероральном введении 2,3,7,8-ТХДД величины LD_{50} (в мкг/кг массы тела) были: 0,6 - 2,0 для морских свинок; 22 - 60 для крыс, < 70 для обезьян, 115 для кроликов, 114 - 284 для мышей, < 300 для собак и > 3000 для хомячков; таким образом, наличие 5000-кратные различия в LD_{50} . Эти значительные отличия в видовой чувствительности к 2,3,7,8-ТХДД, особенно выраженная устойчивость золотистых хомячков, как считают одни, могут быть обусловлены более высоким метаболизмом и элиминацией 2,3,7,8-ТХДД /410/. Другие, напротив, отрицают метаболизм и элиминацию как причину, поскольку время полужизни 2,3,7,8-ТХДД в организме морских свинок и хомячков отличается только в 3 раза /460/. К тому же концентрация (аффинность связывания 2,3,7,8-ТХДД) цитозольного Ah-рецептора практически сходна у морских свинок, хомячков, крыс, мышей и кроликов.

Причина заметных различий в межвидовой чувствительности к 2,3,7,8-ТХДД и другим галогенированным углеводородам неизвестна, хотя именно в понимании механизмов повышенной чувствительности и устойчивости к токсическому влиянию 2,3,7,8-ТХДД заключается, по-видимому, главный момент в поиске адекватных способов коррекции его действия. Очень полезны в этом смысле недавно опубликованные работы лаборатории Карла Розмана о резко повышенной чувствительности адаптированных к холоду крыс к токсическому влиянию 2,3,7,8-ТХДД /504/, а также о заметной устойчивости крыс Han/Wistar к этому ксенобиотику /453/; LD_{50} в последнем случае была 1400 мкг/кг (в 30 - 40 раз выше уровня LD для крыс как вида), хотя несколько снижалась масса тела и заметно - масса тимуса, яичек и жировой ткани.

Чувствительность различных видов животных к 2,3,7,8-ТХДД имеет также и качественные отличия. Некоторые токсические проявления, включающие некроз тканей, инволюцию или гипоплазию, наблюдаются у многих видов животных (инволюция тимуса, атрофия семявыводящих трубочек яичек, синдром истощения, уменьшение жировой ткани). Однако ряд наиболее характерных повреждений, включающих пролиферацию и (или) дифференцировку эпителиальных тканей,

наблюдается лишь у немногих видов. Так, галогенированные ароматические углеводороды вызывают гиперплазию и гиперкератоз эпидермиса и метаплазию себасеновых желез у людей, обезьян и кроликов (см. табл. 9); хлоракне наблюдается также у безволосых мышей, изменения в волосяных фолликулах — у людей и человекообразных обезьян /291/; заметная гиперплазия и гипотрофия слизистой желудка — у обезьян и коров; желудочно-кишечный тракт и желчный пузырь в первую очередь повреждаются у человекоподобных приматов; пролиферация переходного эпителия мочевого пузыря наблюдается у морских свинок и коров /473/. У морских свинок обнаружены только слабые нарушения печеночной морфологии, но выявлена выраженная атрофия тимуса и лимфоидной ткани в целом /291/.

Уровни 2,3,7,8-ТХДД в тканях (см. главу 2) сами по себе играют незначительную роль в межвидовых различиях по токсичности этого ксенобиотика и выявляемых величинах LD_{50} . К примеру, наблюдаемая у крыс и мышей гепатотоксичность 2,3,7,8-ТХДД в дозах, близких к LD_{50} , прямо не соотносится с относительно высоким уровнем содержания диоксина у этих животных. Похожее относительное содержание (в % дозы на печень) наблюдается и в печени золотистых хомячков, однако без сопровождающихся признаков токсичности.

Суммирование эффектов, наблюдаемых у золотистых хомячков на седьмой день после введения им 2,3,7,8-ТХДД, провели Гасиевич и сотрудники /162/ (см. табл. 8).

Поскольку ED_{50} для индукции микросомных монооксигеназ более чем на три порядка величины меньше LD_{50} , что свидетельствует об отсутствии связи между вызываемой 2,3,7,8-ТХДД у хомячков летальностью и индукцией этим ксенобиотиком питеохрома семейства P-450I, ED_{50} у хомячков близки к таковой у мышей и крыс, а также близка к величине константы диссоциации 2,3,7,8-ТХДД из комплекса с Ah-рецептором у морских свинок ($K_d = 0,3$ нМ). Поскольку хомячки являются зимнезаспящими животными, велика роль бурого жира в поддержании термогенеза (важный параметр в механизме токсического действия 2,3,7,8-ТХДД, см. /504/), а также содержания регулирующих эту функцию бурого жира тиреоидных гормонов (см. табл. 8).

Таблица 8

Влияние 2,3,7,8-ТХДД на морских свинок

Параметр	ED ₅₀ (мкг/кг)
Летальность	> 3000
Увеличение веса печени	15
Снижение веса тимуса	100
Увеличение Р-450 в печени	0,5
Увеличение активности деэтилазы 7-ЭОК	1,0
Увеличение сывороточного тироксина	15
Увеличение сывороточного трийодтиронина	20

Что касается морских свинок как вида, наиболее чувствительного к токсическому влиянию 2,3,7,8-ТХДД, то однократное введение этого ксенобиотика сопровождается индукцией микросомных ферментов, потерей до 30% веса тела, атрофией тимуса, увеличением относительного веса печени, иммунодефицитом, потерей организменного жира и смертью в течение первых 3 - 4 недель /609/.

Индукция микросомных монооксигеназ, вернее различия по уровню и аффинности Ah-рецептора, определяет различия в токсических эффектах 2,3,7,8-ТХДД на генетически чувствительных и на генетически устойчивых к индукции этих ферментов мышей /503, 562/. Токсичность 2,3,7,8-ТХДД возрастает для мышей C57BL/6, но не DBA/2. Одним из признаков воздействия галогенированных ароматических углеводородов является развитие порфирии (см. раздел 4.4). В этой связи показано, что после кровопускания истощенные по железу мыши C57BL/6 устойчивы к вызываемому 2,3,7,8-ТХДД развитию порфирии (но не к атрофии тимуса или хлоракне). На роль атомов железа (и активируемых им реакций перекисного окисления липидов) указывает ингибирующий эффект антиоксидантов на развитие порфирии. Предполагают, что в токсичности 2,3,7,8-ТХДД участвует Fe⁺⁺, освобождающееся из ферритина /503/.

Хотя ответ на вопрос о метаболизме 2,3,7,8-ТХДД в организме мышей не получен, любопытен тот факт, что для получения токсич-

ческих эффектов, вызываемых у мышей и крыс 4 - 8 мкг/кг 2,3,7,8-ТХДД, необходимо использовать 5000 мкг/кг 2-окси-3,7,8-трихлордibenзо-п-диоксина, основного метаболита 2,3,7,8-ТХДД /338, 339/. Кроме того, предварительная индукция микросомных ферментов ксенобиотиками МХ-типа вызывает снижение острой токсичности 2,3,7,8-ТХДД; напротив, токсичность возрастает в присутствии ингибиторов цитохрома Р-450IA1, то есть предполагается, что метаболизм 2,3,7,8-ТХДД ведет к его детоксификации /66/.

Представляется необходимым кратко отметить сходную с ПХДД токсичность колланарных изомеров ПБДД с атомами брома в латеральных положениях молекулы /337/, а также аддитивную токсичность смесей ПХДД и ПХДФ /27, 63, 568/, хотя токсичность наиболее активных изомеров, 2,3,4,7,8-ПХДФ и 2,3,7,8-ТХДД, соответственно в 3 и 20 раз ниже, чем токсичность 2,3,7,8-ТХДД /370/. Кроме того, требует внимания оценка токсичности 2,3,7,8-ТХДД и сходных с ним соединений с помощью экспресс-теста на ранних этапах жизни морских организмов /229, 230/.

Из-за "отсроченной" токсичности диоксин-подобных ксенобиотиков данные о длительных токсикологических эффектах 2,3,7,8-ТХДД не менее важны, чем данные об острой его токсичности. Об этом свидетельствуют материалы главы I об отдаленных последствиях для здоровья людей контакта с соединениями этого типа /371/. Понятны и оправданы попытки моделировать эти процессы на экспериментальных животных.

Так, Кошиба показал /298/, что при введении в диете крысам в течение двух лет 2,3,7,8-ТХДД в дозе 0,01 мкг/кг/день необратимые токсические эффекты отсутствуют, в дозе 0,01 мкг/кг/день наблюдаются выраженные явления печеночной и легочной токсичности, а в дозе 0,1 мкг/кг/день налицо разнообразные острые эффекты: образуются карциномы, высока смертность крыс. Пойнджер /455/ выявил менее выраженные токсические эффекты у крыс, которым в течение 13 недель вводили разные изомеры ПХДД и ПХДФ. Были вычислены нормализованные относительно 2,3,7,8-ТХДД "эквиваленты токсичности": для 2,3,4,7,8-ПХДФ = 0,4; 1,2,3,7,8-ПХДФ = 0,01; 1,2,3,6,7,8-ПХДФ = 0,1; 1,2,3,4,8-ПХДФ = 0,001; 1,2,3,7,8-ПХДФ = 0,4. На этой длительной экспериментальной модели подтвердилось, что индивидуальные изомеры ПХДД/ПХДФ в смесях обладают аддитив-

ной токсичностью. В хронических экспериментах оценивали также токсичность 2,3,7,8-ТХДД для птиц, рыб и амфибий /279/.

4.2. Тератогенность и эмбриотоксичность

Одной из реальных опасностей, связанных с загрязнением среды ПХБ, ПХДД, ПХДФ и их синтетическими предшественниками, является опасность тератогенных последствий и эмбриотоксичности. В настоящее время нельзя недооценивать роль загрязняющих окружающую среду ксенобиотиков в нарушении эмбрионального развития /1/.

Печальный опыт войны в Индокитае (1962 - 1975 гг.) свидетельствует о негативных последствиях воздействия на организм беременных женщин и рождающихся у таких матерей детей галогенированных ароматических углеводородов. Многочисленные исследования, посвященные этой проблеме, полны фактами о возрастании у подвергавшихся воздействию "Agent Orange" женщин случаев спонтанных абортс /III, 243/, внутриматочной смерти плода /244, 440/, пузырного заноса /437, 439, 440/ и конгенитальных уродств /245, 437, 439/. Подробнее эти данные раскрыты в главе I, посвященной эпидемиологическим аспектам проблемы. Изложенные обстоятельства обусловили развитие интенсивных исследований экспериментальных моделей тератогенного и эмбриотоксического воздействия 2,3,7,8-ТХДД и сходных с ним соединений.

О тератогенности 2,4,5-Т впервые было сообщено 20 лет назад, затем выяснилось, что тератогенные эффекты технически чистого 2,4,5-Т обусловлены 2,3,7,8-ТХДД, присутствующим в этих образцах в концентрации до 30 ppm. Дальнейшие исследования подтвердили, что 2,3,7,8-ТХДД является одним из самых сильных тератогенов, известных на сегодняшний день. В табл. 9 суммированы данные о тератогенности 2,3,7,8-ТХДД и близких по структуре соединений.

Как следует из табл. 9, 2,4-Д и ее изооктиловый эфир характеризуются слабой тератогенностью у мышей некоторых линий. Бутиловый эфир 2,4-Д считается фетотоксичным, но не тератогенным соединением, а метиловый и этиловый эфиры 2,4-Д вообще не обладают тератогенными или эмбриотоксическими эффектами.

Тератогенность 2,4-Д, 4,5-Т, 2,3,7,8-ТХДД
и сходных соединений

Соединение	Тератогенность*		
	Вид	Эффект	Источник информации
I	2	3	4
2,4-Д и сходные соединения			
2,4-Д	мыши	±	/80/
	крысы	-	/216/
	крысы	+ (СУ)	/285/
	хомячки	± (СУ)	/114/
2,4-Д, метиловый эфир	мыши	-	/80/
2,4-Д, этиловый эфир	мыши	-	/80/
2,4-Д, бутиловый эфир	мыши	-	/80/
	крысы	+ (СУ)	/285/
2,4-Д, изооктиловый эфир	мыши	±	/80/
	крысы	+ (СУ)	/285/
2,4-Д, диметиламиновая соль	крысы	-	/610/
	крысы	+ (СУ)	/285/
2,4,5-Т и сходные соединения			
2,4,5-Т**	мыши	+ (РН)	/80/
		(ПН)	/120/
	мыши	+ (РН)	/121/
		(ПН)	/121/
	мыши	+ (РН)	/160/
	мыши	+ (РН)	/240/
		(СУ)	
	мыши	± (РН)	/224/
	крысы	+ (ПН)	/80/
		(ВР)	/120/
крысы	-	/121, 293/	
хомячки	+ (СУ)	/588/	
	(ГН)	/114/	
2,4,5-Т	хомячки	-	/101/

I	2	3
2,4,5-Т	овцы	- /79/
	обезьяны	- /141/
2,4,5-Т, бутиловый эфир	мыши	+ (РН) /363/
2,4,5-Т, изооктиловый эфир	мыши	+ (РН) /363/
2,4,5-Т, пропиленгликольэтиловый эфир	мыши	+ (РН) /363/
2,4,5-Т-трихлорофенол	мыши	- /240/
Хлорированные дибензо-п-диоксины		
2-хлоро-	крысы	- /286/
2,3-дихлоро-	крысы	- /286/
2,7-дихлоро-	крысы	- /531, 286/
1,2,3,4-тетрахлоро-	крысы	- /286/
2,3,7,8-тетрахлоро-	мыши	+ (РН) /121/
		(ПН) /562/
	мыши	+ (РН) /364, 394/
	крысы	+ (ПН) /121/
		(ВР)
	крысы	+ (ВР) /286/
	кролики	+ (ПН) /173, 556/
	обезьяны	+ (РН) /654/
Смесь гексахлор-изомеров	крысы	+ (РН) /531/
		(СУ)
Октахлор-изомер	крысы	- /531/

Условные обозначения:

+, - позитивная, - негативная, ± неясные эффекты, возможно эмбриотоксичность;

кк - возможны примеси 2,3,7,8-ТХДД;

СУ - скелетные уродства;

РН - расщепление нёба,

ПН - почечные нарушения;

ВР - расстройства висцеральных органов;

ГН - глазные нарушения;

РТ - расщепление верхней губы ("заячья губа")

В исследованиях на трех генерациях крыс Osborne-Mendel Хансен и сотрудники /216/ не получили каких-либо свидетельств в пользу тератогенности 2,4-Д. Однако бутиловый, изооктиловый и бутоксиэтанольный эфиры 2,4-Д при введении крысам с 6-го по 15-й день беременности вызывают увеличение частоты скелетных уродств /285/. В последующем данные о тератогенной активности изооктилового эфира 2,4-Д не получили подтверждения в эксперименте на крысах CD /610/. В лаборатории Родвелла в экспериментах на крысах F344, получавших 2,4-Д с 6-го по 15-й день беременности, не обнаружено признаков тератогенности этого соединения /499/, а также его метаболита 2,4-дехлорфенола /499/.

2,4,5-Т тестировали на тератогенную активность в опытах на шести видах млекопитающих. Выяснилось, что определяющим моментом служит чистота образца, поскольку технический препарат 2,4,5-Т содержит (см. выше) 2,3,7,8-ТХДД. Вместе с тем аналитически чистая 2,4,5-Т вызывает те же тератогенные эффекты (расщепление нёба, почечные нарушения), что и техническая 2,4,5-Т, что свидетельствует о тератогенности этого соединения для мышей. Для крыс же только технически чистая 2,4,5-Т является тератогеном. 2,4,5-Т нетератогенна для кроликов, овец и обезьян. Появились работы, авторы которых приходят к такому же заключению на основе экспериментов на крысах с особо чистыми препаратами 2,4,5-Т /293, 303, 588/. Впрочем, в реальных условиях применения "Agent Orange" (2,4-Д и 2,4,5-Т в равном соотношении) со всей очевидностью проявилась способность такого рода смесей вызывать тератогенные эффекты у людей (см. выше). Промышленные образцы 2,4,5-Т вызывают у хомячков глазные нарушения - отсутствие глазного века /114/, хотя и эти данные оспариваются /101/. 2,4,5-Т, его бутиловый, изооктиловый и пропиленгликоль-бутиловый эфиры у мышей вызывают расщепление нёба ("волчья пасть") /363/, хотя сходные соединения - 2,4,6-трихлорфеноксисукусная кислота, сильбекс, феноксисукусная кислота и 2,4,5-трихлорфенол - не активны как тератогены, что предполагает жесткие структурные ограничения для тератогенных ксенобиотиков такого строения.

2,3,7,8-ТХДД является сильнейшим тератогеном, в первую очередь для мышей, у которых он уже в дозах 1 - 3 мкг/кг/день вызывает расщепление нёба и почечные нарушения; последние наблюда-

ются даже у мышей, кормящихся у матерей, обработанных 2,3,7,8-ТХДД /364/. Вместе с тем двухнедельная экспозиция крыс-самок к 2,3,7,8-ТХДД незадолго до спаривания сопровождается затем нормальным развитием плода /174/, хотя при дозе 2,3,7,8-ТХДД 2 мкг/кг наблюдаются различные токсические проявления у матери и у плода, вплоть до пороков развития, то есть 2,3,7,8-ТХДД аккумулируется в организме матери и проявляет тератогенные и эмбриотоксические эффекты в период органогенеза.

Доказано, что тератогенное влияние 2,3,7,8-ТХДД зависит от инбредной линии мышей: разовая доза 30 мкг/кг (введенная на 12-й день беременности) у мышей NMRI сопровождается расщеплением нёба мышат в 75 - 100% случаев, в то время как не удается зарегистрировать каких-либо тератогенных эффектов 2,3,7,8-ТХДД у мышей ДВА/2, у которых отсутствует цитозольный Ah-рецептор для 2,3,7,8-ТХДД (см. главу 5) /127/.

Крысы как вид значительно более устойчивы к тератогенному и эмбриотоксическому влиянию 2,3,7,8-ТХДД. Если в одной из работ указывается на почечные нарушения и геморрагии в кишечнике /121/, то в других работах тератогенность 2,3,7,8-ТХДД для крыс ставится под сомнение, а кровоизлияния в кишечной стенке расцениваются как проявление эмбриотоксичности /286, 556/.

Как следует из данных табл. 9, 2-хлоро-, 2,3- и 2,7-дихлоро-, 1,2,3,4-тетрахлоро- и октахлоридибензо-п-диоксины для крыс не являются тератогенами. Только гексахлоридибензо-п-диоксин (смесь изомеров) в дозе 100 мкг/кг/день вызывает расщепление нёба и костные уродства у крыс /531/. Таким образом, подобно другим биологическим эффектам полихлорированных ароматических углеводородов, их тератогенность в решающей степени зависит от числа и позиции заместителей в молекуле дибензо-п-диоксина.

В этом смысле не удивительны первые данные о тератогенной активности для мышей двух стерических аналогов 2,3,7,8-ТХДД - 2,3,7,8-ТХДФ и 3,4,3',4'-тетрахлорбензола /225/. В дальнейшем эти результаты были подтверждены в другой лаборатории /629/, хотя показано, что активность этих соединений уступает соответственно в 10 - 30 и 260 раз активности 2,3,7,8-ТХДД /127/. Если мышам на 9 - 11-й день беременности подкожно вводили 25 нмоль/кг 2,3,7,8-ТХДД, то у потомства расщепление нёба наблюдалось в 34%

случаев. Такой же приблизительно уровень тератогенеза вызывает введение мышам 200 нмоль/кг 2,3,7,8-ТХДФ /307/.

В экспериментах на мышах зарегистрирован отчетливый аддитивный эффект при одновременном введении 2,3,7,8-ТХДД и 2,3,7,8-ТХДФ /307/. В лаборатории Бенбаума этот факт детально изучили. Введение на 10-й день беременности 12 мкг/кг 2,3,7,8-ТХДД вызывает к 18-му дню у мышей C57BL расщепление нёба в 8,7% случаев, тератогенез такого типа наблюдается у 7,7% плодов, если беременным мышам вводить 300 мкг/кг 2,3,7,8-ТХДФ, то есть 2,3,7,8-ТХДД в 30 раз более активный тератоген /628/. При этом введение мышам смеси этих галогенированных ароматических углеводов в указанных дозах сопровождается появлением симптомов "волчьей пасти" у 79,1% плодов. Таким же не чувствительным индикатором тератогенности 2,3,7,8-ТХДД, 2,3,7,8-ТХДФ и их смеси оказались у мышей почечные нарушения: гидронефроз регистрируется соответственно в 17%, 14% и 41% случаев.

В другом опыте в смеси с 2,3,7,8-ТХДД вводили либо 2,4,5,2',4',5'-ГХБ (индуктор микросомных монооксигеназ так называемого ФБ-типа, см. главу 3), либо 2,3,4,5,3',4'-ГХБ (индуктор смешанного типа) /81/. Авторы показали, что только 2,3,4,5,3',4'-ГХБ, который сам обладает лишь слабой печеночной токсичностью, в сочетании с 2,3,7,8-ТХДД увеличивает в 10 раз способность последнего вызывать расщепление нёба у мышат в пренатальный период. Таким образом, тератогенную активность 2,3,7,8-ТХДД могут увеличивать только вещества, способные связываться с цитозольным Ah-рецептором (см. главу 5). Наличие Ah-рецептора коррелирует у инбредных мышей с их чувствительностью к токсическим (атрофия тимуса, см. раздел 4.1), тератогенным (расщепление нёба и гидронефроз) и летальным эффектам 2,3,7,8-ТХДД /467/.

Этот рецептор определяется в пренатальный период только у мышей /172/, так же, как и не связанная с ксенобиотиками-индукторами экспрессия гена P-450IA1 /287/, а у крыс продукты экспрессии генов Ah-локуса (Ah-рецептор и бензпирен-гидроксилаза) проявляются лишь в период после рождения.

Представляются важными проблемы эмбриотоксичности 2,3,7,8-ТХДД и сходных соединений. Среди них одной из самых актуальных

является проблема преимущественного пути переноса ксенобиотиков от родителей к плодам; сюда относят случаи отека у птенцов *Carus argentatus*, родители которых питались загрязненной 2,3,7,8-ТХДД рыбой /177/ и даже фертильность потомства II и III поколений крыс, которым до спаривания вводили 0,01 мкг/кг/день 2,3,7,8-ТХДД /373/.

Распределение 2,3,7,8-ТХДД в организме в течение беременности и в организме новорожденных изучалось в лабораториях Мура и Люсьера. Исследования распределения ^{14}C 2,3,7,8-ТХДД по тканям крысиных зародышей после экспозиции матерей к 2,3,7,8-ТХДД выявили только незначительную радиоактивность у плодов. Показано, что высокие дозы неметаболизированного 2,3,7,8-ТХДД экскретируются в молоке, поэтому каждый новорожденный фактически получал повышенные (порядка мкг 2,3,7,8-ТХДД/кг) дозы этого ксенобиотика в течение первой недели после рождения по сравнению с дозой 2,3,7,8-ТХДД, которую вводили матерям /365/.

Эти результаты хорошо соотносятся с данными о постнатальной стимуляции активности печеночных монооксигеназных систем после введения 2,3,7,8-ТХДД беременным крысам /328/. Показано, что эти эффекты обусловлены влиянием 2,3,7,8-ТХДД через материнское молоко, хотя предполагается, что частично индукция монооксигеназ печени крысят может быть следствием воздействия 2,3,7,8-ТХДД в период до рождения. Эти работы свидетельствуют, что, хотя 2,3,7,8-ТХДД проникает через плаценту крыс, воздействие ксенобиотика на потомство является результатом экскреции высоких доз неметаболизированного 2,3,7,8-ТХДД с материнским молоком. Эти результаты нашли подтверждение в работе Берга и со-трудников, показавших, что перенос 2,3,7,8-ТХДД с материнским молоком в 50 - 100 раз эффективнее, чем через плаценту /69/.

Датскими исследователями проведен эксперимент, когда токсичность у одной группы плодов крыс вызывали введением 2,3,4,7,8-ПХДФ самкам на 16-й день беременности, а у другой группы - кормлением новорожденных крысят молоком самок, получавших этот ксенобиотик. Когда через неделю после рождения исследовали крысят обеих групп, выяснилось, что оба пути (*in utero* и через молоко) дают одинаковый эффект токсичности 2,3,7,8-ПХДФ. Сходные задачи решались и в опытах на обезьянах *Macaca Mulatta* /90,91/

Ранее были известны данные о легком транспорте 2,3,7,8-ТХДД через плаценту мелких млекопитающих /576/. В настоящее время появилась отличная экспериментальная модель культивирования целых эмбрионов и экстраэмбриональных тканей на ранней постимплантационной стадии /431/. С помощью этой модели в лаборатории Дитера Ньюбета пытались ответить на вопрос, обусловлена ли индуцируемая 2,3,7,8-ТХДД эмбриотоксичность у крыс материнской токсичностью. Действительно, до недавнего времени невозможно было определить, являются ли эмбрио- и фетотоксические эффекты у крыс результатом прямого взаимодействия ксенобиотика с эмбриональными клетками или некоего "непрямого" воздействия материнской токсичности /308/.

Авторы культивировали целые 9,5 - 11,5-дневные эмбрионы крыс в присутствии 40 - 140 нг / ^{14}C /2,3,7,8-ТХДД/мл среды и показали, что ксенобиотик проникает через мембрану желточного мешка. Значительное количество 2,3,7,8-ТХДД обнаружено в амниотической жидкости, желудочном мешке и эмбриональных тканях. При этом не выявлено отклонений в развитии эмбриона, хотя концентрации 2,3,7,8-ТХДД в нем очень велики (66 пкг/мг мокрой массы, то есть уровень ppb). В экспериментах *in vivo* ксенобиотик крысам вводили подкожно в дозе 5 мкг/кг/день на 8,5 - 10,5 дни беременности, при этом в эмбрионах концентрации 2,3,7,8-ТХДД оказались на несколько порядков величины ниже ($> 0,01$ ppb), чем при введении ксенобиотика *in vitro*. Таким образом, очевидно, что 2,3,7,8-ТХДД *in vivo* проникает очень медленно через мембраны эмбриона. В целом эмбриотоксичность этого вещества (особенно летальность в эмбриональный период) является скорее результатом токсических эффектов 2,3,7,8-ТХДД в организме матери, нежели результатом прямого его влияния на эмбрион /308/.

Эти данные противоречат существовавшему мнению об отсутствии биологически значимой связи между эмбриотоксичностью и экспозицией родителей к 2,3,7,8-ТХДД /115/. Обобщая сведения об эмбриотоксичности и тератогенности 2,3,7,8-ТХДД для животных с учетом медицинских показателей состояния здоровья населения Южного Вьетнама, штата Миссури (США) /542/ и г. Севезо (Италия), можно полагать, что 2,3,7,8-ТХДД обладает фетотоксичностью для людей, в отношении же его тератогенной активности вопрос остается открытым.

4.3. Мутагенные и канцерогенные эффекты

В связи с достаточно широким распространением в окружающей среде галогенированные феноксиуксусные кислоты, дибензо-п-диоксины и сходные соединения во многих лабораториях были тестированы на мутагенность. Так, более 20 производных 2,4-Д и 2,4,5-Т проверены в "микросомы/*Salmonella*"-мутагенном тесте Эймса (о методе см. /65/), при этом ни одно из этих соединений не проявило какой-либо мутагенной активности /47/.

Поскольку 2,3,7,8-ТХДД структурно похож на акридиновые соединения, было проверено, не является ли он мутагеном, вызывающим сдвиг рамки считывания ДНК /623/. Свидетельства в пользу мутагенности 2,3,7,8-ТХДД оказались неубедительными при использовании теста Эймса. Так, в /246/ показано, что 2,3,7,8-ТХДД без метаболической активации проявляет мутагенность в линии *Salmonella typhimurium* TA I532 (сдвиг рамки считывания), но не активен в линии TA I530 (замена пар оснований). В другой работе /538/ подтверждена мутагенность 2,3,7,8-ТХДД в линии TA I532, но выявлено отсутствие активности ксенобиотика в двух других мутагенных (сдвиг рамки считывания) линиях TA I531 и TA I534, а также в двух мутантных (замена пар оснований) линиях G46 и TA I530.

В большинстве других исследований вообще не показано никакой мутагенной активности 2,3,7,8-ТХДД в линиях TA I532, TA I535, TA I537 и TA I538 без и с предварительной метаболической активацией ксенобиотика /173, 391, 623/. Расхождения в ранних и более поздних исследованиях, возможно, объясняются различиями в растворителях, в степени чистоты препаратов и т.д. Предположения о том, что мутагенность 2,3,7,8-ТХДД не удается выявить, поскольку в связи с сильной токсичностью его использовали в микрограммовых концентрациях, и что мутагенами могут быть менее токсичные изомеры ПХДД, не нашли подтверждения в опытах с октахлордibenzo-п-диоксином, который оказался неактивным в тесте Эймса /538/.

Хотя сам 2,3,7,8-ТХДД - не мутаген в системе "микросомы/*Salmonella*", его нитропроизводные (2-нитро- и 2,3-дихлоро-7-нитро-) обладают мутагенной активностью /140, 633/. Мутагенез со сдвигом рамки считывания может объясняться наличием ароматичес-

кой нитрогруппы, а присутствие атомов хлора обуславливает, вероятно, мутагенез типа замены пар оснований. В отличие от теста Эймса, показана мутагенная активность 2,3,7,8-ТХДД в мышечных лимфоцитах L5178 Y. Эта активность оказалась дозозависимой и в целом была сравнима с активностью классических интеркалирующих агентов типа профлавина /500/. Изомерический структурный аналог 2,3,7,8-ТХДД 3,4,3',4'-тетрахлоразобензол является слабым мутагеном в тесте Эймса, но менее хлорированный гомолог, 4,4'-дихлоразобензол, и 4,4'-дихлоразоксибензол значительно более активны и вызывают мутации обоих видов /176/.

Доказанной функцией 2,3,7,8-ТХДД, а также ПХБ в мутагенезе является их способность индуцировать в микросомной фракции молекулярные формы цитохрома P-450, участвующие в метаболической активации ксенобиотиков до мутагенных продуктов (см. главу 6). Так, изолированные из индуцированных 3,4,5,3',4',5'-ПХБ микросом печени крыс цитохромы P-450IA1 и P-450IA2 катализировали в реконструированной монооксигеназной системе превращение B[a]P, T[ra]n[a]-бензапирен-7,8-дигидродиола и 2-аминофлюорена в метаболиты, активные в линиях *Salmonella typhimurium* TA 98 и G46 /495/. Аналогичная форма P-450IA2 в печени человека активирует до мутагенных продуктов 2-ацетиламинофлюорен и продукт пиролиза аминокислоты триптофана, Trp-P-2 /540/. В индуцированных Арохлором I254 микросомах печени крыс наблюдается появление мутагенных продуктов метаболизма 7,8-дигидробензо(h)пирена /109/; у таким же способом индуцированных крыс и хомяков показана метаболическая активация 2-нафтиламина до мутагенов в тесте Эймса /597/.

В дополнение к тесту Эймса 2,4-Д, 2,4,5-Т и 2,3,7,8-ТХДД проверяли на мутагенность в различных организмах, включая профаги, другие бактерии, *Drosophila*, высшие растения, культуральные клетки млекопитающих и экспериментальных животных /192, 232, 624/. За редким исключением эти соединения были либо неактивны, либо слабоактивны в большинстве исследований на бактериях и млекопитающих, но проявляли некоторую активность в высших растениях.

Уже в первых исследованиях по диоксину ставился вопрос о его генотоксичности. Генетическая токсикология ксенобиотиков послужила основой для выяснения взаимосвязи между генотоксичностью и ассоциированными с ней эффектами, такими, как рак, врожденные

уродства, нарушения репродуктивной способности, старение /97/. Так, для ПАУ выявлена и количественно охарактеризована корреляция между связыванием БП с ДНК и генотоксическим /53/, мутагенным /150/ и канцерогенным /433/ влиянием этого ксенобиотика. С помощью рентгеноструктурных анализов описана модель интеркаляции молекулы БП и его взаимодействия с функциональными группами ДНК и РНК /180/.

Что касается 2,3,7,8-ТХДД, то изучение его *in vivo* ковалентного связывания с печеночным белком, ДНК и рибосомальной РНК позволило установить, что практически весь $^3\text{H}/2,3,7,8\text{-ТХДД}$, связавшийся в печени, может быть экстрагирован /461/. В неэкстрагируемом пуле обнаружен 2,3,7,8-ТХДД в концентрациях: в белке - 60 пмоль/моль а.к.остатка, в РНК - 12 пмоль/моль нуклеотидного остатка, в ДНК - 6 пмоль/моль нуклеотидного остатка. В этом случае ковалентное связывание 2,3,7,8-ТХДД с ДНК происходит в соотношении: 1 молекула ксенобиотика на 10^{11} нуклеотидов (уровень ДНК, содержащийся в 35 клетках), что на 4 - 6 порядков величин ниже, чем для большинства химических канцерогенов, которые ковалентно связываются с ДНК или РНК в соотношении 10^{-4} - 10^{-6} моль/моль нуклеотидного остатка (см. также /163/). Авторы заключили, что "канцерогенная активность 2,3,7,8-ТХДД не может быть обусловлена ковалентным связыванием с ДНК, ведущим к соматическим мутациям" (см. также /359/).

Вместе с тем галогенированные ароматические углеводороды индуцируют специфичные формы цитохрома Р-450, которые переводят специфичные субстраты в метаболиты, ковалентно связывающиеся с ДНК /3/. Так, введение крысам Ароклора 1254 сопровождается метаболической активацией в микросомах печени ксенобиотиков молекулярных изоформ Р-450IA1 и Р-450IA2 - до связывающихся с ДНК продуктов /571/, причем моноспецифичные антитела к каждой из этих форм ингибируют это связывание. У индуцированных 2,3,7,8-ТХДД мышей снижается уровень ковалентного связывания ДМБА с ДНК и РНК печени, а также связывания 7,8-диол-9,10-эпоксида БП с экзоциклической аминогруппой гуанина ДНК эпидермиса кожи.

Тенчини и сотрудники провели цитогенетическое исследование материнских и плодовых тканей у женщин, подвергшихся воздействию 2,3,7,8-ТХДД во время инцидента в Севезо в 1976 г. /574/. Клас-

тогенных (рассасывающих) эффектов плаценты не было обнаружено, хотя отмечалось значительное возрастание частоты аберрантных клеток в тканях плода. При введении крысам 2,3,7,8-ТХДД или 1,2,3,7,8-ТХДД в течение шести месяцев с последующей изоляцией печеночной и почечной ДНК, хроматографией их ^{32}P -меченных производных и автордиографией выявилось отсутствие пятен, свидетельствующих о ковалентном связывании этих диоксинов с ДНК /482/, но на 50 - 80% снижалось количество тканеспецифичных связанных с возрастом модификаций ДНК.

Ранее было показано, что 7,8-бензофлаван, известный как специфичный ингибитор индуцируемой диоксином формы микросомного цитохрома P-450IA1 (см. главу 6), метаболизируется монооксигеназной системой печени /62I/. Затем выяснилось, что при инкубации с микросомами из печени 2,3,7,8-ТХДД-индуцированных крыс 7,8-бензофлаван вызывает в клетках яичника китайского хомячка хромосомные абберации (через 12 час.) или сестринские хроматидные обмены - СХО (через 24 час.). В контрольных или индуцированных фенобарбиталом микросомах 7,8-бензофлаван не активируется до клас-тогенных и вызывающих СХО продуктов /329/. Эти же авторы ранее выявили повышенный уровень СХО в лимфоцитах людей, подвергавшихся воздействию ПХБ и ПХДФ. Эти ксенобиотики содержат изомеры, гомологичные 2,3,7,8-ТХДД, характеризующиеся отрицательной генотоксичностью /297/.

По данным Карлстена Лундгрена и сотрудников /330/, лимфоциты крыс, которым вводили 2,3,7,8-ТХДД, более чувствительны к 7,8-бензофлавану, вызывающему СХО, чем лимфоциты из необработанных животных. Индукция 7,8-бензофлаваном СХО в 2,3,7,8-ТХДД-обработанных крысах является дозо-зависимой и сходна с дозо-зависимой индукцией печеночной бензпирен-гидроксилазы. В этой же лаборатории затем было показано на лимфоцитах периферической крови людей, что регистрируемые в метафазных клетках СХО вызываются микросомными метаболитами 7,8-бензофлавона /587/. В работе использовали кровь людей с болезнью Юо (Ю-ченг), вызванной воздействием загрязняющих рисовое масло ПХБ и ПХДФ (см. главу 3). Наблюдалось увеличение числа вызываемых 7,8-бензофлаваном СХО в лимфоцитах больных, у которых содержание ПХБ в крови составляло 15 ppt, а содержание ПХДФ - 14 ppt.

При изучении механизма действия 7,8-бензофлавона установлена ключевая роль цитохрома P-450IA1 лимфоцитов крови, поскольку антитела к этой форме монооксигеназы ингибируют индуцируемые 7,8-бензофлавоном СХО на 60%, а антитела к так же индуцируемой диоксинами форме P-450IA2 не оказывают какого-либо эффекта. Поскольку лимфоциты периферической крови крыс и людей содержат 2,3,7,8-ТХДД-специфичный рецептор в концентрациях 1,7 и $0,27 \cdot 10^{-15}$ моль/мг белка соответственно, предполагается, что 2,3,7,8-ТХДД и сходные соединения могут прямо воздействовать на лимфоциты крови и микросомы печени, индуцируя в них форму P-450IA1, катализирующую превращение 7,8-бензофлавона в метаболиты, генотоксичные в клетках яичника китайского хомячка и вызывающие СХО в лимфоцитах крови /587/.

Известно, что способностью вызывать СХО характеризуются промоторы опухолеобразования /52/. Оценивая в этом смысле 2,3,7,8-ТХДД, авторы заключают свои и приведенные выше данные других исследователей замечанием: "2,3,7,8-ТХДД не мутаген, и это мешает ему быть канцерогеном". Гипотезы, рассматривающие механизм действия не являющегося мутагеном 2,3,7,8-ТХДД, включают две возможности /461/. Первая базируется на выраженной способности 2,3,7,8-ТХДД индуцировать цитохромы семейства P-450I, метаболизирующие "потенциальные канцерогены в истинные" (см. выше, а также данные главы 6); вторая предполагает, что 2,3,7,8-ТХДД действует как промотор и стимулирует предварительно инициированные клетки к делению.

Потенциальная канцерогенность 2,4-Д и 2,4,5-Т и нескольких сходных гербицидов впервые оценивалась еще 20 лет назад. В этих экспериментах использовали две линии мышей, одна из которых имела генотип Ah^b/Ah^b , а другая - Ah^b/Ah^d (см. главу 6). Производные хлорфеноксикислот вводили либо перорально в течение 18 месяцев, либо в виде подкожной однократной инъекции /250/. Из восьми соединений только изооктиловый эфир 2,4-Д вызывал значительное возрастание случаев (5 из 17) ретикулоточечной саркомы только у мышей генотипа Ah^b/Ah^d и только при подкожном введении.

Канцерогенность 2,4-Д оценивалась также в опытах на крысах /216/. Хотя при введении 2,4-Д в дозе 1250 ppm наблюдалось возрастание случаев малигнизированных опухолей, авторы заключили, что "канцерогенный эффект 2,4-Д не был показан".

Если для мышей линии ХУП/С канцерогенного эффекта 2,4,5-Т не выявилось, то в опытах с мышами С3Нf введение 80 ppm 2,4,5-Т сопровождалось появлением опухолей более чем у половины животных /372/. Структурно похожий на 2,4,5-Т гербицид 2,4,5-трихлорфеноксигистанол при пероральном введении мышам Swiss в течение одного года вызывает двукратное увеличение случаев появления печеночных опухолей /598/; гепатоканцерогенность этого гербицида не зависит от следовых количеств 2,3,7,8-ТХДД в препарате. Другой структурных аналог, клофибрат (4-хлорфеноксизобутиловой кислоты этиловый эфир), индуцирует появление опухолей в печени, поджелудочной железе и других органах крыс /448/, в этой связи важно подчеркнуть эпидемиологические свидетельства канцерогенности клофибрата для людей.

Исследование возможной канцерогенности 2,3,7,8-ТХДД, впервые проведенное в 1973 г. /608/ с вьетнамцами, подвергшимися воздействию "Agent Orange", свидетельствовало об увеличении у них случаев рака печени. Эпидемиологические данные, касающиеся возможной канцерогенности 2,3,7,8-ТХДД для людей, приведены в главе I. Что касается экспериментальных животных (крыс и мышей), то на сегодняшний день (не считая работ по промоции и модификации канцерогенеза, см. ниже) известно 8 исследований, результаты которых суммированы в табл. 10 по данным /235, 294, 299, 378/.

Таблица 10

Эффекты действия различных хлорированных диоксинов на крыс и мышей

Производные дибензо-п-диоксина	Порода, линия	Путь введения	Пораженный орган
1	2	3	4
Дибензо-п-диоксин	мыши, Swiss	разный	нет
	мыши, B6C3F1	per os	нет
	крысы, Osborne-Mendel	per os	нет
2,7-дихлоро-	мыши, Swiss	разный	нет
	мыши, B6C3F1	per os	печень, лейкозы (самцы)
2,3,7,8-ТХДД	крысы, Osborne-Mendel	per os	нет
	мыши, Swiss	разный	кожа (самцы)

1	2	3	4
2,3,7,8-ТХДД	мыши, Swiss	per os	печень (самцы)
	мыши, B6C3F1	per os	печень, щитовидная железа (самки)
	крысы, Sprague-Dawley	per os	печень, легкие, твердое небо, язык
	крысы, Sprague-Dawley	per os	печень (выс. дозы), множ. места (низкие дозы)
	крысы, Osborne-Mendel	per os	щитовидная железа (самцы), печень (самки)
Гексахлор- (смесь 1;2 из 1,2,3,6,7,8- и 7,8,9-изомеров	мыши, Swiss	разный	нет
	мыши, B6C3F1	per os	печень
Оксахлоро-	крысы, Osborne-Mendel	per os	печень (самки)
	мыши, Swiss	разный	нет

Множественная локализация опухолей у крыс *Sprague-Dawley* при введении им низких доз 2,3,7,8-ТХДД позволила предположить, что этот ксенобиотик скорее является промотором, а не истинным канцерогеном, опухоли определенных органов (печень, легкие) появляются только при использовании высоких доз 2,3,7,8-ТХДД. Канцерогенная активность 2,3,7,8-ТХДД у крыс *Sprague-Dawley* была затем подтверждена в ходе двухгодичного эксперимента /299/; опухоли включали гепатоцеллюлярные карциномы, карциномы сквамозных клеток легких (у самок), языка (у самцов), твердого неба и назальных пазух у крыс любого пола. У крыс *Osborne-Mendel* органами-мишенями при воздействии высоких доз 2,3,7,8-ТХДД являются печень и щитовидная железа.

Для мышей 2,3,7,8-ТХДД канцерогенен в дозах, приближающихся к максимально толерантным. Виды опухолей - гепатоцеллюлярные карциномы, аденомы щитовидной железы, опухоли кожи (фибросаркомы), фибросаркомы (у самок). Таким образом, 2,3,7,8-ТХДД является канцерогеном по крайней мере для двух видов животных, но обычно для выявления канцерогенной активности необходимо ис-

пользовать максимально переносимые дозы. Принимая во внимание уровень эффективных доз, частоту и типы опухолей, канцерогенную активность дибензо-п-диоксинов можно представить в следующем порядке: 2,3,7,8-ТХДД > смесь гексахлор- > 2,7-дихлор- > незамещенное соединение. Этот ряд коррелирует с относительной токсической и индуцирующей в отношении монооксигеназ активностью этих веществ, что предполагает возможный общий механизм действия.

Оценивая роль 2,3,7,8-ТХДД в модификации процесса канцерогенеза, многие исследователи скептически относятся к нему как к инициатору опухолеобразования в схематической модели канцерогенеза, включающей этапы, указанные на рис. 2.

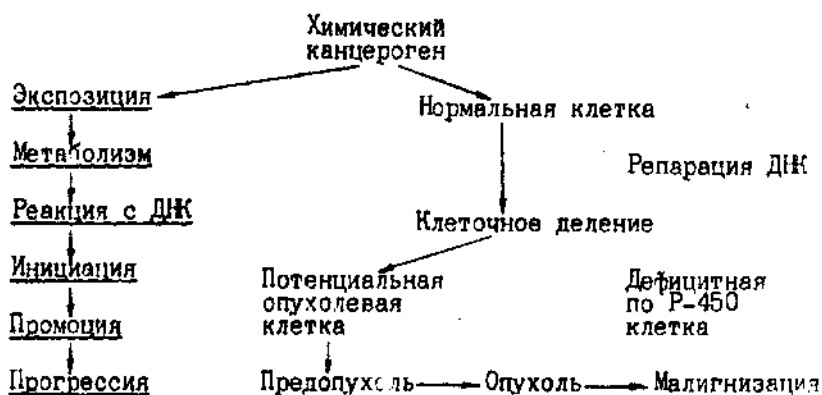


Рис. 2. Схематическая модель канцерогенеза

Сравнение биологических свойств канцерогенов, инициаторов и промоторов позволяет утверждать, что канцерогены активны в высоких дозах, а инициацию вызывают низкими дозами, требуют длительной экспозиции или очень большой разовой дозы, обладают обратимыми эффектами, их индивидуальные дозы аддитивны, электрофильные промежуточные продукты взаимодействуют с нуклеофильными макромолекулами, мутагенны или метаболизируются в мутагены, воздействуют на генную экспрессию, и в результате происходит индукция ферментов и гиперплазия, характеризуются множеством биологических

эффектов. Инициаторы действуют в малых дозах, а канцерогены — в больших дозах. Для получения эффекта синергизма инициатор должен предшествовать промотору; инициаторы достаточно эффективны в единичной и маленькой экспозиции, их эффекты необратимы, аддитивны даже в подпороговых дозах, электрофильные продукты взаимодействуют с нуклеофильными центрами, мутагенны или метаболизируются в мутагены, не затрагивают экспрессии гена в низких иницирующих дозах, связываются с ДНК и вызывают репарации. Наконец, сами промоторы вызывают небольшое количество опухолей после длительного введения, для синергического эффекта промотор должен действовать после инициатора, необходимо многократное введение. Эффекты обратимы, если интервалы между введениями промоторов велики или если они вводятся в неиницированные клетки (пороговое действие). Они должны быть электрофильными, немутагенными веществами, могут воздействовать на экспрессию генов, отсюда индукция ферментов, гиперплазия, ингибирование созревания, множество биохимических эффектов /52/.

Действительно, изложенные выше характеристики 2,3,7,8-ТХДД свидетельствуют против сколько-нибудь значимой роли этого ксенобиотика на этапе инициации (см. также /138/). Более определены, хотя и в ряде случаев противоречивы, сведения относительно 2,3,7,8-ТХДД как промотора или коканцерогена. Модифицирующие эффекты 2,3,7,8-ТХДД, очевидно, зависят от типа канцерогена, органа-мишени и времени введения 2,3,7,8-ТХДД относительно канцерогена.

Как промотор 2,3,7,8-ТХДД в 100 раз слабее такого промотора, как 12-0-тетрадеcanoилфорбол-12-ацетат (ТРА); в отличие от ТРА, 2,3,7,8-ТХДД не способен ингибировать межклеточные взаимодействия в культуральных клетках С3Н10Т1/2, а воздействие на межклеточные контакты считается основным в механизме промоции опухолевого роста /69/.

Тем не менее 2,3,7,8-ТХДД считается сегодня потенциальным промотором опухолей как у крыс /359/, так и у человека /70/. 2,3,7,8-ТХДД, введенный внутрибрюшинно за 2 дня до подкожной инъекции 3-метилхолантрена, не оказывал какого-либо влияния на возникновение подкожных опухолей у мышей В6С3F1 и Д2, но одновременное введение мышам Д2 2,3,7,8-ТХДД и 3-метилхолантрена

значительно **потенцировали** канцерогенный эффект последнего /304/; 2, 3, 7, 8-ТХДД практически "возвращает" чувствительность мышей Д2 к метилхолантреновому канцерогенезу. Сильным промотором опухолей в печени крыс считают 2, 3, 7, 8-ТХДД Кнутсон и Поланд /306/.

Показано, что мыши линии **HRS/J** являются удобной моделью для изучения канцерогенной активности 2, 3, 7, 8-ТХДД, в первую очередь его свойств как промотора /475/. Поскольку 2, 3, 7, 8-ТХДД не вызывает опухолеобразований в коже мышей с нормальным волосяным покровом (+/+), авторы исследовали 2, 3, 7, 8-ТХДД как промотор у мышей **HRS/J hr/hr** и **hr/+**. Мышам **HRS/J (hr/+)** вводили единичную дозу канцерогена 7, 12-ДМБА и затем дважды в неделю делали кожные аппликации промотора ТРА или 2, 3, 7, 8-ТХДД. У иницированных мышей генотипа **hr/+** после аппликаций ТРА развивались кожные папилломы, а у обработанных 2, 3, 7, 8-ТХДД их не было. Не было опухолей и у мышей, которым вводили либо только 7, 12-ДМБА, либо только ТРА. Напротив, у безволосых (бестимусных) мышей генотипа **hr/hr**, иницированных 7, 12-ДМБА, при аппликации ТРА или 2, 3, 7, 8-ТХДД возникали папилломы. Таким образом, ТРА проявляет себя как промотор у всех исследованных мышей, а 2, 3, 7, 8-ТХДД - только у мышей генотипа **hr/hr** /460/.

Недавно была предложена количественная модель для оценки промоторной активности 2, 3, 7, 8-ТХДД в отношении опухолей печени у экспериментальных животных, позволяющая экстраполировать полученные результаты на человека /591/.

Известны антиканцерогенные свойства 2, 3, 7, 8-ТХДД: ингибирование стадии инициации происходит, только когда 2, 3, 7, 8-ТХДД используют до инициации /550/.

Таблица II

Антиканцерогенные эффекты ПХБ и ПХДД

Галогенированные углеводороды	ПАУ	Эффект
I	2	3
Арохлор I254	7, 12-ДМБА	↓
2, 4, 5, 2', 4', 5'-ГХБ	" "	=
	БП	-
3, 4, 3', 4'-ТХБ	7, 12-ДМБА	↓

I	2	3
2,3,7,8-ТХДД	7,12-ДМБА	+
	3-МХ	+
	БП	+
	БП-диолэпоксид	+
	7-МБА	+
	12-МБА	+
2,7-ДХДД	ДБ(а,н)А	+
	7,12-ДМБА	-

Сокращения: 7,12-ДМБА - 7,12-диметилбенз(а)антрацен;
 7-МБА - 7-метилбенз(а)антрацен;
 12-МБА - 12-метилбенз(а)антрацен;
 ДБ(а,н)А - дибенз(а,н)антрацен.

Как следует из табл. II, составленной по данным /72, 134, 135/, все соединения, относящиеся к индукторам МХ-типа, подавляют канцерогенез, инициируемый различными ПАУ. Исключение составляет изомер ПХБ, относящийся к индукторам ФБ-типа (см. главу 3), а также не обладающий индуцирующей способностью изомер ПХДД.

Авторы связывают ингибирующие эффекты галогенированных ароматических углеводородов на ПАУ-канцерогенез со способностью ПХДД и ПХБ индуцировать в микросомах печени, кожи, почек молекулярную форму монооксигеназы, цитохром Р-450IAI, "катализирующей реакции детоксификации ПАУ и их канцерогенных промежуточных продуктов" /137/. Об этом свидетельствует также совпадение по времени ингибирующих и индуцирующих эффектов 2,3,7,8-ТХДД /135/.

Соглашаясь с тем, что 2,3,7,8-ТХДД вызывает ингибирование канцерогенеза на стадии инициации, можно усомниться в правильности объяснения этого факта в терминах индукции молекулярной формы микросомной монооксигеназы, детоксифицирующей ПАУ, поскольку цитохром Р-450IAI с гораздо большей скоростью и специфичностью ведет реакции метаболической активации проканцерогенов /3/ (см. главу 6). Более адекватно предположение, что клю-

чевым моментом в феномене ингибирования ПАУ-канцерогенеза является специфичное связывание 2,3,7,8-ТХДД с цитоплазматическим Ah-рецептором (см. главу 5), препятствующее взаимодействию с этим же рецептором канцерогенных ПАУ, биологические эффекты которых, в том числе активация на P-450IA1, опосредуются через Ah-рецептор.

Обсуждаются различные механизмы промоторного действия хлорированных феноксикислот и дибензо-*p*-диоксинов. Очевидно, что промоторный эффект 2,3,7,8-ТХДД по своему механизму отличается от такового для фторблмиристат ацетата (ФМА): 2,3,7,8-ТХДД не способен, как ФМА, в суспензии полиморфоядерных лимфоцитов в свободной от кальция среде вызывать образование перекиси водорода и поэтому не оказывает токсического эффекта на клетки /368/.

На основе данных о положительной корреляции пролиферации пероксисом и канцерогенеза /146/ Кавашима и его сотрудники изучили способность хлорфеноксиуксусных кислот индуцировать ферменты пероксисом в печени крыс /278/. Выяснилось, что 2,4,5-Т и в меньшей степени 2,4-Д индуцируют пероксисомное β-окисление. Другим возможным механизмом промоторного действия 2,3,7,8-ТХДД является их способность заметно снижать уровень витамина А в печени и плазме различных животных /592/. Известно, что витамин А подавляет или предотвращает химический канцерогенез у животных и, напротив, дефицит витамина А сопровождается увеличением чувствительности к канцерогенам.

Таким образом, изложенные в данной главе результаты свидетельствуют, что галогенированные, ароматические углеводороды не имеют электрофильных функциональных групп, но, обладая высокой липидорастворимостью, проявляют тенденцию к биоконцентрации в биомембранах. Механизм их действия не включает значительного связывания с ДНК, они не являются мутагенами; обладая промоторными свойствами, они могут расцениваться как эпигенетические канцерогены.

При оценке изложенных выше факторов канцерогенного риска 2,3,7,8-ТХДД можно задаться двумя основными вопросами:

1. Каков оптимальный подход к измерению промоторной эффективности 2,3,7,8-ТХДД как значимого параметра, аналогичного параметру мощности?

2. Является ли современное знание феноменов промоции и ко- канцерогенеза достаточным, чтобы рекомендовать их для оценки специфического канцерогенного риска 2,3,7,8-ТХДД?

4.4. Кожные нарушения

Многочисленные данные, представленные в литературе (см. главы I, 3), со всей очевидностью говорят о кожных нарушениях у людей, подвергавшихся воздействию полигалогенированных ароматических углеводородов. Естественно, что механизм развития хлоракне и других кожных проявлений стал объектом изучения на различных экспериментальных моделях.

Обсуждая симптомокомплекс, отражающий хлоракнегенную активность ПХДД, многие исследователи приходят к заключению, что эта активность коррелирует с общей, системной токсичностью и является наиболее чувствительным маркером острого поражения людей ПХДД; при длительных сроках проявления кожных расстройств, как правило, исчезают /123/. К этим расстройствам относятся прежде всего собственно хлоракне, офтальмологические нарушения, пигментация и изменения порфиринового обмена в организме. Хлоракне чаще наблюдается, помимо человека, у человекообразных приматов, кроликов и бестимусных мышей /291/, у людей и приматов известны также изменения волос.

Замечено, что кожные заболевания - хлоракне и гиперкератоз - напоминают те, которые наблюдаются при дефиците витамина А, уровень которого падает у грызунов и обезьян после их экспозиции к ПХДД /96/. В результате такой экспозиции 2,3,7,8-ТХДД в силу своей гидрофобности перемещается в органы с высоким содержанием липида (жировые ткани и кожа) /165/ (см. главу 2). Концентрация /³H/ 2,3,7,8-ТХДД в коже в 10 раз меньше, чем в печени или жировой ткани. Выяснилось, что безволосые (бестимусные) мыши служат хорошей моделью для экспериментального изучения хлоракне, проявляющегося при накожной аппликации 2,3,7,8-ТХДД, а также при его введении перорально или внутрибрюшинно /480/. Авторы показали, что 2,3,7,8-ТХДД значительно больше в эпидермисе, чем в дермальном слое: его эффект реализуется в виде интерфолликулярной гиперплазии в эпидермисе и в виде гиперкератоза, затем

процесс включает себасеновые железы и завершается гиперкератонизацией внутридермальных эпителиальных цист.

У крыс 2,3,7,8-ТХДД ингибирует процесс сохранения в печени витамина А в течение месяца, затем уровень витамина А возрастает, составляя соответственно 10 и 47% контрольного уровня через 4 и 16 недель после введения 2,3,7,8-ТХДД /208/. У морских свинок, чрезвычайно чувствительных к токсическому влиянию 2,3,7,8-ТХДД (см. раздел 4.1), уровень витамина А в печени через 4 недели составляет лишь 2%, а затем на протяжении 12 недель не поднимается выше уровня 10% от контроля. При этом в течение четырех месяцев у крыс и морских свинок сохраняется повышенный уровень витамина А в плазме крови. В целом крысы в течение месяца частично восстанавливают нарушенный гомеостаз витамина А, а морские свинки не восстанавливают этот гомеостаз даже через 4 месяца.

Эти же авторы изучали распределение ^{14}C / 2,3,7,8-ТХДД между паренхимными и непаренхимными клетками печени и влияние этого распределения на содержание витамина А в клетках /66/. Выяснилось, что время полужизни 2,3,7,8-ТХДД в гепатоцитах составляет 16 дней, а в непаренхимных клетках - 100 дней, а концентрация витамина А в этих клетках - соответственно 0,3 и 36,3 нмоль/ 10^6 клеток. Таким образом, пролонгированный ингибирующий эффект 2,3,7,8-ТХДД на аккумуляцию витамина А в печени можно объяснить регуляторным влиянием ксенобиотика на гепатоциты или прямым его воздействием на непаренхиматозные клетки /209, 210/.

Введение крысам 3,4,3',4'-ТХБ, копланарного стереоизомера 2,3,7,8-ТХДД, сопровождается снижением печеночного уровня витамина А в течение 7 суток, при этом содержание витамина незначительно возрастает в почках /57/. Хотя авторы не обнаружили ингибирующего эффекта некопланарного 2,4,5,2',4',5'-ГХБ, типичного индуктора ФБ-типа, они не связывают ингибирующее воздействие 3,4,3',4'-ТХБ с индукцией монооксигеназных форм P-450IA1 или P-450IA2, а также ретинол-пальмитол гидроксилазной активности, а предполагают неэнзиматическое разрушение запасов витамина А. Другие же авторы считают, что "метаболит" 3,4,3',4'-ТХБ связывается с трансретином (белком, связывающим тироксин), и тем

самым нарушается система, транспортирующая витамин А в плазме крови /96/.

Необходимо учитывать роль витамина А в дифференцировке клеток. Показательно в этой связи, что 2,3,7,8-ТХДД задерживает терминальную дифференцировку и вызывает гибель эпидермальных клеток, как это наблюдается и при дефиците витамина А /209/. Более детальное исследование этого феномена позволило выяснить, что 2,3,7,8-ТХДД подавляет связывание эпидермального фактора роста с культивированными кератоцитами человека, а также нейтрализует эффекты гидрокортизона на дифференцировку /413, 474/.

Известно, что регуляцию роста и дифференцировку кератиноцитов осуществляют дендритные клетки, составляющие 3 - 8% популяции эпидермальных клеток. Показано, что в коже бестимусных мышей число дендритных клеток возрастает после кожного нанесения 2,3,7,8-ТХДД в 3 - 4 раза /478/. Значительные различия выявлены в эффектах 2,3,7,8-ТХДД на эпителиальную/эпидермальную гиперплазию и гиперкератонизацию кожи бестимусных и нормальных мышей. Бестимусные мыши служат сегодня моделью для исследования регуляции эпидермального роста и пролиферации /479/.

Изучены абсорбция и распределение 2,3,7,8-ТХДД у бестимусных мышей /567/, а также локализация этого ксенобиотика в коже бестимусных мышей /480/.

В ряде работ описан порфириногенный эффект хронического введения 2,3,7,8-ТХДД крысам: через 8 месяцев в моче этих животных было выявлено резкое возрастание экскреции порфирина (в 70 раз превышающее контрольный уровень) с преобладанием порфиринов с большим числом карбоксильных групп и отношения уропорфирин/копропорфирин /104/. Накопление порфиринов наблюдалось также в печени, селезенке и почках. В целом порфириногенный эффект 2,3,7,8-ТХДД оказался в 1400 раз более выраженным, чем эффект гексахлорбензола. Такие же явления зарегистрированы и у детенышей птиц, питающихся загрязненной полихлорированными углеводородами рыбой /177/. Авторы предложили механизм развития порфирии, включающий индукцию синтетазы 5-аминолевулиновой кислоты, последующую индукцию монооксигеназ, в частности бензпирен-гидроксилазы, образование реактивных метаболитов, которые иначе

тивируют уропорфиноген-декарбоксилазу, что ведет к накоплению порфирина в печени и других тканях /361/.

Выяснилось, что кровопускание, приводящее к истощению мышечной В6 по железу, сопровождается появлением устойчивости к вызываемой 2,3,7,8-ТХДД порфирии, но не к защите от атрофии тимуса или от хлоракне /562/. В этой же лаборатории показано, что 2,3,7,8-ТХДД вызывает освобождение железа из ферритина, что, кстати, играет роль в токсичности этого ксенобиотика /503/. В частности, возрастает содержание свободного железа в микросомах печени, что ведет к усилению реакций перекисного окисления липидов /37/, которые, так же как и порфирия, предотвращаются введением крысам или мышам антиоксидантов /5/.

Поскольку развитие порфирии, по мнению ряда авторов, связано с индукцией микросомных монооксигеназ в клетках печени, а также ферментов II фазы биотрансформации ксенобиотиков /136/, представляют интерес данные об индуцирующем влиянии ПХДД на содержание цитохром Р-450 ферменты кожи /153/. В лаборатории Джеймса Футса установлено, что клетки себасеновых желез содержат форму цитохрома Р-450, метаболизирующую ЕП, а базальные клетки обеднены монооксигеназами. Идентификацию форм цитохромов Р-450 в печени и в коже проводили с помощью специфичных антител /200/. При воздействии 2,3,7,8-ТХДД обнаружена диссоциация его индуцирующих эффектов в отношении бензпирен-гидроксилазы и орнитин-декарбоксилазы /487/.

Накожное нанесение 2,3,7,8-ТХДД мышам приводит через 24 - 72 час. к восьмикратному возрастанию бензпирен-гидроксилазной активности в микросомах клеток кожи, а скорость 7-этоксикумарин-деэтилирования увеличивается в 4 раза; концентрация цитохрома (пик поглощения СО-восстановленной формы при 448 нм) увеличивается в 8 раз, то есть пропорционально активности бензпирен-гидроксилазы. У этих мышей содержание цитохрома и бензпирен-гидроксилазная активность в клетках печени возрастают соответственно в 1,5 и 3 раза /454/. Показательно, что накожное нанесение типичного индуктора 3-метилхолантрена имеет значительно менее выраженный эффект в клетках кожи и практически не влияет на активность монооксигеназ в печени.

4.5. Влияние на иммунную систему

Влияние длительного воздействия галогенированных производных дибензо-*p*-диоксина на состояние здоровья людей только начинает изучаться, но уже первые результаты свидетельствуют о наибольшей чувствительности иммунной системы к этим ксенобиотикам. Так, результаты медицинского обследования населения штата Миссури (США), проведенного в 1985 г. (после обнаружения высокой концентрации 2,3,7,8-ТХДД в почве), свидетельствуют о понижении реакций клеточного иммунитета и изменении субпопуляционного состава Т-лимфоцитов у 35 - 56% обследованных. Известно, что субпопуляция Т-клеток - "помощников" (Т-хелперы) стимулирует развитие иммунных реакций и отличается поверхностным маркером (Т-4) от субпопуляции Т-супрессоров с поверхностным маркером Т-8; последние осуществляют также цитотоксические функции в организме /149, 238/. Ряд иммунопатологических состояний, имеющих различные клинические проявления, характеризуется снижением соотношения Т-4/Т-8 клеток, оцениваемых с помощью моноклональных антител. Обнаруженное у большинства подвергшихся хроническому воздействию 2,3,7,8-ТХДД снижение соотношения Т-4/Т-8 /149, 238, 498/ можно рассматривать как проявление умеренного иммунодефицита по сравнению с драматическим изменением индекса при СПИДе. Эти результаты в совокупности с данными экспериментальных работ по изучению влияния галогенированных производных дибензо-*p*-диоксина на иммунитет позволили перейти к более детальным исследованиям различных параметров иммунного статуса у обширных контингентов людей /544'.

Объединенный коллектив исследователей из Цинциннати и Атланты сообщает об обследовании 600 человек, у которых оценивали активность естественных киллерных клеток, пролиферативный ответ лимфоцитов на различные антигены и митогены, изучали субпопуляционный состав лимфоцитов и натуральных киллеров (количественное содержание В-лимфоцитов, Т-супрессоров, Т-индукторов, Т-хелперов, активированных Т-лимфоцитов и т.д.), учитывая и суточные ритмы изменения этих показателей. Большинство авторов приходят к выводу, что нарушения функционирования иммунной системы, возникающие под действием 2,3,7,8-ТХДД, у взрослых не являются столь значительными, чтобы вызывать тяжелый иммунодефи-

цит, и не сопровождаются клиническими проявлениями, тогда как наиболее значительное воздействие 2,3,7,8-ТХДД, вероятно, оказывает на развивающуюся иммунную систему новорожденных /239, 612/.

Анализ изменений в выработке макрофагами интерлейкина-1 (ИЛ-1), одного из основных регуляторов иммунного ответа, и в чувствительности к нему Т-лимфоцитов, отвечающих увеличением пролиферативной активности, проведенный у взрослых мышей, эмбрионов и плодов, подвергнутых воздействию ТХДФ, ярко продемонстрировал эту особенность /612/. У взрослых животных при высоких дозах ТХДФ снижалась умеренно и продукция ИЛ-1, и чувствительность к нему Т-лимфоцитов, что, вероятно, обуславливало наблюдаемую у взрослых иммунодепрессию. Напротив, при воздействии ТХДФ на организм матери наблюдалось повышение чувствительности к ИЛ-1 Т-лимфоцитов плодов и новорожденных, причем критическим являлся не эмбриональный, а постнатальный период — от момента рождения и начала созревания иммунной системы. Авторы предполагают также, что этот феномен частично связан с более высокими концентрациями ТХДФ в материнском молоке по сравнению с получаемыми плодом трансплацентарно. Несомненно, что для нормального функционирования иммунной системы необходимо соблюдение оптимальных соотношений продукции регуляторных факторов и чувствительности к ним соответствующих клеток. Таким образом, изменения регуляторной роли ИЛ-1 и, возможно, других регуляторов гемо- и иммунопоза под влиянием таких ксенобиотиков могут приводить к развитию разнообразной иммунопатологии у потомства матерей, подвергнутых хроническому влиянию галогенированных производных дибензо-*p*-диоксина.

Дальнейшие исследования в этом направлении представляют большой интерес. Наблюдения Р. Хонга и др. /78/ показали, что при хроническом воздействии 2,3,7,8-ТХДД на макаков резусов тестируемые изменения субпопуляций Т-лимфоцитов (снижение соотношения Т-4/Т-8) коррелируют с накоплением 2,3,7,8-ТХДД в жировой ткани. Отбор матерей с высоким содержанием 2,3,7,8-ТХДД в жировой ткани и последующее иммунологическое обследование их потомства поможет, вероятно, получить наиболее интересные данн

о самых чувствительных к этим ксенобиотикам этапах иммуногенеза. Интересно, что жировая клетчатка крыс **Wistar** значительно менее выражена, чем жировая клетчатка крыс других линий, и именно они характеризуются повышенной резистентностью к ПХДД /529/. Напротив, у мышей жировая клетчатка, по данным /161/, обладает протективной особенностью. Несомненно, существуют и другие механизмы, обеспечивающие различную чувствительность к ксенобиотикам у животных разных видов или даже у мышей разных линий /516/.

Так, мыши В6, имеющие высокоаффинный Ah-рецептор, являются высокочувствительными к тератогенному и иммунотоксическому действию 2,3,7,8-ТХДД: наиболее чувствительным индикатором токсичности 2,3,7,8-ТХДД является ингибирование антителообразования к эритроцитам барана (ЭБ), измеряемое по числу антителообразующих клеток (зон гемолиза), ED_{50} иммунотоксина для мышей В6 - $2,8 \cdot 10^{-9}$ моль/кг. Мыши Д2 имеют низкоаффинный Ah-рецептор и проявляют меньшую чувствительность к 2,3,7,8-ТХДД /516/. Вместе с тем из всех индукторов бензпирен-гидроксилазы только 2,3,7,8-ТХДД снижает антителообразование /614/. Данный эффект объясняется, вероятно, отсутствием необходимости метаболизма 2,3,7,8-ТХДД для осуществления иммуносупрессии, тогда как другие индукторы, например ЕП, оказывают иммунотоксичный эффект за счет метаболитов.

При пероральном введении ЕП мышам Д2 и В6 наблюдается иная закономерность - иммунодепрессия у мышей Д2 и отсутствие снижения антителообразования у В6. Механизм развития иммунодепрессии в этом случае отличается от существующего в условиях внутрибрюшинного введения /21/. Так, у Д2, в отличие от В6, метаболизм ЕП в печени не происходит, что обуславливает его поступление в костный мозг, где токсические продукты метаболизма оказывают существенное влияние на пролиферацию и дифференцировку гемопоэтических и лимфоидных клеток /387/. В частности, стимуляция эритропоэза и подавление дифференцировки В-лимфоцитов в костном мозге приводят к развитию значительной иммунодепрессии у Д2, но не у В6 /21/. Не исключено, что изменение клеточной пролиферации и дифференцировки в системе гемо-иммунопоэза, вызванное введением 2,3,7,8-ТХДД, также лежит в основе подавления ксенобиотиком гуморального

иммунитета. Однако этот вопрос надо признать совершенно не разработанным. Предположение о возможном влиянии 2,3,7,8-ТХДД на пролиферативно-дифференцировочную активность базируется на предварительных результатах, продемонстрировавших влияние коенобиотика на дифференцировку стволовых гранулоцитарных предшественников и В-лимфоцитов /332/.

Кроме того об этом свидетельствуют и данные, полученные при исследовании влияния 2,3,7,8-ТХДД на содержание клеток Лангерганса в коже безволосых мышей /478, 479/. Клетки Лангерганса - дендритные клетки супрабазальной области эпидермиса, регулируют рост и дифференцировку кератиноцитов. В последние годы стало также известно, что они имеют мезенхимное происхождение, мигрируют в кожу из костного мозга и осуществляют индукцию иммунного ответа типа гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Имунокомпетенция дендритных клеток Лангерганса связана с экспрессированием ими Ia-белков, участвующих в презентировании антигенов, начальном этапе иммунного ответа, осуществляемом в основном макрофагами. Некоторые авторы полагают, что макрофаги, в отличие от Т-клеток, устойчивы к ПХДД, хотя их презентирующая функция специализированно не изучалась /113, 620/. После воздействия 2,3,7,8-ТХДД количество клеток Лангерганса в коже безволосых мышей возрастало в 3 - 4 раза /478, 479/, что, по-видимому, объясняет наблюдаемые в ряде экспериментов гиперплазию и гиперкератинизацию эпидермиса /413/, а также изменения реакций гиперчувствительности замедленного действия, обнаруживаемые при помощи кожных проб у людей, подвергавшихся воздействию ПХДД /544/.

Не исключено, что имеется связь между влиянием ПХДД на эпидермис кожи и на эндотелий тимуса /194/, хотя проявления эффектов разные: гиперплазия эпидермиса кожи /413/ и значительное снижение веса тимуса /334/, атрофия тимуса /620/, снижение числа тимоцитов и Т-лимфоцитов-хелперов, зависящее от дозы и продолжительности воздействия ПХДД /113, 194, 296/.

Вышеназванные эффекты могут быть опосредованы разными механизмами: подавлением связывания эпидермального фактора роста с соответствующим рецептором на клетках в присутствии 2,3,7,8-ТХДД /413/, значительным изменением гормонального фона /355, 453/. Гормональная регуляция основных иммунологических реакций иммуни-

тета исследована многими авторами и обобщена в монографии /2/. Известно, что наибольшую чувствительность иммунокомпетентные клетки проявляют к глюкокортикоидам, способным вызывать лизис клеток, атрофию тимуса и другие эффекты, показанные для ПХДД. Другими иммунорегуляторными гормонами являются андрогены, регулирующие дифференцировку эритроидных клеток и их взаимодействие с иммунокомпетентными В-лимфоцитами /2, 20/.

Токсический эффект ПХДД на эндокринную систему, проявляющийся в снижении продукции тестостерона, адреналовой недостаточности, частично обусловленной снижением 21-гидроксилазной активности, приводящей к снижению уровня кортикостерона /355/, может иметь следствием прогрессивную потерю веса - характерный симптом адреналопатии, а также приводить к развитию иммунодепрессии. Все эти вопросы, несомненно, нуждаются в дальнейшем детальном исследовании, а выдвинутые предположения относительно механизма иммунодепрессии, возникающей под влиянием ПХДД, должны получить более веские экспериментальные подтверждения.

Принципиально важно выяснить, каким образом длительно существующий умеренный иммунодефицит, индуцированный хлорированными феноксисуксусными кислотами, приводит к повышению частоты случаев неходжкинских лимфом и сарком среди фермеров, применяющих эти вещества в качестве гербицидов /430, 639/.

Складывается впечатление, что ПХДД воздействуют на ключевые процессы жизнедеятельности определенных иммунокомпетентных клеток (Т-хелперы, Т-супрессоры, В-лимфоциты, клетки Лангерганса) и их костномозговых кроветворных предшественников, изменяя пролиферативно-дифференцировочную активность этих клеток. Наибольшее воздействие эти ксенобиотики способны оказывать на развивающуюся в постнатальном периоде иммунную систему, механизмы функционирования которой наименее изучены. С другой стороны, различная чувствительность животных к ПХДД, накопление токсикантов в жировой ткани беременных самок, передача индукторов бензпирен-гидроксилазы с молоком и трансплацентарно, - все это обеспечивает широкие возможности моделирования в экспериментальных исследованиях и позволяет надеяться на выяснение не только точек приложения и условий реализации эффекта ПХДД, но и не известных ранее закономерностей функционирования самой системы иммунитета в онтогенезе.

В заключение необходимо поставить на рассмотрение еще не решенные вопросы и проблемы, касающиеся вредных эффектов 2,3,7,8-ТХДД и сходных с ним соединений.

Важно правильно выбрать методологию для экстраполяции экспериментальных данных на оценку здоровья людей (см. главу I). Здесь необходимо учитывать следующие факторы:

- Все подходы к экстраполяции на человека данных, полученных в клеточных культурах или на животных, ограничены в той или иной степени, поскольку нет количественных показателей того, на сколько разные виды отличаются по чувствительности к токсическим эффектам различных классов химических веществ.

- Различные группы специалистов включают преувеличенные факторы для объяснения различной чувствительности видов в попытке перенести "канцерогенные потенции" животных на таковые у человека.

- Иногда считают, что животные и люди одинаково чувствительны, когда на них воздействует один и тот же ксенобиотик при его приеме с пищей или водой, и лишь вес тела может быть весомым фактором, особенно когда токсичность или канцерогенность ксенобиотика зависит от его метаболической активности в организме.

- Иногда в оценку риска включают площадь поверхности тела, где в качестве значимого фактора используют отношение ($M_{чел}/M_{жив.}$) $1/3$ (где M - масса тела).

- В других случаях весомым фактором признаются фармакологические выкладки, в частности уровень 2,3,7,8-ТХДД в печени.

- Риск при воздействии малых доз может варьировать в 40 раз в зависимости от выбора конкретной шкалы доз.

Таким образом, при межвидовой экстраполяции сегодня целесообразно учитывать:

1. Во всех случаях - дневную дозу в расчете на 1 кг массы тела, ppm в диете, дневную дозу в расчете на величину площади поверхности тела, общую дозу.

2. При переносе данных, полученных в опытах на крысах, на человека общая поглощенная доза дает оценку наибольшего риска для человека, а масса тела дает оценку наименьшего риска.

3. В отношении всех других факторов в настоящее время имеются лишь слабые эмпирические доказательства.

Нельзя забывать о ключевых факторах, относящихся к различиям между экспериментальными животными и человеком. Они включают:

- межвидовые различия в продолжительности жизни, размерах тела, генетическом полиморфизме в популяциях;
- фармакокинетические факторы, такие, как абсорбция, метаболизм, экскреция и режим экспозиции (путь введения, дозы, время экспозиции);
- во многих случаях достаточно надежные данные, особенно информация о механизме действия, эффективных дозах в ткани-мишени, отсутствуют.

Полиморфизм в человеческой популяции (межиндивидуальные различия) ярко выражен, чувствительность к химическим факторам окружающей среды обычно различается на 1 - 2 порядка величины.

Глава 5. АНАЛИЗ ЦИТОЗОЛЬНОГО АЬ-РЕЦЕПТОРА - КЛЮЧЕВОГО МЕДИАТОРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДИОКСИНОВ

В 1973 г. группой Алана Полаңда было показано, что 2,3,7,8-ТХДД является самым мощным из когда-либо известных индукторов микросомной бензпирен-гидроксилазной активности в печени /463/. 2,3,7,8-ТХДД и 3-метилхолантрен вызывают "параллельный" дозо-зависимый ответ при индукции печеночной бензпирен-гидроксилазы у крыс, оба соединения имеют одинаковый максимальный индуцирующий эффект, причем одновременное введение максимальных индуцирующих доз 2,3,7,8-ТХДД и 3-метилхолантрена не выявило их аддитивного влияния. Однако уже при первых исследованиях дозовой зависимости оказалось, что 2,3,7,8-ТХДД в 30 000 раз более "потентный" индуктор бензпирен-гидроксилазной активности и цитохрома Р-448, нежели "классический" индуктор 3-метилхолантрен.

Столь сильная способность 2,3,7,8-ТХДД вызывать дозо-зависимую индукцию микросомных монооксигеназ, стереоспецифичность его действия среди сходных галогенированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов /462/, а также тканевая специфичность ферментативной индукции позволили предположить существование специального рецептора - места, с которым связывается индуктор. Авторы полагают, что комплекс "рецептор - индуктор" инициирует цепь последовательных процессов, которые в конечном итоге приводят к экспрессии бензпирен-гидроксилазной активности и образованию цитохрома Р-448.

Уже в следующем, 1974 г., Полаңдом и его сотрудниками были опубликованы результаты работ по введению 2,3,7,8-ТХДД как мышам, генетически чувствительным к индукции бензпирен-гидроксилазы печени индукторами метилхолантренового типа (МХ-типа), так

и мышам, генетически устойчивым к такой индукции. В любом случае такое введение сопровождается увеличением содержания и ферментативной активности так называемого цитохрома P₁-450 (см. главу 4). Это свидетельствует о том, что "устойчивые" к индукторам МХ-типа мыши отвечают, тем не менее, на введение 2,3,7,8-ТХДД и, следовательно, содержат структурный ген, необходимый для экспрессии бензпирен-гидроксилазной активности /470/. Предполагалось, что дефект у генетически устойчивых мышей состоит в утрате способности "распознавать" обычные, менее потентные, чем 2,3,7,8-ТХДД, индукторы МХ-типа; таким образом, можно было говорить о сниженном сродстве "места связывания" к лигандам.

Авторы резонно задались вопросом: если 2,3,7,8-ТХДД и 3-метилхолантрен имеют общий внутриклеточный рецептор, то тогда устойчивые к МХ-индукции мыши должны быть менее чувствительны и к индуцирующему влиянию 2,3,7,8-ТХДД? Действительно, полумаксимальная для индукции бензпирен-гидроксилазы доза 2,3,7,8-ТХДД составляет у мышей чувствительных линий I нмоль/кг, а у мышей устойчивых линий - менее 10 нмоль/кг /465/. Мыши-гибриды первого поколения B6D2F1/J характеризуются "промежуточной" чувствительностью к индуцирующим эффектам 2,3,7,8-ТХДД по сравнению с таковой у устойчивых мышей DB2/2J и чувствительных мышей C57BL/6J, составляющих родительские пары.

В 1976 г. этой группой были представлены первые доказательства существования цитоплазматического рецептора для 2,3,7,8-ТХДД. Согласно известным к тому времени фармакокинетическим данным о 2,3,7,8-ТХДД, этот ксенобиотик преимущественно концентрируется в печени и в меньшей степени в жировой ткани, его время полужизни в организме крыс составляет 3 недели, и он практически не метаболизируется *in vitro* (см. главу 2). Суммируя эти результаты, Поланд и группа ученых /468/ выдвинули и подвергли экспериментальной проверке гипотезу, что дефект рецептора, а именно сниженная его аффинность к лигандам, может определять уровень поглощения 2,3,7,8-ТХДД печеночными клетками. В самом деле, при внутрибрюшинном введении 6 нмоль/кг /¹⁴C/ 2,3,7,8-ТХДД печеночное накопление радиоактивной метки было наибольшим у чувствительных мышей C57BL/6J, промежуточным у гибридов B6D2F1/J и наименьшим у устойчивых к индукции мышей линии DBA/2J.

Эксперименты по связыванию $^3\text{H}/2,3,7,8\text{-ТХДД}$ с печеночным цитозоном *in vitro* выявили небольшой пул высокоаффинных "сайтов", которые обратимо и стереоспецифично связывают $2,3,7,8\text{-ТХДД}$. Равновесная константа диссоциации K_d этого комплекса ТХДД - цитозоль составляет $0,27 \text{ нМ}$, а максимальная связывающая способность $2,3,7,8\text{-ТХДД}$ не превышает величины $84 \text{ моль} \cdot 10^{-15} \text{ мг}$ цитозольного белка. В расчете на 1 г массы печени это составляет приблизительно $8,5 \text{ пмоль}$, или 2 мкг белка-рецептора. Таким образом, в печеночной клетке содержится около $50\,000$ молекул рецептора. С гораздо меньшей аффинностью связывается $2,3,7,8\text{-ТХДД}$ с цитозоном печени мышей $\text{DWA}/2\text{J}$, хотя величину K_d в этом случае установить не удастся из-за ограниченной растворимости лиганда в воде. Были также получены первые свидетельства выраженной корреляции между относительной аффинностью при связывании с цитозоном из печени мышей $\text{C57BL}/6\text{J}$ более чем двадцати галогенированных дибензо-*p*-диоксинов и дибензофуранов и способностью этих ксенобиотиков индуцировать бензпирен-гидроксилазную активность в куриных эмбрионах. Показано также, что типичные индукторы $3,4\text{-бензпирен}$, $5,6\text{-бензофлаворин}$, 3-метилхолантрен и бенз(а)антрацен конкурируют с $^3\text{H}/2,3,7,8\text{-ТХДД}$ за места связывания в печеночном цитозоле, в то время как не являющиеся индукторами бензпирен-гидроксилазы фенобарбитал, прогненолон- 16α -карбонитрил и стероидные гормоны не способны также и связываться с цитозольным рецептором для $2,3,7,8\text{-ТХДД}$.

Кроме того, белковый характер цитоплазматического рецептора был установлен по выраженной чувствительности связывания $2,3,7,8\text{-ТХДД}$ к действию трипсина и крайне незначительной чувствительности его к действию RNазы A и DNазы I . Хроматографией на Сефадексе G-200 была предварительно установлена м.м. рецептора, равная примерно 200 тыс. дальтон /468/.

Характерно, что, если соотношение эффективных индуцирующих доз $2,3,7,8\text{-ТХДД}$ и 3-метилхолантрена у крыс, мышей и зародышей цыплят составляет $1 : 30\,000$, то в фетальных клеточных культурах из цыплят, крыс, кроликов, хомячков и чувствительных мышей $\text{C57BL}/6$ это соотношение определяется в пределах от $1 : 250$ до $1 : 900$ /399/, причем во всех случаях ED_{50} для $2,3,7,8\text{-ТХДД}$ характеризуется выраженным постоянством, варьируя лишь в пределах

величин 0,12 - 1,2 нмоль/л. Таким образом, 3-метилхолантрен выявляет различную индуцирующую активность в системах *in vivo* и *in vitro* вследствие, вероятно, метаболической инактивации *in vivo* микросомными монооксигеназами. Об этом свидетельствует и тот факт, что 3-метилхолантрен и другие ПАУ связываются с цитоплазматическим рецептором для 2,3,7,8-ТХДД с достаточно высоким сродством, составляющим только 1/2 - 1/25 от такового для 2,3,7,8-ТХДД /468/.

В дальнейшем выявление взаимосвязи между потенциальной индуцирующей активностью различных по химической структуре ксенобиотиков МХ-типа и их способностью конкурировать с 2,3,7,8-ТХДД за цитоплазматический рецептор и, следовательно, изучение ключевой роли этого рецепторного белка в механизме индукции бензпирен-гидроксилазы и некоторых других регулируемых Ah-локусом монооксигеназных активностей, а также мутагенных, канцерогенных и тератогенных эффектов ксенобиотиков МХ-типа (см. главу 4) стали доминировать в проблематике работ, опубликованных в 1977 - 1987 гг.

В главе 3 приводятся данные о связывании с цитоплазматическим рецептором различных изомеров полихлорированных бифенилов, где самым активным лигандом определен 3,4,3',4'-ТХБ, имеющий относительно плоскую конфигурацию молекулы и сходное с 2,3,7,8-ТХДД занятие атомами хлора четырех латеральных положений. Вместе с тем полумаксимальная индуцирующая доза 3,4,3',4'-ТХБ превышает таковую для 2,3,7,8-ТХДД в 200 раз. Если фенильные кольца фиксированы в более ригидной и плоской конформации 2,3,6,7-тетрахлорбифенилена, индуцирующий потенциал такого соединения приближается к таковому для 2,3,7,8-ТХДД /466/. В этой связи не оказались случайными данные о том, что именно 2,3,6,7-тетрахлорбифенилен наиболее эффективно конкурирует с 2,3,7,8-ТХДД за точки связывания на рецепторе. Так, если K_d для 2,3,6,7-тетрахлорбифенилена равна 0,34 нМ, то для 3,4,3',4'-ТХБ она составляет 15 нМ.

Анализ линейной регрессии относительной аффинности к рецептору серии 7-замещенных 2,3-дихлородибензо-*p*-диоксинов позволил вывести уравнения /512/:

$$\log P (1/EC_{50}) = 1,24A + 6,1$$

$$(1) \quad (\text{для крыс})$$

$$\log P (1/EC_{50}) = 0,95 + 0,95E_s + 5,28 \quad (2) \text{ (для мышей)}$$

$$\log P (1/EC_{50}) = 0,94 + 0,57\sigma + 6,13 \quad (3) \text{ (для морских свинок)}$$

$$\log P (1/EC_{50}) = 0,70 + 1,227\sigma + 6,38 \quad (4) \text{ (для хомяков),}$$

где: \mathcal{A} - липофильность; E_s - стерическая константа Тафта; σ - электроотрицательность заместителя.

Анализ количественной взаимосвязи между структурой ксенобиотиков и их биологической активностью (QSAR-анализ) свидетельствует о значительных различиях в этих уравнениях. При этом следует учитывать, что уровни содержания рецепторов в клетках печени этих животных сравнимы, хотя они значительно различаются по чувствительности к токсическому действию 2,3,7,8-ТХДД (см. главу 4). Кроме того авторы подчеркивают, что физико-химические факторы, обуславливающие взаимодействие рецептора с лигандом, практически идентичны у наиболее чувствительных (морская свинка) и наиболее устойчивых (хомячки) к 2,3,7,8-ТХДД видов, что свидетельствует об определяющей роли факторов, следующих за начальным этапом лиганд-рецепторного взаимодействия.

Исследование роли галогенов-заместителей в четырех латеральных положениях молекулы дибензофурана в токсических и биологических эффектах этих замещенных выявило последовательность: С-3(7), С-2(8), С-4(6), С-1(9) /Б13/. Характерно, однако, что QSAR-параметры при связывании с цитоплазматическим рецептором отличаются для полихлорированных дибензо-*p*-диоксинов и дибензофуранов; эти отличия могут быть отнесены к асимметричной структуре ПХДФ.

В лаборатории С. Сейфа изучали конкурентное связывание 13 2-замещенных 3,7,8-трихлордibenzo-диоксинов, используя в качестве лиганда цитозольного рецептора печени крыс /³H/ 2,3,7,8-ТХДД /Б17/. Показано, что 2- CF_3 замещенный аналог наиболее активен в этой серии ($pEC_{50} = 8,5$) и характеризуется большей аффинностью к рецептору, чем сам 2,3,7,8-ТХДД. Анализ уравнения линейной регрессии выявил корреляцию величин аффинности и физико-химических характеристик замещенных:

$$pEC_{50} = 7,196 + 0,6\mathcal{A} - 0,255 \Delta E_s + 1,683 \text{ НВ} \quad (5)$$

при $\sigma = 0,099$, $r = 0,998$,

где: π - липофильность; E_s - ван-дер-ваальсов объем; NB - наличие водородной связи.

Характерно, что соединение 2-СF₃-3,7,8-трихлордibenзо-п-диоксин является и наиболее токсичным для крыс аналогом по сравнению с Cl-, Br- или I-замещенными.

Опубликован способ синтеза ³H/ 2,3,7,8-ТХДД с высокой специфичной активностью (57 С1/ммоль). В графиках Скэтчарда показано, что этот радиолиганд обладает лишь ненамного меньшим сродством к рецептору, нежели 2,3,7,8-ТХДД. Однако ³H/ 2,3,7,8-ТХДД легче диссоциирует из комплекса с рецептором, "цепкое" взаимодействие 2,3,7,8-ТХДД с рецепторным белком обуславливает неполное вытеснение радиолиганда и снижает чувствительность метода. Уровни же как неспецифического (13%), так и специфического (6%) связывания ³H/ 2,3,7,8-ТХДД в 2 раза меньше уровня для 2,3,7,8-ТХДД. Таким образом, ³H/ 2,3,7,8-ТХДД является лучшим радиолигандом при *in vitro* оценке цитозольного рецептора /151/. В дальнейшем авторы, работая с несколькими мечеными изомерами ПХДФ, не обнаружили хорошей корреляции между величинами EC₅₀, K_d (в экспериментах по конкурентному связыванию) и биологической активностью этих изомеров *in vitro* (индукция бензепирен-гидроксилазы в клетках крысиной гепатомы Н-4-РЕ) и *in vivo* (потеря у крыс массы тела, атрофия тимуса и индукция микросомных монооксигеназ) /152/.

Показано, что гексахлорбензол в концентрациях до 1,0 мкМ не конкурирует с 0,3 нМ ³H/ 2,3,7,8-ТХДД за точки связывания на цитозольном рецепторе, вместе с тем обнаружено снижение специфичного связывания 2,3,7,8-ТХДД при потреблении крысами гексахлорбензола (3000 ppm) с пищей в течение 7 дней /207/.

Компоненты ацетоновых экстрактов городского воздуха Стокгольма, собранные с фильтров, конкурентно ингибируют связывание ³H/ 2,3,7,8-ТХДД с цитозольным рецептором /596/.

По-видимому, 2,3,7,8-ТХДД взаимодействует с белком-рецептором своей исходной молекулой, поскольку показано более низкое сродство цитозольного рецептора к основному метаболиту этого ксенобиотика у крыс и собак - 2-окси-3,7,8-трихлордibenзо-п-диокси-ну /336/.

Анализируя влияние различных производных индоло(3,2-в)карбазола на специфическое связывание $^3\text{H}/2,3,7,8\text{-ТХДД}$ в цитоплазме гепатоцитов крыс, Гильнер и группа сотрудников /178/ пришли к заключению, что, с учетом ван-дер-ваальсовых радиусов атомов, для эффективного связывания с диоксиновым рецептором оптимальной формой ксенобиотика является прямоугольник со сторонами 6,8 Å x 13,7 Å. Ключевая роль копланарности молекулы лиганда цитозольного рецептора подчеркивается и в работе Льюиса и др. /322/. Авторы обобщили молекулярные размеры (длину, ширину и "толщину" молекул) эффективных, средних и слабых индукторов МХ-типа и нашли, что оптимальным для сильных индукторов является отношение площади молекулы к ее толщине в пределах величин 25 - 35 (для 2,3,7,8-ТХДД это отношение равно 28,4).

Недавно появилось сообщение о синтезе $^{125}\text{I}/2\text{-йодо-}7,8\text{-дигбромодибензо-}p\text{-диокси́на}$, обладающего высокой специфичной радиоактивностью (примерно 2200 $\text{сд}/\text{ммоль}$) и характеризующегося высокой аффинностью при связывании с рецептором (K_d - 16 рМ) /93/. Используя этот радиолиганд, определили в чувствительной системе конкурентного связывания, что в оптимальных условиях (инкубирование при 4°C в течение 16 час.) концентрации 2,3,7,8-ТХДД и рецептора равны соответственно 7,2 рМ и 19 рМ . Определяемая этим способом минимальная концентрация 2,3,7,8-ТХДД составляет 0,8 рд . Новый $^{125}\text{I}/$ радиолиганд позволяет оценивать такие уровни рецептора и лиганда, а также их взаимодействия, какие не были доступны $^3\text{H}/$ -меченым диокси́нам.

Еще более информативен кинетический метод оценки образования и распада лиганд-рецепторного комплекса. Как следует из описанной Лэндерком и сотрудниками /313/ модели, величины $K_{\text{асс}}$ ($3 \cdot 10^{10}$ - $3 \cdot 10^{11}$) на два порядка больше, а величины K_d на два порядка меньше, чем ранее описанные для некинетических моделей. Полученные величины K_d и $K_{\text{асс}}$, по мнению авторов, более соответствуют "плотности" комплекса 2,3,7,8-ТХДД с рецептором, а также длительной персистенции *in vivo* эффектов этого ксенобиотика. Для процесса формирования комплекса определены активационные параметры: $\Delta H = 284 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$, $\Delta S = 86 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{К}^{-1}$; для реакции деградации рецептора: $\Delta H = 286 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$, $\Delta S = 35 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{К}^{-1}$. В предшествующих исследованиях отмечалось, что вы-

своем сродстве рецептора к неполярным лигандам определенных молекулярных размеров, а также активационные параметры образования комплекса находятся в соответствии с "моделью гидрофобного взаимодействия". Известны и другие данные о гидрофобных свойствах цитозольного рецептора, связывающего 2,3,7,8-ТХДД /446/, и о различиях в гидрофобности диоксинового и глюкокортикоидного рецепторов /451/. Кинетические же данные, по заключению Лэндерса и сотрудников, могут быть описаны в рамках другой модели, где несвязанный рецептор претерпевает внутримолекулярный переход в активированное состояние, которое затем либо "улавливается" лигандом, либо обуславливает деградацию рецептора. Согласно этой модели /313/, есть только энтальпия активации, поскольку активированный рецептор затем быстро претерпевает последующие превращения.

Представляют интерес данные о стабильности 2,3,7,8-ТХДД-связывающего Ah-рецептора и о свойствах его молекулы. Последние изучались методами проникающей хроматографии цитозоля печени крыс (/3Н/ 2,3,7,8-ТХДД в качестве радиолиганда) на сефакириле S-300 и скоростном осаждении в градиенте сахарозы /132/. Показано, что в условиях низкой ионной силы (в присутствии 0,1 М KCl) рецептор седиментирует при 8,8 S, имеет радиус Стокса 7,0 нм и кажущуюся относительную м.м. 257 kDa. В условиях высокой ионной силы (0,4 М KCl) Ah-рецептор цитозоля печени крыс диссоциирует до связывающей /3Н/ 2,3,7,8-ТХДД субъединицы, которая осаждается при 5,6 S, характеризуется радиусом Стокса 5,2 нм и имеет кажущуюся м.м. 121 kDa. /451/.

Стабильность Ah-рецептора оценивалась по параметрам связывания /3Н/ 2,3,7,8-ТХДД гель-фильтрацией и ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы /54, 133, 287/. Температурная инактивация несвязанного рецептора следует кинетике первого порядка в интервале от 5 до 40°C (ΔE_a для инактивации примерно 35 ккал/моль), причем в присутствии ингибиторов протеолиза скорость инактивации при 20°C не снижается. Комплекс же "2,3,7,8-ТХДД - рецептор" менее чувствителен к температурной деградации даже в условиях высокой ионной силы. Анализ кривых зависимости от pH среды позволил авторам предположить участие сульфидрильных групп рецептора в связывании 2,3,7,8-ТХДД, о чем свидетельствует

также протективное влияние дитиотрейтола; в меньшей степени такими эффектами обладают глицерин и ЭДТА. CaCl_2 увеличивает стабильность рецептора при 20°C и предотвращает его диссоциацию до субъединицы, седиментирующей при примерно 6S в сахарозных градиентах с высоким содержанием соли. Молибдат также смягчает инактивацию рецептора в присутствии 0,4 M KCl. Кестер и Гасиевич приходят к заключению, что температурная деградация свободного рецептора обусловлена скорее физическими, нежели ферментативными процессами, и в целом выраженное защитное влияние связывания с Ah-рецептором 2,3,7,8-ТХДД предполагает жесткое взаимодействие "лиганд - рецептор", что в свою очередь находит выражение в персистенции 2,3,7,8-ТХДД и силе вызываемых им токсических и биологических эффектов.

Много работ посвящено видовым особенностям цитозольного рецептора для 2,3,7,8-ТХДД и других индукторов монооксигеназ МХ-типа, а также исследованию содержания и свойств Ah-рецептора во внепеченочных тканях. Так, ^3H -2,3,7,8-ТХДД связывается с рецептором в печени мышей инбредных линий - C57BL/6, CBA/6, A/J, C3H/HeJ, C3H/HeN, BALB/C и других чувствительных к МХ-индукции линий, крыс Sprague-Dawley, Wistar, Fisher 344, птиц - Chicken (Gallus), Quail (Coturnix), кроликов - New Zealand White, Flemish Giant, приматов - Rhesus monkey, Cynomolgus monkey, морских свинок, хомяков, овец, кошек, а также в плаценте зародышевой и взрослой печени людей /133/. Рецептор не обнаружен в печени мышат устойчивых к индукции МХ-типа линий - DBA/2, NZB, NZW, AKR; птиц - Turkey (Melagris), Pigeon (Columbia), у лягушек, некоторых рыб, коров. Не ясно, действительно ли речь идет об отсутствии цитозольного рецептора, или же рецепторный белок у этих видов нестабилен даже в средах с низкой ионной силой. Общее количество связывающих мест у исследованных животных и людей варьирует в пределах от 70 до 115 фмоль/мг белка цитоплазмы, а величины K_d - от 0,16 до 0,65 нМ.

Различные уровни Ah-рецептора обнаружены при связывании ^3H -I,6/2,3,7,8-ТХДД в цитоплазме четырех линий *Drosophila melanogaster* /77/, причем, как и в экспериментах с млекопитающими, показано, что само по себе присутствие специфического (высокоаффинного, насыщаемого) Ah-рецептора, а также концентрация

этого рецептора не гарантируют индукции бензпирен-гидроксилазной активности при введении 2, 3, 7, 8-ТХДД или ПАУ.

По аналогии с методом использования гидроксил-апатита при исследовании стероидных рецепторов разработан чувствительный и быстрый способ количественной оценки рецепторов для 2, 3, 7, 8-ТХДД /163/. Наивысший уровень содержания и аффинности к лиганду цитозольных рецепторов показан у крыс *Sprague-Dawley* и у чувствительных к МХ-индукции мышей *C57BL/6*. Лишь крайне незначительное связывание наблюдается у устойчивых мышей *ДВА/2*, а для гибридов *B6D2F1* характерен промежуточный уровень Ah-рецептора; выявлено аддитивное наследование этого признака у инбредных мышей.

Поскольку опосредованные через Ah-рецептор токсические и канцерогенные эффекты 2, 3, 7, 8-ТХДД реализуются в основном во внепеченочных тканях, представляется важным оценить содержание цитозольного рецептора в этих тканях. В лаборатории Эллана Окя доказано, что у чувствительных мышей концентрация Ah-рецептора высока в печени, легких и почках, тимус и тонкая кишка содержат цитозольный рецептор в концентрации, составляющей примерно 25% от его содержания в гепатоцитах. Наконец, Ah-рецептор не определяется в клетках кожи, скелетных мышц, сердца, мозга и яичек, а также в любой ткани мышей, устойчивых к МХ-индукции, - линия *ДВА/2* /341, 405/ (см. табл. 12).

Таблица 12

Содержание цитоплазматического Ah-рецептора в тканях мышей и крыс

Ткань	Концентрация Ah-рецептора (10 ⁻¹⁵ моль/мг цитозольного белка)		
	мыши <i>C57BL/6</i>	мыши <i>ДВА/2</i>	крысы <i>Sprague Dawley</i>
I	2	3	4
Печень	32	0	39
Легкое	23	0	47
Почки	10	0	1
Тонкий кишечник	8	0	15

I	2	3	4
Тимус	8	0	54
Простата	I	0	0
Надпочечник	не опре- деляли	не опре- деляли	0
Сердце, мозг, скелетная мышца, яички	0	0	0

Обращает на себя внимание тот факт, что у крыс содержание Ah-рецептора в тимусе превышает таковое в печени. Поскольку агарифия тимуса является одним из самых чувствительных проявлений воздействия 2,3,7,8-ТХДД (см. главу 4), высокая концентрация в тимоцитах рецептора для этого ксенобиотика симптоматична, особенно в свете данных об очень низком содержании индуцированной бензпирен-гидроксилазы в тимусе. Так, в работе Мейсона и Окея /34I/ указано, что максимальная активность фермента в тимусе составляет менее тысячной доли от активности бензпирен-гидроксилазы в печени. Ранее стали известны данные о высокой концентрации Ah-рецептора в цитозоле тимуса крыс C57BL/6, получавших 2,3,7,8-ТХДД. Карлстед-Дьюк выявил высокую концентрацию рецептора в тимоцитах крыс Sprague-Dawley.

В легких и в тонком кишечнике крыс также содержится значительное количество молекул белка-рецептора, в то время как в клетках простаты и кожи Ah-рецептор не определяется, хотя эти ткани содержат в цитоплазме белковые компоненты (см. далее), которые неспецифически связывают $^3\text{H}/2,3,7,8\text{-ТХДД}/105, 405/$.

Выяснилось, что у мышей уровень мРНК бензпирен-гидроксилазы (цитохрома P₁-450) и содержание Ah-рецептора достаточно выражены в печени плодов еще за неделю до рождения /287/, в то время как у крыс как Ah-рецептор, так и аккумуляция мРНК для бензпирен-гидроксилазы определяются только в постнатальный период /172/. С другой стороны, при сравнении Ah-рецепторов у взрослых крыс и у мышей выяснилось, что у последних не наблюдается связывания ³H/ бенз(а)пирена с белком, седиментирующим при 9S и имеющим радиус Стокса приблизительно 6 нм, который эффективно связывает меченные 2,3,7,8-ТХДД, 3-метилхолантрен и дибенз(а, h)антрацен /408/.

Далее, если Ah-рецептор из печени крыс при коротком воздействии среды с повышенной силой диссоциирует на ³H/ 2,3,7,8-ТХДД-связывающую субъединицу, мышинный Ah-рецептор оказывается устойчивым к воздействию 0,4 М KCl в течение 2 часов /132/. Длительная экспозиция (16 час.) к 0,4 М KCl частично переводит Ah-рецептор цитозоля печени мышей в субъединицу, седиментированную при 4,9 S, имеющую м.м. 105 кДа и радиус Стокса 52 нм. Способность семи различных индукторов МХ-типа к конкуренции с ³H/ 2,3,7,8-ТХДД за рецептор отличается у крыс и мышей. В целом различия в размерах, чувствительности к среде с высокой ионной силой и связывании лигандов свидетельствуют, что крысиные и мышинные Ah-рецепторы хотя и похожи, но не идентичны.

Как упоминалось ранее, у обработанных высокими дозами 2,3,7,8-ТХДД мышей устойчивой линии ДВА/2 наблюдается индукция бензпирен-гидроксилазы в микросомах печени, хотя при этом в цитоплазме не удается выявить Ah-рецептор. Однако в экстрактах из ядер гепатоцитов этих мышей обнаружен комплекс "³H/ 2,3,7,8-ТХДД - рецептор" /341/. Так как до этого было известно, что рецептор появляется в ядре в результате зависимо от температуры переноса из цитоплазмы комплекса "рецептор - лиганд" /406/, авторы заключили, что нет предсуществующих "конститутивных" внутриядерных рецепторов. Таким образом, выделение Ah-рецептора из ядер мышей ДВА/2 предполагает связывание ³H/ 2,3,7,8-ТХДД с цитоплазматическим Ah-рецептором; это, в свою очередь, объясняет феномен индукции бензпирен-гидроксилазы (цитохрома P₁-450) при введении больших доз 2,3,7,8-ТХДД устойчивым к другим МХ-индукторам мышам.

Невозможность определить цитозольный Ah-рецептор у мышей ДВА/2 объясняется, очевидно, нестабильностью образующегося "дефектного" комплекса "рецептор - $^3\text{H}/2,3,7,8\text{-ТХДД}$ ". Действительно, в культивированных гепатомных клетках Ah-рецептор в ядре значительно более термостабилен, нежели цитозольный Ah-рецептор /406/.

В табл. 13 приведены молекулярные свойства цитозольной и ядерной форм Ah-рецептора у мышей, крыс и в мышинной гепатоме /407, 450/.

Таблица 13

Физико-химические характеристики Ah-рецептора
в клетках печени крыс и мышей

Молекулярный параметр	Мыши C57BL/6		Крысы Sprague-Dawley		Клетки Hepa-IcI	
	цитозоль	ядро	цитозоль	ядро	цитозоль	ядро
Коэффициент седиментации (S)	9,6	5,0	7,3	5,7	5,7	6,3
Радиус Стокса (нм)	6,0	3,9	4,4	4,1	не определяли	3,8
Относительная молекулярная масса (M _r , кДа)	250	85	135	100	не определяли	90

Как следует из табл. 13, цитозольный рецептор из гепатомных клеток характеризуется коэффициентом седиментации, не отличающимся значительно от такового для ядерного рецептора. Судя по низкому значению величины S для цитозольного Ah-рецептора, не ясно, претерпевает ли он при инкубации культуры при 37°C "активацию" или молекулярную модификацию. Представленные данные не отрицают эту последнюю возможность, поскольку м.м. ядерной формы Ah-рецептора значительно меньше м.м. цитозольной формы Ah-рецептора.

В ходе исследований на клеточных культурах были вскрыты многие принципиально важные факты, касающиеся свойств и биологической функции Ah-рецептора. Первоначально внимание было сосредоточено на взаимосвязи содержания и связывающей способности рецепторов в клеточных линиях, чувствительных (Нера-I и П-4-П-Е) или устойчивых (НТС и VERO) к индуцирующему действию 2,3,7,8-ТХДД /ЗБ1, 406/.

Таблица 14

Характеристики Ah-рецепторов и бензпирен-гидроксилаз в клеточных линиях, устойчивых и чувствительных к индуцирующему влиянию 2,3,7,8-ТХДД

Клеточная линия	Происхождение линии	Кажущаяся K_d (нм)	Среднее число рецепторов на клетку	ED_{50} для индукции бензпирен-гидроксилазы 2,3,7,8-ТХДД (нм)	Максимально индуцируемая бензпирен-гидроксилазная активность (ед./мг белка)
1	2	3	4	5	6
Н-4-П-Е	крысиная гепатома Reuber	1,58	16 000	0,23	118
Нера-I	мышьячная гепатома	1,02	22 000	0,45	114
VERO	почки обезьяны	2,8	14 000	110,0	0,93
НТС	крысиная гепатома	2,57	15 000	200,0	0,89

Все четыре клеточные линии происходят из органов, монооксигеназные системы которых чувствительны к индуцирующему действию 2,3,7,8-ТХДД или 3-МХ. При этом, однако, в культуре уровни индуцированных бензпирен-гидроксилаз различаются более чем в 100 раз. Как следует из табл. 14, этот феномен не находит объяснения ни в уровнях содержания Ah-рецептора в клетках, ни в сродстве рецептора к 2,3,7,8-ТХДД, хотя, по аналогии, в клетках печени мышей генетически устойчивых линий ДВА/2 и АКР содержание цитозольных рецепторов ничтожно мало.

В культуральных клеточных линиях Нера-1, Н-4-П-Е и НТС помимо большей термоустойчивости ядерного Ah-рецептора выявлена его высокая чувствительность к протеолитическому действию трипсина, но не к ДНКазе I и РНКазе А. Кроме того, показано отсутствие рецептора в ядре контрольных (не обработанных 2,3,7,8-ТХДД) клеток; это еще раз свидетельствует о том, что внутри клеточного ядра Ah-рецептор появляется только в виде комплекса с лигандом, в данном случае в виде комплекса с 2,3,7,8-ТХДД /406/.

В дальнейшем был разработан способ получения искусственных мутантных клонов клеток, характеризующихся либо очень выраженными, либо крайне низкими уровнями Ah-рецептора и индукции бензпирен-гидроксилазы. Генетическими методами и с помощью технологии рекомбинированной ДНК каждая из мутаций получила свое объяснение /385/. Эксперименты по гибридизации соматических клеток, в которых мутантные клоны смешивались (сливались) с "диким" типом клеток Нера-1с1с7, выявили, что образующиеся гибриды в половине случаев обладают бензпирен-гидроксилазной активностью "дикого" типа; вид наследования этого признака был определен как аддитивный.

Установлено, что мутанты в комплементарной группе В содержат значительно и в равной степени сниженный уровень Ah-рецептора в цитоплазме и ядре. Таким образом, мутанты группы В не дефективны в переносе рецептора в ядро, они "удерживают" низкий уровень индуцированной бензпирен-гидроксилазной активности, что свидетельствует против версии о полном отсутствии у мутантов группы В цитозольного рецептора. Мутанты группы С содержат нормальное количество цитозольных рецепторов, но в ядре - очень низкое. Эти результаты дают основание предполагать, что мутантные гены групп В и С могут кодировать структурные компоненты Ah-рецептора; возможно, что рецептор является гетеродимером или гетерополимером. Вполне вероятно, что клоны групп В и С не несут мутаций в гене Ah-рецептора: мутанты группы В, к примеру, могут быть дефектны по белку, необходимому для посттрансляционной модификации рецептора; мутанты группы С, в свою очередь, - по бел-

ку, необходимому для высокоаффинного связывания комплекса "рецептор - лиганд" с хроматином /365/.

Ниберт и группа ученых использовали зонд, представляющий 3-концевой фрагмент сДНК мышиноного цитохрома P₁-450, для анализа уровня P₁-450 мРНК в "диком" типе клеток Нера IcIc7 и в соответствующих мутантах. Обработка клеточных культур 2,3,7,8-ТХДД вызывает 50-кратное увеличение содержания P₁-450 мРНК "дикого" типа. Как выяснилось, мутанты группы С содержат не определяемое экспериментально количество мРНК после индукции 2,3,7,8-ТХДД, в то время как мутанты группы В содержат сниженный уровень мРНК, равный снижению в этих клетках уровню бензпирен-гидроксилазной активности. Приведенные результаты подтверждают выдвинутое авторами ранее положение /603/, что концентрация P₁-450 мРНК является функцией содержания в ядре перенесенного из цитоплазмы комплекса "рецептор - индуктор". Кроме перечисленных выявлены мутанты группы А, несущие мутации в структурном гене цитохрома P₁-450 (бензпирен-гидроксилазы).

Используя токсичность 3,4-бензпирена в клетках с высокой специфичной активностью и токсичность облученного ультрафиолетовым светом I, I2-бензоперилена в дефицитных по бензпирен-гидроксилазе клетках, удалось изолировать клетки - "обратные ревертаны" - из клонов "дикого" типа и каждого из трех групп мутантов. Один из ревертантов мутантной группы С содержал очень высокую базальную бензпирен-гидроксилазную активность в клетках "дикого" типа, обработка этих клеток 2,3,7,8-ТХДД не привела к дальнейшему увеличению активности фермента /385/.

Обобщая изложенные выше факты, можно представить процесс индукции бензпирен-гидроксилазы ксенобиотиками типа 2,3,7,8-ТХДД в виде последующих этапов: 1) высокоаффинное связывание специфического лиганда с Ah-рецептором в цитоплазме; 2) зависимый от температуры перенос активированного комплекса "рецептор - индуктор" в ядро; 3) связывание этого комплекса с компонентами хроматина; 4) транскрипционная активация специфичных генов; 5) максимальное увеличение внутри ядра высокомолекулярного предшественника мРНК и, через несколько часов, максимальное возрастание уровня цитоплазматической мРНК; 6) трансляция мРНК на мембраносвязанных полисомах; 7) увеличение содержания мембраносвязанных белков

(цитохромов семейства P-450I) и катализируемых этими цитохромами монооксигеназных реакций. В этой главе приведены данные по этапам 1, 2, частично 5 и 7. Результаты, касающиеся других этапов процесса индукции (диоксинового типа), приведены в главе 6, а данные об опосредованных Ah-рецептором токсических эффектах 2, 3, 7, 8-ТХДД, полихлорированных бифенилов и дибензофуранов, а также ПАУ - в главах 3 и 4.

Внутриклеточный растворимый белок, Ah-рецептор, является медиатором всех биологических эффектов 2, 3, 7, 8-ТХДД в организме; об индукции цитохромов семейства P-450A говорилось в этой главе, в других речь идет, например, о таких эффектах, как инволюция тимуса и общее истощение лимфоидной ткани. Это, в свою очередь, напоминает эффекты действия глюкокортикоидов. В пользу такого сравнения свидетельствует то, что стероидные гормоны в механизме своего действия имеют этапы связывания с растворимым рецепторным белком и ассоциации с промоторными (усиливающими) элементами специфичных генов, вызывая тем самым активацию транскрипции /447/.

В настоящее время имеются данные о структурном и функциональном сходстве глюкокортикоидного и диоксинового рецепторов /340, 448, 449, 452/. Так, оба белка, будучи связанными с соответствующими лигандами, в условиях высокой ионной силы седиментируют при 4 - 5 S, характеризуются Стоксовским радиусом около 6 нм и молекулярной массой мономера примерно 90 - 110 кДа. При обработке молибдатом натрия образуются стехиометрически хорошо выраженные большие молекулярные комплексы как рецептора для 2, 3, 7, 8-ТХДД, так и "неактивированного" глюкокортикоидного рецептора. Стабилизированные молибдатом формы рецептора характеризуются: $V_{20,w} = 9 - 10 S$; $R_s = 7,5 - 8,5$ нм и $M_r = 290 - 300$ кДа. Показано, что эта большая олигомерная форма глюкокортикоидного рецептора присутствует *in vivo* и что активация этой формы включает диссоциацию белка. В денатурирующих условиях обе формы рецептора иммунохимически неразличимы /631/. Оба рецептора представляют собой кислые белки с изоэлектрической точкой около 5,8 - 6,0 и имеют выраженную асимметричную форму молекулы. Олигомерная форма диоксинового и глюкокортикоидного рецепторов не связывается с ДНК в отличие от мономерной формы с $M_r = 100$ кДа /340/.

Установлено, что при связывании мономерной формы с лигандом диоксиновый рецептор из низкоаффинного белка превращается в высокоаффинный в отношении ДНК *in vitro*. Независимо от присутствия лигандов оба рецептора одинаково ведут себя при хроматографии на ДНК-целлюлозе или гепарин-сефарозе. После мягкого протеслиза диоксиновый рецептор теряет способность связываться с ДНК-целлюлозой и с гепарин-сефарозой связывается лишь слабо. Таким образом, по связыванию диоксинового рецептора с ДНК и гепарином можно предполагать наличие различных функциональных доменов в его молекуле. В целом структурные и функциональные свойства диоксинового и глюкокортикоидного рецепторов свидетельствуют, что они являются схожими генными продуктами /452/. Пэллинджер и сотрудники в 1986 г. предположили, что по аналогии с гормональным рецептором комплекс "рецептор - 2,3,7,8-ТХДД" осуществляет регуляторную функцию путем взаимодействия с контролируемыми элементами фланкирующего 5'-концевого участка структурного гена, экспрессирующего цитохром P-450IA1 (бензпирен-гидроксилазу). Эти усиливающие элементы увеличивают уровень транскрипции смежного с промотором гена вне зависимости от позиции усиливающего участка и его ориентации к промотору. Примечательно, что в этом же году были приведены экспериментальные свидетельства в пользу этого предположения /265, 395/ (см. главу 6).

Вместе с тем необходимо принимать во внимание, что стероидные гормоны не конкурируют с ³H/2,3,7,8-ТХДД за Ah-рецептор, который, как полагают, не имеет лигандов для гормонов. Более того, моноклональные антитела к глюкокортикоидному рецептору не выявляют кросс-реакции с диоксиновым рецептором. В этой связи остается открытым вопрос, существует ли эндогенный лиганд для Ah-рецептора /45/? Недавно появилось сообщение, что 2,3,7,8-ТХДД значительно подавляет в печени крыс связывание дексаметазона с глюкокортикоидным рецептором, хотя снижение концентрации этого цитозольного белка иммунохимически не выявляется /463/. Поскольку адrenaлэктомированные крысы значительно более чувствительны к индуцирующему действию 2,3,7,8-ТХДД на бензпирен-гидроксилазу, можно сделать предположение о регуливающей роли стероидных гормонов в биологической активности 2,3,7,8-ТХДД.

Существующие взгляды на роль Ah-рецепторов в индукции ксенобиотиками типа 2,3,7,8-ТХДД микросомных цитохромов семейства P-450I (см. также главу 6) предусматривают также, что в регуляции индукции принимают участие и другие факторы. Об этом свидетельствуют, например, данные о расхождении во внепеченочных тканях крыс, кроликов, мышей и морских свинок уровня Ah-рецептора (и даже его переноса вместе с лигандом в ядро) и индукции бензпирен-гидроксилазы /655/. Одним из возможных объяснений этому и другим фактам, было допущение о существовании других, отличных от Ah-рецептора, белков, связывающих индукторы МХ-типа.

Претендовавшие ранее на эту роль цитозольные белки лигандин (позднее идентифицированный как глутатион-S-трансфераза) и h-белок - основные белки с м.м. 45 кДа (показано ковалентное связывание МХ с h-белком) - сегодня уже не рассматриваются специалистами /494/. Вместе с тем выявлено высокоаффинное специфичное связывание МХ в цитоплазме, возрастающее при предварительном введении животным этого ПАУ. Показано, что до 80% всей дозы МХ связывается с цитозолем, причем почти половина связавшегося индуктора оказывается затем в ядре; перенос комплекса "рецептор - лиганд" требует температурной активации /495/. При хроматографии связывающего МХ белка (пик В) на Сефадексе S-200 авторы установили, что его концентрация равна $770 \cdot 10^{-15}$ моль/мг цитозольного белка, K_d - 2,8 нМ, коэффициент седиментации - 4,2S, м.м. - 44,6 кДа.

Изучая связывание ^3H /2,3,7,8-ТХДД и ^3H /МХ в цитозоле печени мышей различных инбредных линий, Ниберт с группой коллег /212/ выяснили, что у чувствительных к индукции бензпирен-гидроксилаз мышей СВ7BL/6 и гетерозиготных гибридов В6D2F1 оба радиолиганда связываются с тремя главными компонентами цитоплазмы (при хроматографии на Сефакриле S-300): пик I элюируется в свободном объеме и представляет собой большой агрегат, седиментирующий на дне сахарозного градиента в препаратах мышей любой линии; пик II обладает всеми свойствами Ah-рецептора, в том числе он не определяется в печени устойчивых к индукции мышей ДВА/2 (см. выше); пик III в равной степени представлен у мышей чувствительной и устойчивой линий, седиментирует при 5S, не насыщается при связывании 2,3,7,8-ТХДД и МХ, хотя связывает МХ в большей

степени, нежели 2,3,7,8-ТХДД. Авторы заключили, что белок-рецептор для МХ аналогичен белку в пике В, выявленному ранее /595/. Число связывающих мест в пике Ш в 100 раз больше, чем в пике II; он не сегрегирует при обработке трипсином, хотя разрушается при длительном воздействии проназы; белок в пике Ш представляет собой более симметричную молекулу (отношение длины к ширине составляет 1,2), нежели Аh-рецептор, в котором отношение длины молекулы к ширине равно 1,6.

Показано, что БП, дибенз (а,в) антрацен и МХ, помимо Аh-рецептора, связываются в цитоплазме печени мышей и крыс с белком в пике Ш /408/. Авторы подтвердили полученные в других лабораториях данные об отличном от Аh-рецептора цитозольном белке, связывающем ПАУ, установили, что 100-кратный избыток 2,3,7,8-ТХДД не вытесняет ПАУ из комплекса с рецептором, но в заключение неожиданно предположили, что 48-белок не является рецептором, участвующим в индукции бензпирен-гидроксилазы.

В лаборатории Эдварда Брезника было проведено выделение специфических к МХ связывающих белков из цитоплазмы печени крыс /242, 594/. Для 48-белка показано стереохимическое связывание и с ПАУ, состоящими из 4 - 5 бензольных колец. Связывание ^3H /ВА с 48-белком увеличивается, если крысам предварительно вводить фенобарбитал или изосафрол, но не 3-МХ. Этот белок характеризуется слабым сродством к 2,3,7,8-ТХДД и 2,3,7,8-ТХДФ. Добавление молибдата натрия не изменяет седиментационных свойств и связывающей активности 48-белка. Таким образом, этот рецепторный белок не является субъединицей Аh-рецептора (88-белка). В отличие от авторов /408/, исследователи заключили, что 48-белок регулирует индуцируемую ПАУ экспрессию бензпирен-гидроксилазной активности.

При использовании I-окси-МХ в качестве лиганда эпокси-активированной сефарозы 6В аффинной хроматографией с последующей двойной гель-фильтрацией удалось получить 48-белок в гомогенном состоянии /54/. С помощью техники фотоаффинного мечения, ранее использовавшейся для характеристики стероидных рецепторов, установлена выраженная способность этого белка специфично связывать МХ.

Изучено межтканевое распределение 4S-белка у крыс, мышей, кроликов, хомячков и морских свинок с целью выявления возможной взаимосвязи между уровнем белка-рецептора и индуцибельностью бензпирен-гидроксилазы в этих тканях /655/. 4S-белок обнаружен в печени и во внепеченочных тканях кроликов и в печени всех остальных животных, исключая морских свинок. Данные, полученные в опытах на кроликах, когда индукция бензпирен-гидроксилазы наблюдалась не во всех органах, свидетельствуют, что 4S-рецептор не является тканеспецифичным белком.

Сравнительно недавно были представлены результаты экспериментов по разделению трех связывающих компонентов цитоплазмы крыс и мышей в градиенте плотности сахарозы, причем центрифугирование проводили в вертикальном роторе /320/. При этом, помимо Ah-рецептора и 4S-белка, был выделен третий компонент на седиментирующем сахарозном градиенте; при хроматографии на колонке с Сефакрилем В-300 этот компонент выходил в свободном объеме. Этот большой комплекс, устойчивый к протеазам и нуклеазам, разделялся на субкомпоненты при обработке протеиназой К и фосфолипазами. Только фосфолипазы были способны предотвращать связывание этого компонента низкой плотности с ^3H -2,3,7,8-ТХДД. Таким образом, возможно, что фосфолипиды являются истинными "связывающими" этого радиолиганда. В витральных условиях данный липопротеин необратимо связывает многие гидрофобные радиолиганды, включая 2,3,7,8-ТХДД. Основная часть компонента низкой плотности была охарактеризована как липопротеин очень низкой плотности, а минорная - как липопротеин низкой плотности. Предполагается, что функциональная роль липопротеинов состоит в транспортировке 2,3,7,8-ТХДД и ПАУ в клетку /320/.

Глава 6. ИНДУЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ ДИОКСИНОВ НА ФЕРМЕНТЫ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ КАНЦЕРОГЕНОВ

6.1. Индукция монооксигеназ и ферментов II фазы биотрансформации ксенобиотиков

Об индуцирующем влиянии галогенированных ароматических углеводородов на содержащую цитохром Р-450 монооксигеназную систему организма и о взаимосвязи индукции монооксигеназ с биологическими эффектами ПХДД, ПХДФ, ПХБ и сходных ксенобиотиков говорится в десятках работ, начиная с первого исследования Райзбро /491/. Феномен индукции монооксигеназ ксенобиотиками диоксинового (или, по старой классификации, метилхолантренового) типа в биохимических терминах с достаточной полнотой описан в предшествующих обзорах и монографиях /3, II, I7, 553/.

Кратко характеризуя монооксигеназную ферментную систему, обнаруженную во всех ядросодержащих клетках организма, можно сказать, что она ответственна за биотрансформацию сотен чужеродных неполярных химических соединений (ксенобиотиков) и ряда важнейших для жизнедеятельности эндогенных соединений - стероидных гормонов, жирных и желчных кислот, простагландинов и др. Локализованная в эндоплазматических мембранах (об особенностях функционирования монооксигеназ как мембраносвязанных ферментов см.

с. 5 - 7), она представляет собой полиферментный комплекс, состоящий из НАДФН-зависимой цепи транспорта электронов и терминального компонента - цитохрома Р-450, осуществляющего связывание ксенобиотиков с образованием фермент-субстратного комплекса и активацию кислорода в реакциях монооксигеназного типа с выходом гидроксильированного продукта и воды. В результате био-

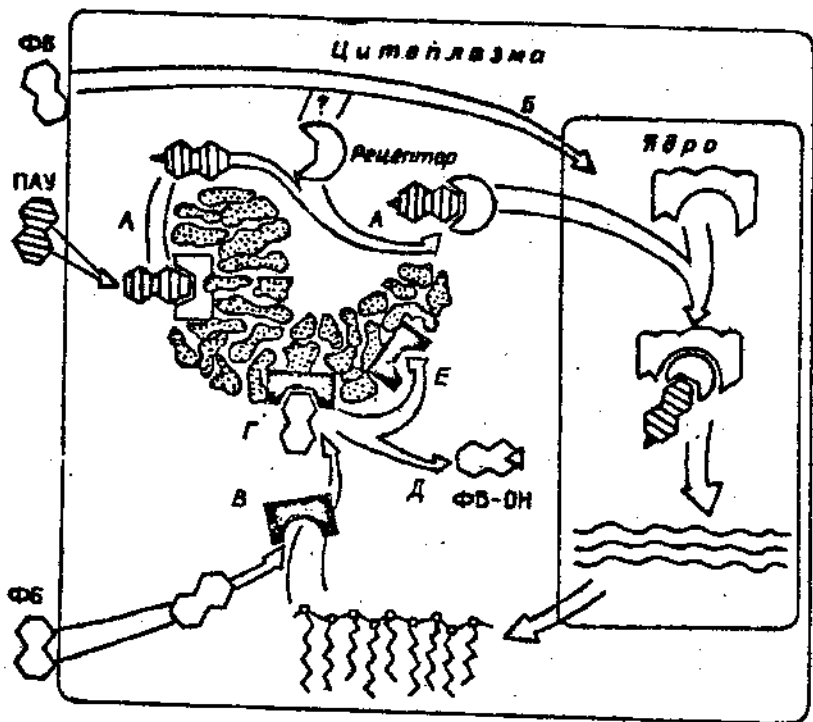


Рис. 3. Модель, иллюстрирующая участие негенетических факторов регуляции индукции ксенобиотиками микросомных монооксигеназных систем.

Условные обозначения:

ФБ—индуктор фенобарбиталового типа; ФБ—ОН — гидроксигированный продукт фенобарбитала; ПАУ — индуктор, относящийся к полициклическим ароматическим углеводородам; А — механизм действия индукторов ПАУ. Б — механизм действия индукторов ФБ-типа (воздействие индуктора непосредственно на генетический аппарат клетки); В—Е — действие ФБ-индуктора на вновь синтезированный фермент в процессе деформирования активного центра последнего.

трансформации монооксигеназами ксенобиотики либо детоксифицируются, то есть превращаются в более полярные продукты и выводятся из организма, либо претерпевают метаболическую активацию в электрофильные метаболиты, которые взаимодействуют с ключевыми внутриклеточными макромолекулами (нуклеиновыми кислотами, белками), что связывают с возникновением мутагенных, токсических, тератогенных и канцерогенных эффектов ксенобиотиков /432/.

Показано, что в основе явлений детоксификации и активации ксенобиотиков лежит обратимое увеличение ферментативной активности и содержания цитохрома P-450, инициируемое обладающими индуцирующими свойствами чужеродными соединениями, общее число которых достигает сегодня 300 /3, 10, 11/.

Индукция ферментных систем метаболизма ксенобиотиков - область биологии, изобилующая фактами и гипотезами. Понимание механизмов индукции и выявление регулирующих ее факторов связаны с решением таких важных проблем, как активация и детоксификация химических канцерогенов, синергизм и антагонизм действия лекарств, профзаболевания, генетические болезни, дефекты развития, токсикология, экология. Кроме того, индукция представляет собой "фундаментальную проблему в молекулярной биологии, поскольку важна для понимания регуляции экспрессии генов в отношении ферментов клеток эукариот" /169, 385a/.

Уже в ранних исследованиях удалось выделить две основные, принципиально различные по своим проявлениям, группы ксенобиотиков-индукторов. Вещества первой группы, в основном лекарственные средства, например фенобарбитал (ФБ), увеличивают в печени содержание цитохрома P-450 и скорость окислительных превращений практически всех ксенобиотиков и эндогенных субстратов. Относящиеся к другой группе индукторов ПАУ, ПХДД, ПХДФ вызывают в различных тканях появление цитохрома, характеризующегося большей специфичностью ферментативного действия. В дальнейшем эти наблюдения получили развитие в многочисленных работах, посвященных сравнению кинетических параметров, спектральных и иммунохимических свойств микросомных монооксигеназ, преиндуцированных ФБ или ПХДД, по принятой на сегодня терминологии - веществами ФБ- или диоксинового типа. Подтверждением вывода о биосинтезе в микросомах разных

форм цитохрома Р-450 послужили ранние данные радиологического, электрофоретического и ингибиторного анализа /530/.

На рис. 3 представлена разработанная и экспериментально доказанная нами модель, иллюстрирующая, что в механизме ФБ-индукции биосинтез монооксигеназ осуществляется исходной молекулой индуктора, а ПАУ индуцируют ферменты активации промутагенов и проканцерогенов своими микросомными метаболитами и через посредство цитоплазматического белка-рецептора /IO, II/.

Еще до изложения данных по молекулярной биологии индукции монооксигеназ 2,3,7,8-ТХДД и сходными с ним соединениями, до детального обсуждения роли Ah-рецептора в проявлении всех известных биологических эффектов 2,3,7,8-ТХДД (см. главу 5) можно было бы сказать, что 2,3,7,8-ТХДД полностью не "вписывается" ни в одну из известных схем индукции монооксигеназ, поскольку, с одной стороны, он связывается с Ah-рецептором и свое активирующее действие на транскрипцию структурных генов цитохромов семейства Р-450I реализует в комплексе с Ah-рецептором /39, 265/, а с другой стороны, до сих пор имеются сомнения в метаболических превращениях 2,3,7,8-ТХДД микросомными монооксигеназами и данные об эффективном взаимодействии его метаболитов с Ah-рецептором отсутствуют (см. главу 5).

В главе об индуцирующем влиянии ПХДД, ПХДФ и их аналогов на монооксигеназы и конъюгирующие ферменты II фазы биотрансформации ксенобиотиков мы ограничимся лишь схематичным (иногда табличным) изложением весьма многочисленных фактов, чтобы (учитывая важные для рассматриваемых проблем материалы главы 5 о свойствах цитоплазматического Ah-рецептора для 2,3,7,8-ТХДД) не нарушать принципа пропорционального освещения различных аспектов проблемы биологических эффектов ксенобиотиков диоксинового ряда.

В дополнение к данным главы 3 о полихлорированных бифенилах как индукторах монооксигеназных систем приводим краткие свидетельства об индуцирующем влиянии:

- коммерческих смесей полихлорированных бифенилов в печени крыс /75, 102, 143, 206, 218, 288, 323, 377, 416, 611, 651/, в почках крыс /352, 611/, в легких крыс /611/, в коже крыс /76/, в крысиной плаценте /45/, в молочных железах крыс /352/, в зародышевой и неонатальной печени крыс /45, 261, 336/, в культивиро-

ванных гепатоцитах крыс /34/, в культивированных крысиных гепатомах /520/, в печени мышей /29, 46, 497/, в печени кроликов /46, 616/, в почках кроликов /46/, в печени перепелов /98/, в печени форели /25, 154, 169/, у насекомых /48/;

- чистых изомеров и гомологов ПХВ в печени крыс /18, 144, 186, 187, 263, 419, 421, 425, 466/, в культивированных гепатомах крыс /520/, в печени мышей /32, 423, 466/, в эмбриональной печени цыплят /466/;

- 2,3,7,8-ТХДД в печени крыс /19, 27, 62, 118, 196, 231, 295, 326, 329, 411, 464, 505, 541, 600, 653/, в почках крыс /35, 73, 241, 464/, в легких крыс /35, 73, 464/, в кишечнике крыс /464/, в надпочечниках крыс /73/, в крысиной плаценте /73/, в зародышевой печени крыс /73, 328/, в зародышевых легких, почках и коже крыс /73/, в постнатальной печени крыс /328/, в культивированных гепатоцитах крыс /560/, в культивированных гепатомах /92, 252, 385а, 512/, в печени мышей /107, 151, 383, 464, 467, 470/, в мышинных гепатомах /211, 252, 266, 275а/, в мышинных фибробластах /237/, в печени кроликов /486/, в почках кроликов /241, 319/, в легких кроликов /319/, в печени и почках морских свинок /241/, в печени хомячков /162/;

- хлорированных дибензофуранов в печени крыс /27, 142, 288, 334, 649/, в печени мышей и эмбрионов цыплят /468, 469/.

Поскольку судьба электрофильных метаболитов ксенобиотиков, активированных индуцированными монооксигеназами, в большей степени зависит от активности ферментов II фазы биотрансформации, во всех случаях играющих роль ферментов детоксификации, приводим данные о влиянии токсических смесей и изомеров галогенированных ароматических углеводородов на эти энзимы.

Как следует из табл. 15, данные ксенобиотики индуцируют активность эпоксид-гидразы и глутатион-S-трансферазы, но в целом индуцирующие эффекты на эти ферменты ниже, чем на монооксигеназы. Обращает на себя внимание нетривиальный факт, что 2,3,7,8-ТХДД не индуцирует эпоксид-гидразу печени. Вкупе с выраженной индукцией этим ксенобиотиком цитохрома P-450IA1, катализирующего реакции эпоксидирования ПАУ, этот факт, по нашему мнению, может объяснить механизм промоторного действия 2,3,7,8-ТХДД в химическом канцерогенезе при введении животным ПАУ (см. главу 4).

Влияние галогенированных ароматических углеводородов
на микросомные монооксигеназы, эпоксид-гидразу
и глутатион-S-трансферазу

Соединение	Вид животного и ткань	Фермент "II фазы"	% от контроля	Монооксигеназы (% от контроля)	Источник информации
I	2	3	4	5	6
Гексахлорбензол	крыса, печень	ЭГ ГТ	133 109	БПГ (159) ЭОКД (214)	/30/
Клофен А50	"-	"-	220 140	БПГ (280) ПНАД (600)	/427/
"-	мышь, печень	"-	170 170	БПГ (250) ЭОКД (540)	/29/
3,4,3',4'-ТХБ	крыса, печень	ГТ	180	АГ (230) ПНАД (260)	/144/
"-	мышь, печень	ЭГ	141	БПГ (219) ЭОКД (170)	/30/ /32/
"-	"-	ГТ	91	"-	/32/
Огнетушительная смесь ВР-6	крыса, печень	ЭГ	342	БПГ (433)	/427/
3,4,5,3',4',5'-ГХВ	"-	"-	88	P-448 (259)	/301/
3,4,5,3',4',5'-ГББ	"-	"-	91	БПГ (807)	/126/
2,3,7,8-ТХДД	"-	"-	111	БПГ (940)	/73/
"-	"-	"-	126	"- (276)	/35/
"-	"-	ГТ	105	"-	"-
"-	"-	"-	"-	БПГ	/136/
"-	крыса, почка	ЭГ	97	БПГ (6040)	/35/
"-	"-	ГТ	103	"-	/35/
"-	крыса, легкое	ЭГ	260	БПГ (307)	/73/

1	2	3	4	5	6
2,3,7,8- ТХДД	крыса, легкое	ЭГ	135	БПГ (662)	/35/
"	крыса, кишечник	ЭГ ГТ	102 108	БПГ (153)	/35/
2,3,7,8- ТХДД	крыса, яички	ЭГ ГТ	106 90	БПГ (103) "-	/35/
"	крыса, пла- цента	ЭГ	52	БПГ (260)	/73/
"	крыса, зароды- шевая печень	ЭГ	106	БПГ (5990)	/73/
"	крыса, зароды- шевая почка	"	106	БПГ (900)	/73/
"	крыса, зароды- шевое легкое	"	285	БПГ (2110)	/73/
"	крыса, зароды- шевая кожа	"	262	БПГ (330)	/73/
"	крыса, кожа	"	"	"	/136/

Обозначения: ЭГ - эпоксид-гидраза; ГТ - глутатион-S-трансфераза; БПГ - бензпирен-гидроксилаза; ЭОКД - 7-этоксикумарин-0-деэтилаза; ПНАД - паранитроанизол-демети-лаза; АГ - анилин-гидроксилаза.

В табл. 16 приведены данные о влиянии 2,3,7,8-ТХДД на активность микросомной УДФ-глюкуронилтрансферазы.

Эффекты 2,3,7,8-ТХДД на микросомные ферменты УДФ
глюкуронилтрансферазу и монооксигеназы

Субстрат УДФ-ГТ	Вид, ткань	Активация фермента	% от конт- роля	Моноокси- геназы (% от конт- роля)	Ис- точ- ник
1	2	3	4	5	6
I-нафтол	крыса, печень	-	600		/327/
"	"	Брай-58	285		/625/
4-метил-ум- беллиферон	"		690		/327/
"	"		670	БПГ (280)	/35/
"	"	дигитонин	370		/35/
"	"	трипсин	380		/35/
"	"	фосфолипаза А	230		/35/
"	крыса, почки		140	БПГ (6000)	/35/
"	крыса, легкие		140	БПГ (660)	/35/
"	крыса, кишечник		100	БПГ (150)	/35/
"	крыса, яички		100	БПГ (100)	/35/
"	мышь, печень	Тритон X-100	350	БПГ (1100)	/414/
"	"	дигитонин	200	БПГ (500)	/32/
2-амино- фенол	крыса, печень	"	840		/36/
"	крыса, почки	"	180		/36/

Продолжение табл. 16

1	2	3	4	5	6
2-амино- фенол	мышь, печень	дигитонин	200	БПГ (500)	/32/
4-нитро- фенол	крыса, печень		640		/327/
"	"	тритон Х-100	510	Б2(1300) Б4(170)	/241/
"	"	дигитонин	1400		/36/
"	"	Брай-58	180		/625/
"	крыса, почки	тритон Х-100	540	Б2(1800) Б4(4600)	/241/
"	"	дигитонин	200		/36/
"	крыса, легкие	тритон Х-100	570	Б2(210) Б4(150)	/36/ /241/
"	крыса, кишечник	"	360	Б2(300) Б4(230)	/241/
"	крыса, яички	"	63	Б4(50)	/241/
"	крыса, мозг	"	увели- чена	Б2(100) Б4(150)	/241/
"	кролик, печень	"	110	Б2(110) Б4(130)	/241/
"	кролик, почки	"	83	Б2(100) Б4(190)	/241/
"	кролик, легкое	"	150	Б2(230) Б4(130)	/241/
"	морская свинка, печень	"	120	Б2(57) Б4(140)	/241/
"	морская свинка, почки	"	78	Б2(200) Б4(1300)	/241/
"	морская свинка, легкое	"	130	Б2(100) Б4(200)	/241/

1	2	3	4	5	6
Билирубин	морская свинка, легкое	дигитонин	91		/36/
" "	" "	Брай-58	100		/625/
" "	крыса, почки	дигитонин	70		/36/
" "	мышь, печень	тритон X-100	160		/335/

Обозначения: БПГ - бензпирен-гидроксилаза; БЭ2 - бифенил-2-гидроксилаза; БЭ4 - бифенил-4-гидроксилаза.

Как следует из табл. 15, трансферазная активность, индуцированная 2,3,7,8-ТХДД, варьирует в значительных пределах в зависимости от используемого субстрата. В табл. 16, за исключением билирубина, приведены субстраты, конъюгирование которых возрастает при воздействии индукторов МХ-типа (в первую очередь, к ним можно отнести 2,3,7,8-ТХДД). Нетрудно заметить также, что 2,3,7,8-ТХДД оказывает значительно менее выраженный эффект на латентную глюкуронилтрансферазную активность. Наконец, важно подчеркнуть координированную индукцию трансферазной и монооксигеназной активностей, что свидетельствует об общей регуляции этих ферментных активностей, находящихся под контролем Ah-локуса.

Накоплен значительный материал, свидетельствующий о важной роли генетических факторов регуляции активности и индуцибельности микросомных монооксигеназ при введении мышам инбредных линий галогенированных и негалогенированных ароматических углеводородов. Наиболее отчетливое влияние генетических факторов на индукцию бензпирен-гидроксилаз печени (цитохрома P₁-450) продемонстрировано в опытах с инбредными мышами различных линий; исследовано более 30 инбредных линий мышей, две трети которых оказались чувствительными к индукции монооксигеназ, а одна треть, подобно мы-

шам DBA/2, - нечувствительной к индуцирующему влиянию ПАУ /384, 390, 590/.

При помощи разнообразных скрещиваний инбредных мышей C57BL/6 и DBA/2 и оценки возникающих при этом числовых соотношений в потомстве гибридных особей было установлено, что способность к индукции монооксигеназ печени при введении ПАУ у этих мышей наследуется по доминантному типу. Показано, что этот признак характеризуется простым аутосомным доминантным распределением /175, 385, 386, 582/.

В локусе Ah (Aromatic hydrocarbon responsiveness) генома находятся доминантный аллель Ah^b (носителем которого являются инбредные мыши C57BL/6, далее обозначаемые как B6) и рецессивный аллель Ah^d (носитель - мыши DBA/2, далее D2). Установлено, что доля чувствительных к индукции ПАУ особей в F2 от прямого скрещивания составляет 75%, а доля чувствительных генотипов среди особей от обратного скрещивания (B6 x D2) F2 x D2 равна 50% /381/.

Одновременный анализ большого количества мышей одного возраста и пола свидетельствует, что выраженность индукции бензпирен-гидроксилаз в печени и других органах незначительно, но достоверно отличается у гомозигот B6 и гетерозигот (B6 x D2) F1 /400/; для β -нафтофлавона и 3-метилхолантрена характерен зависимый от дозы индуктора ответ /88/. Эти результаты, а также данные по скрещиванию инбредных мышей I2 чувствительных и устойчивых линий позволили предположить, что по меньшей мере два несвязанных локуса (обозначенные Ah-1 и Ah-2) участвуют в регуляции биосинтеза цитохрома P-448 и уровня его гидроксилирующей активности /496/. Исследование двух сублиний инбредных мышей, отобранных из I2-го поколения и отличающихся в генотипе только по Ah-локусу, показало, что этот локус (ген) является кодоминантным и что в целом при введении инбредным мышам ПАУ наличие или отсутствие индукции монооксигеназных систем печени контролируется единым "генным кластером" /56, 383/.

О существовании единой генетической системы регуляции индукционного процесса у мышей генотипов Ah^b/Ah^b и Ah^d/Ah^d свидетельствуют данные, связанные с использованием высокоспецифич-

ного индуктора бензпирен-гидроксилазы 2,3,7,8-ТХДД /117, 205, 400, 464, 465, 470/.

Доказано, что 2,3,7,8-ТХДД как индуктор бензпирен-гидроксилазы печени крыс на четыре порядка более активен, чем 3-метилхолантрен; полумаксимальная индукция наблюдается при использовании 2,3,7,8-ТХДД в дозе 0,85 нмоля/кг, а при введении 35 нмолей/кг значительно выраженный уровень индукции бензпирен-гидроксилаз в печени, легком, почке и тонкой кишке сохраняется в течение 35 суток /464/. Характерно, что максимальный уровень индукции бензпирен-гидроксилаз одинаков для ПАУ и для 2,3,7,8-ТХДД; более того, одновременное введение 2,3,7,8-ТХДД и 3-метилхолантрена в максимальных дозах не увеличивает эффекта, наблюдаемого при использовании каждого из этих индукторов в отдельности /117, 196, 400, 464, 465/. Логарифмические кривые зависимости "доза - ответ" параллельны для 3-метилхолантрена и 2,3,7,8-ТХДД. Оба индуктора вызывают появление в микросомной фракции спектрально регистрируемого цитохрома P-448, сопровождающееся возрастанием отношения пиков 445 нм/430 нм в этилизоцианидных дифференциальных спектрах, увеличением высокоспинового ЭПР-сигнала ($g = 8,01$) /464, 470/. Введение как 3-метилхолантрена, так и 2,3,7,8-ТХДД не приводит к изменению активности НАДФН-цитохрома с редуктазы, а также деметилазы аминопирина, бензфетамина и этилморфина у крыс, мышей, кроликов и морских свинок /196, 241, 464/. Изложенное позволило авторам заключить, что механизм индуцирующего действия 3-метилхолантрена и 2,3,7,8-ТХДД одинаков (см. также /310/).

Однако ТХДД не является ПАУ, то есть не представляет систему конденсированных ароматических колец, поэтому не может, по видимому, в полной мере моделировать вызываемые ПАУ индуцирующие эффекты. Об этом же говорят те факты, что стереоизомеры 2,3,7,8-ТХДД - 3,4,3',4'-тетрахлороазоксибензола и 2,3,7,8-ТХДД одинаково активны как индукторы бензпирен-гидроксилаз в зародыше цыпленка, а также конкурируют с 2,3,7,8-ТХДД за внутриклеточный Ah-рецептор /106, 181, 466, 468, 469/ (см. главу 5).

Были предприняты попытки идентифицировать и охарактеризовать тот компонент микросомной бензпирен-гидроксилазной системы, синтез которого у мышей непосредственно регулируется Ah-докусом.

Этими компонентами оказались микросомные гемопротенды P_I-450 и P₃-450. Так, при реконструкции *in vitro* монооксигеназной системы мышей B6 и D2, индуцированных β-нафтофлавоном, найдено, что специфичность реконструированной ферментной системы определяется исключительно фракцией изолированного и частично очищенного цитохрома /389/.

С помощью электрофореза микросомных белков из печени мышей B6, D2, а также инбредных сублинейных мышей AKKL-38A и AKKL-38, несущих соответственно чувствительный аллель Ah^b и устойчивый аллель Ah^d, показано, что из четырех электрофоретических полос только одна (55 000 дальтон) увеличивается в результате введения β-нафтофлавона мышам B6 и AKKL-38A, а также после индукции всех исследуемых мышей 2,3,7,8-ТХДД /227/. Авторы предположили, что возрастание интенсивности окраски этой полосы, коррелирующее с увеличением бензпирен-гидроксилазной активности, свидетельствует об индукции полипептида-апофермента цитохрома P_I-450 после введения чувствительным мышам β-нафтофлавона. Этим же животным предварительно вместе с β-нафтофлавоном вводили меченный лейцин (мышам B6 - /L¹⁴/лейцин, а мышам D2 - /L³H-4,5/ лейцин) с последующим забоем, равным смешиванием *in vitro* микросомных фракций печени мышей D2 и B6 и электрофорезом в ПААГ в присутствии додецилсульфата натрия. Показано значительное возрастание отношения /¹⁴C/ : /³H/ в полосе 55 000 дальтон и снижение его в полосах 49 000 и 51 000 дальтон /227/. В экспериментах с использованием актиномицина D и циклогексимида, а также CoCl₂ (ингибитор биосинтеза гема) выявлено, что 2,3,7,8-ТХДД стимулирует синтез *de novo* апоцитохрома P_I-450 /295/. В отличие от авторов предыдущего анализа /462/, исследователи не обнаружили индуцирующего влияния 2,3,7,8-ТХДД на активность 5-АЛЖ-синтетазы, скорость-лимитирующего фермента биосинтеза гема.

Известно несколько спектральных и кинетических параметров цитохрома P-448, характерных для мышей с генотипом Ah^b/Ah^b или Ah^d/Ah^d и отсутствующих у мышей с генотипом Ah^b/Ah^d. Наблюдается сдвиг на 2 нм в коротковолновую сторону максимума поглощения комплекса восстановленного цитохрома с CO /175/ метирапоном и этилизоцианидом /470/, увеличение точек связывания для субстратов II типа (пиридин, анилин, метирапон) и значительное уменьше-

ние точек связывания для липофильных субстратов I типа гексо-барбитал, этилморфин /122/. Снижается сродство восстановленного Р-448 к метирапону /268/. При введении ПАУ мышам - носителям аллеля Ah^b происходит превращение низкоспиновой формы гемопротеида в высокоспиновую, что регистрируется увеличением характерных ЭПР-сигналов ($g = 8,01; 3,7$ и $1,7$) /388/.

Изучение дозовой зависимости индукции бензпирен-гидроксилазы выявило, что 2,3,7,8-ТХДД в концентрации 60 - 100 мкг/кг увеличивает ферментную активность в печени и внепеченочных тканях мышей В6 и D2, в то время как малые дозы 2,3,7,8-ТХДД (1 мкг/кг) вызывают индукцию бензпирен-гидроксилазы в печени только мышей В6, а у мышей D2 наблюдается лишь незначительное возрастание ферментной активности во внепеченочных тканях /305/.

Установлено, что для того, чтобы вызвать 50-процентный индуцирующий эффект на бензпирен-гидроксилазу у мышей В6, ВА1В/сJ и А/J, необходимо использовать 2,3,7,8-ТХДД в дозе 1 нмоль/кг, а у мышей D2, АКВ/J и ВJL/J - 10 нмоль/кг. Это соотношение сохраняется для бензпирен-гидроксилаз не только печени, но и почек, легких, тонкой кишки, кожи /465, 470/. Дозы 2,3,7,8-ТХДД, стимулирующие 50-процентное увеличение скорости гидроксилирования 3,4-бензпирена и О-деэтилирования 7-этоксимарина, одинаковы для мышей В6 и в 10 - 12 раз превышают таковые для мышей D2 /195/.

На основании полученных данных Полад с группой сотрудников предположил, что мыши с генотипом Ah^d/Ah^d имеют структурный и функциональный гены индукции бензпирен-гидроксилаз, но у этих "устойчивых" мышей в результате мутации синтезируется внутриклеточный рецептор для ПАУ (продукт регуляторного гена), обладающий слабой способностью "распознавать" менее специфичные, нежели 2,3,7,8-ТХДД, индукторы: 3-метилхолантрен, β -нафтофлавон и другие ПАУ /464, 465, 472, 470/. Авторы на основании данных о дозовой зависимости индукции ТХДД у мышей В6 и D2, а также о "промежуточной" индуцирующей активности ТХДД у мышей (В6 x D2)F₁ заключили, что существует единый внутриклеточный рецептор для ПАУ и 2,3,7,8-ТХДД, но он обладает подавленным сродством к индукторам-ПАУ (см. главу 5).

Выяснено, что 2,3,7,8-ТХДД вызывает у "чувствительных" мышей В6 и "устойчивых" мышей D2 синтез *de novo* гемопротейда (полипептид с молекулярным весом 55 000 дальтон), а также активацию в микросомах печени этих мышей гидроксирования 3,4-бензпирена и бифенила, O-деметилирования 7-этоксирезорифина и P-нитроанизола, N-гидроксирования 2-ацетиламинофлуорена /227/. В дальнейшем для мышей В6 было установлено, что 3-метилхолантрен и β -нафтофлавон вызывают индукцию двух полипептидов с молекулярным весом 55 000 и 54 000 дальтон /88/, ныне называемых цитохромами P₁-450 и P₃-450 /381a/. Исследование индуцирующего влияния 2,3,7,8-ТХДД в перинатальный период у мышей позволило разделить цитохромы P₃-450 (полипептид с молекулярным весом 54 000 дальтон, содержание которого возрастает с увеличением активности ацетанилид-4-гидроксилазы) и P₁-450 (молекулярный вес - 56000 дальтон, интенсивность окраски коррелирует с изменениями активности бензпирен-гидроксилазы в ранний перинатальный период); P₁-450 и P₃-450 /203/.

Ранее в лаборатории Алана Поланда были получены данные о том, что при введении 2,3,7,8-ТХДД в дозе 40 мкг/кг у мышей с чувствительным и устойчивым генотипами увеличивается содержание микросомного гемопротейда, а также скорость метаболизма 3,4-бензпирена в печени, тонкой кишке, легких, почке и коже, 7-этоксикумарина в печени и почке, 3-метил-4-метиламиноазобензола и п-нитроанизола в печени /468, 469/. Вместе с тем исследование временной зависимости увеличения бензпирен-гидроксилазной активности и появления спектра цитохрома P-448 у мышей D2 после инъекций 2,3,7,8-ТХДД позволило установить, что в течение первых суток 5 - 6-кратное возрастание ферментной активности не сопровождается смещением СО-пика в коротковолновую сторону /107/.

Изучая кинетику индукции бензпирен-гидроксилаз при введении 2,3,7,8-ТХДД в среду культивирования клеток 10 линий, а также в эмбриональные клеточные культуры из хомячка, крысы, цыпленка, кролика и мышей 4 инбредных линий, Нива с соавторами показал, что по чувствительности к актиномицину D и циклогексимиду и до отсутствия аддитивного эффекта совместного введения 3-метилхолантрена и 2,3,7,8-ТХДД индуцирующие механизмы для этих ароматических соединений похожи /399/. Вместе с тем в некоторых

клеточных линиях и первичных эмбриональных культурах чувствительность бензпирен-гидроксилаз к индуцирующему влиянию 2,3,7,8-ТХДД в 250-900 раз выше, нежели к воздействию 3-метилхолантрена. Были выявлены значительные различия между разными типами клеток: если ED_{50} для эмбриональных клеток мышей B6 равна 0,12 нМ, то в клеточной линии H-4-P-E она составляет 0,23 нМ, а в линиях VERO и HPC - около 100 нМ, что соответствует данным о токсичности 2,3,7,8-ТХДД в клетках этих линий (см. главу 4). Установлено, что чувствительность бензпирен-гидроксилаз эмбриональных клеток мышей D2 к индуцирующему влиянию 2,3,7,8-ТХДД в 16 раз ниже, чем в клетках первичной культуры из мышей B6 /205, 399/.

В лаборатории Ниберга также получены данные о том, что бензпирен-гидроксилазы клеточных линий H-4-P-E и Нера-I при введении в среду 2,3,7,8-ТХДД индуцируются в 100 раз сильнее, чем ферменты клеточных линий VERO и HPC. Для достижения полумаксимального увеличения бензпирен-гидроксилазной активности в первых двух линиях необходимы дозы 2,3,7,8-ТХДД, равные 0,23 и 0,45 нМ, а во вторых двух линиях клеток - 110 и более 200 нМ /202/. Авторы использовали эти клеточные линии как оппозитные по отношению к индукции 2,3,7,8-ТХДД и исследовали в них свойства связывающих точек для ПАУ в микросомном супернатанте. Выяснилось, что все различия в этих клетках сводятся к разной термоллабильности рецепторов для ПАУ.

Согласно принятой до недавнего времени гипотетической схеме генетической регуляции индукции полициклическими углеводородами цитохрома P₁-450, других форм P-450 и ассоциированных монооксигеназных активностей, чтобы объяснить все экспериментальные данные, включается минимум шесть аллелей и два несвязанных регуляторных локуса, а кроме того предполагается структурный ген для бензпирен-гидроксилазы /390/. Два регуляторных гена (обозначенные Ahg-1 и Ahg-2) каким-то образом контролируют структурный ген цитохрома P₁-450, а продуктом одного из этих генов является внутриклеточный рецептор для ПАУ и 2,3,7,8-ТХДД. В лаборатории Даниэля Ниберга получены данные, позволившие существенно усовершенствовать гипотезу о генетической регуляции синтеза разных форм цитохрома P-450 /380a/ (см. ниже).

В исследованиях последних лет доказано, что при введении ПАУ мышам, гомозиготным или гетерозиготным по аллелю Ah^b , кроме бензпирен-гидроксилазы, активность еще около двадцати реакций монооксигеназного типа в микросомах связана с индукцией цитохромов P₁-450 и P₃-460 /56, 227, 380a, 380, 393/.

Для объяснения того, каким образом 20 монооксигеназных и несколько цитоплазматических регулируемых Ah -локусом ферментных активностей ассоциированы с индукцией ПАУ и 2,3,7,8-ТХДД, Поланд и Менде еще 10 лет назад постулировали, что эти индукторы (в комплексе с рецептором являющиеся "эффектором") включают в ядре активацию ряда прерывающихся структурных генов /472/. Координированная индукция нескольких монооксигеназ при введении 2,3,7,8-ТХДД и 3-метилхолантрена (см. также /202, 309/) лучше всего, как считали авторы, описывается моделью регуляции гена, выдвинутой Бриттеном и Давидсоном /144, 203/. Эта модель объясняет координированную экспрессию прерывающихся структурных генов, набор которых назван "батареей" одновременно активирующихся генов. Она базируется на том, что каждый структурный ген "батареи" стоит во главе некоторой общей повторяющейся последовательности ДНК, характерной для этой "батареи". Весь набор генов координированно активируется регуляторной макромолекулой (активатором), транскрибируемой сенсорным геном, на который, в свою очередь, предварительно воздействует комплекс "рецептор - индуктор" (3-метилхолантрен или 2,3,7,8-ТХДД) /472/. Модель Бриттена - Давидсона может служить основанием для понимания плеiotропного индуцирующего эффекта не только ПАУ, но и барбитуратов и других ксенобиотиков. В число генов активируемой ПАУ "батареи" входят структурные гены цитохромов P-450IA1 и P-450IA2, и поскольку выявляются различия в динамике перинатального развития сопряженных с этими цитохромами монооксигеназных активностей, предполагается, что контроль осуществляется именно на уровне структурных генов цитохромов /203/. Менее вероятно, что контроль происходит на уровне регуляторного(ых) гена(ов) Ah -локуса, так как предполагается, что один и тот же рецептор необходим для координированной активации всех структурных генов "батареи". Данные последнего времени (см. ниже) полностью подтвердили интуитивные гипотезы Алана Полада и сотрудников, выдвинутые еще до

наступления эры "технологии рекомбинантной ДНК" и знания структуры генов цитохромов диоксинового семейства P-450I у мышей, крыс, кроликов и человека /26, 386a/.

В 70-х годах существовало мнение, что все известные индукторы монооксигеназных систем взаимодействуют с одним и тем же рецептором, что приводит к увеличению ряда монооксигеназных активностей. Однако тысячекратный избыток фенобарбитала или предгненолон-16 α -карбонитрила не приводил к вытеснению 2,3,7,8-ТХДД из мест связывания в микросомном супернатанте /202, 468, 469/. Можно было также сделать предположение о взаимодействии каждого индуктора с отдельным внутриклеточным рецептором, однако трудно допустить наличие тысяч различных рецепторов, "ждущих" взаимодействия со "своим" (возможно, еще неоткрытым) индуктором. Как же происходит адаптивный синтез монооксигеназ в условиях воздействия множества лекарств, канцерогенов, инсектицидов и других индукторов разной химической структуры?

По мнению Даниэля Ниберта /380a/, наиболее вероятным способом "борьбы" генетического материала клетки с разнообразными токсическими факторами окружающей среды является использование феномена "промежуточных этапов" в функционировании прерывающихся генов /316/. Сегодня концепция линейных и непрерывных кодонов в гене выглядит значительно упрощенной, поскольку в генах ряда иммуноглобулинов и других белков обнаружены постоянные и варьирующие отрезки; два или более прерывающихся сегмента отделены друг от друга промежуточными интронами. После транскрипции генома промежуточные этапы удаляются в ходе посттранскрипционного процессинга предшественника тРНК. Вследствие такого "редактирования" начального транскрипта собранная тРНК может служить матрицей для синтеза "правильного" полипептида /316/.

Поскольку наличие индуцированных монооксигеназ обнаружено как у растений и бактерий, так и у млекопитающих, предполагается, что в ходе эволюции регулируемых геномом признаков индукция монооксигеназных систем была и остается одним из самых эффективных способов переживания и адаптации, причем адекватным ответом генома, очевидно, может быть только быстрый процессинг предшественника тРНК /380a/. Автор считает, что экстраординарный феномен промежуточных этапов на контролируемой Ab-локусе

синтез различных монооксигеназ при введении 2, 3, 7, 8-ТХДД, ПАУ и других индукторов не кажется столь гипотетичной. Так, при участии интронов может синтезироваться продукт регуляторного Ah-гена, то есть внутриклеточный рецептор, специфично связывающий индуктор определенного типа. Послетранскрипционный процессинг предшественника тРНК объясняет координированный синтез ряда форм цитохрома и ассоциированных с Ah-локусом монооксигеназных и цитоплазматических ферментов.

Предложена любопытная схема /380a/, демонстрирующая возможное индуцирующее влияние форм монооксигеназ и предполагающая взаимодействие любого индуктора с "сенсорной системой" (аналогично тому, как антигены оставляют "отпечаток" своей формы на специфичных лимфоцитах). Подобно "классам" иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgE и др.), существует хотя и большое, но ограниченное число вариантов химической структуры обладающих индуцирующей активностью ксенобиотиков. Очень важно подчеркнуть, что роль "сенсорной системы" может выполнять микросомный цитохром P-450. "Сенсорная система" воздействует на этап процессинга предшественника тРНК - транскрипта регуляторного гена Ahg; индуцирует возрастание содержания специфичного внутриклеточного рецептора, обладающего высоким сродством к находящемуся в клетке ксенобиотику - индуктору определенной структуры. Вторая "сенсорная система", воздействуя на процессинг предшественника мРНК из структурных генов цитохрома P-450, обеспечивает синтез одних форм гемопротеида и снижение других /55, 203, 227, 613/. При этом одна из синтезированных форм обычно обладает выраженной активностью в отношении ксенобиотика - индуктора данной химической структуры.

В нашей лаборатории проведена работа по сравнению эффектов различных индукторов диоксинового типа на биосинтез, полипептидную структуру, содержание, каталитические, электрофоретические и иммунохимические свойства монооксигеназ печени крыс. Для проверки гипотезы Ниберта /380a/ о возможности синтеза множества специфичных для каждого индуктора (или для каждого из вариантов их структуры) индивидуальных форм цитохрома P-450 нами были выбраны структурно различные ксенобиотики: полициклические ароматические углеводороды 3-МХ и БП, флавои (5,6-бензофлавои),

полихлорированные производные бифенила (3,4,5,3',4'-ПХБ) и дибензо-*p*-диоксина (2,3,7,8-ТХДД) /18/.

Установлено, что при введении крысам *Wistar* указанных индукторов диоксинового типа в микросомах печени происходит *de novo* синтез двух гемопротеидов - цитохромов P-450 (м.м. 56 кДа) и P-450_d (м.м. 53 кДа), различных по своим функциональным и иммунохимическим параметрам. Сравнение каталитических и иммунохимических свойств пяти образцов цитохрома P-450_c, данных электрофоретического, протеолитического и ингибиторного анализа не выявило различий в сравниваемых препаратах, за исключением микросом печени крыс, которым предварительно вводили 2,3,7,8-ТХДД. В этих микросомах наблюдались низкое содержание этой молекулярной формы монооксигеназы и вместе с тем очень высокая молекулярная активность цитохрома P-450_c в отношении БП и 7-этоксирезорфурина. Полученные результаты не являются подтверждением гипотезы Ниберта о вероятности синтеза такого множества индивидуальных форм монооксигеназ, которое соответствовало бы количеству вариантов химической структуры ксенобиотиков, сходных с 2,3,7,8-ТХДД или ПАУ. Во всех случаях в микросомах синтезируется не более двух специфичных форм фермента, продуктов генов P-450IA1 и P-450IA2.

Высокая молекулярная бензпирен-гидроксилазная активность цитохрома P-450IA1, индуцируемого 2,3,7,8-ТХДД в печени крыс, может иметь прямое отношение к механизму промоторного действия 2,3,7,8-ТХДД в ходе химического канцерогенеза (см. главу 4), индуцируемого полициклическими углеводородами, метаболиты которых являются сильнейшими канцерогенами. Поскольку 2,3,7,8-ТХДД вызывает координированный синтез цитохрома P-450IA2, предстоит выяснить роль 2,3,7,8-ТХДД как промотора (коканцерогена) в опухолеобразованиях мочевого пузыря, индуцируемых ароматическими аминами - субстратами микросомного цитохрома P-450IA2.

Имеются противоречивые данные о сходстве молекулярных механизмов индукции бензпирен-гидроксилазы 2,3,7,8-ТХДД и типичным индуктором - полициклическим углеводородом 3-метилхолантронем (МХ) /241, 477/, но традиционными кинетическими, ингибиторными, электрофоретическими и спектральными методами различия в характеристиках сравниваемых ферментов не выявлены /3, 468, 469/.

Для разрешения этой проблемы в нашей лаборатории изучали изменения параметров бензпирен-гидроксилаз в динамике индукции МХ и 2,3,7,8-ТХДД. При этом помимо уже указанных использовали радиологический, протеолитический и иммунохимические методы анализа. Крысам-самцам Wistar за 16 часов до забоя вводили МХ (40 мкг/кг) или 2,3,7,8-ТХДД (5 мг/кг), а за 8 часов и за 4 часа - L-/I-¹⁴C/-лейцин (5 мкг/кг); другую часть животных исследовали через 72 часа после введения индукторов бензпирен-гидроксилазы.

Через 16 часов после внутрибрюшинной инъекции как МХ, так и 2,3,7,8-ТХДД в микросомах крыс не происходило заметного увеличения общего содержания цитохрома Р-448, хотя наблюдалось возрастание бензпирен-гидроксилазной активности. При этом только в МХ-микросомах величина K_M для 3,4-бензпирена снижалась до уровня, характерного при максимальной индукции. В этот период содержание специфичной формы фермента, определяемой ракетным иммуноэлектрофорезом, составляла треть его общего содержания, но именно эта форма катализировала гидроксилирование 3,4-бензпирена, о чем свидетельствовало почти полное ингибирование реакции антителами, приготовленными против изолированной бензпирен-гидроксилазы. При электрофоретическом разделении меченных ¹⁴C/-лейцином МХ- и 2,3,7,8-ТХДД-микросом и последующей флюорографии гелей в области миграции гемопротеидов (48 - 58 кДа) были выявлены два *de novo* синтезированных полипептида с м.м. 56 и 53 кДа, отсутствующие в контрольных микросомных препаратах. Эксперименты с изолированными из МХ-микросом цитохромами позволили установить, что собственно бензпирен-гидроксилазой является только гемопротеид с м.м. 56 кДа. На высоте МХ-индукции общее содержание цитохрома Р-448 возрастало в 2 раза, а содержание его специфичной формы достигало уровня 86%. Поэтому расчет бензпирен-гидроксилазной активности на каждый из этих показателей дал сходные величины.

Через 16 часов после введения крысам 2,3,7,8-ТХДД величина K_M для 3,4-бензпирена не превышала контрольного уровня, а скорость реакции в расчете на нмоль общего гемопротеида была относительно невелика. Вместе с тем в 2,3,7,8-ТХДД-микросомах показано очень низкое содержание специфичной (подавляемой гемологич-

ными антителами) формы бензпирен-гидроксилазы. С учетом этого выявлена значительно большая молекулярная активность бензпирен-гидроксилазы в 2,3,7,8-ТХДД-микросомах, нежели в МХ-микросомах.

Через 72 часа в ТХДД-микросомах наблюдались характерный сдвиг максимума С₀-пика и возрастание общего содержания цитохрома Р-448. Специфичное содержание бензпирен-гидроксилазы также увеличилось в 6 раз по сравнению с уровнем, достигнутым через 16 часов после введения, но составляло тем не менее только 24% от общего содержания цитохрома. Поэтому если ферментная активность в расчете на последний показатель была одинаковой в 2,3,7,8-ТХДД- и МХ-микросомах, то в расчете на содержание иммунохимически определяемой формы она оказалась в 3,7 раза выше в 2,3,7,8-ТХДД-микросомах. Поскольку такой же уровень молекулярной активности бензпирен-гидроксилазы наблюдался в МХ-микросомах через 16 часов после введения индуктора, логично было предположить замедленный биосинтез фермента, индуцированного 2,3,7,8-ТХДД. Действительно, с помощью *in vivo* пульса ¹⁴С-лейцина установлено, что включение метки в 2,3,7,8-ТХДД-микросомы в 1,5 раза ниже, чем включение метки в МХ-микросомы.

Обнаруженные отличия в молекулярной активности бензпирен-гидроксилазы в 2,3,7,8-ТХДД-микросомах могли объясняться либо ее каталитическими особенностями как фермента, либо различиями в структуре цитохромов Р-448, преиндуцированных МХ и 2,3,7,8-ТХДД. Последняя возможность не нашла подтверждения в опытах по протеолитической обработке сравниваемых полипептидов с м.м. 56 кДа папаином и α -химотрипсином. "Пептидные карты" МХ- и 2,3,7,8-ТХДД-индуцированных бензпирен-гидроксилаз оказались одинаковыми. Таким образом, при сравнении эффектов МХ и 2,3,7,8-ТХДД видно, что 2,3,7,8-ТХДД с замедленной скоростью индуцирует в клетках печени крыс биосинтез бензпирен-гидроксилазы, характеризующейся очень высокой молекулярной активностью /18, 19, 600, 602/.

Значительный вклад в понимание свойств молекулярных форм цитохрома Р-450, индуцируемых 2,3,7,8-ТХДД и сходными по механизму действия индукторами МХ-типа, внесли данные, полученные на изолированных ферментах. Большая часть имеющихся по этому вопросу сведений изложена нами ранее /3, 6/, поэтому целесооб-

разно в самом сжатом виде привести данные о молекулярных формах кроликов и крыс, так как результаты, касающиеся мышечных цитохромов P₁-450 и P₃-450, были изложены выше.

С помощью 2,3,7,8-ТХДД из печени кролика удалось выделить и идентифицировать две обладающие разной субстратной специфичностью формы микросомного гемопротеида. Антитела к главной форме **LM₄** (полипептид с молекулярным весом 54 000 дальтон) на 80% ингибируют в реконструированной системе метаболизм ацетанилида (но не 3,4-бензпирена 7-этоксикумарина) и не выявляют перекрестной реактивности с минорной формой (60 000 дальтон). Последняя (идентифицированная впоследствии как цитохром **LM₆**) /261/ в реконструированной монооксигеназной системе катализирует гидроксилирование 3,4-бензпирена и 0-деэтилирование 7-этоксикумарина /262/. Затем с помощью пептидного картирования индуцированных 2,3,7,8-ТХДД форм гемопротеида было установлено, что перичные структуры этих изоферментов являются различными. Характерная картина пептидных фрагментов, получающихся из каждого цитохрома, предполагает возможность их идентификации в микросомах с помощью протеолиза с последующим гель-электрофорезом /261/.

Форма **LM₄** спектрально выявляется как гемопротеид с максимумом поглощения CO-комплекса при 448 нм; гемовое железо этого цитохрома находится в высокоспиновом состоянии. Цитохром **LM₄** характеризуется практически очень слабой бензпирен-гидроксилазной активностью, но в то же время самой высокой среди других форм монооксигеназ кролика ацетанилид-4-гидроксилазной активностью /392/, а также скоростью 0-деэтилирования 7-этоксирезорфина /261/. Особую роль отводят форме **LM₄** как специфичному катализатору реакций метаболической активации ароматических аминов: индуцированный 2,3,7,8-ТХДД цитохром **LM₄** оказался главной монооксигеназной формой, ведущей *in vivo* N-гидроксилирование 2-апетиламинофлюорена /589/. Эта форма сегодня рассматривается как основная среди форм, индуцируемых 2,3,7,8-ТХДД в печени кроликов /319/. Методом рекомбинантной ДНК получена ДНК, кодирующая мРНК для цитохрома **LM₄** /409/.

Индукцируемая у новорожденных кроликов монооксигеназная форма **LM₄** в значительно меньшей степени увеличивается при вве-

лении 2, 3, 7, 8-ТХДД взрослым кроликам. Использование каталитических, иммунохимических и протейолитических методов позволило установить, что эти формы у новорожденных и взрослых кроликов идентичны /401/. Бензпирен-гидроксилазная активность принадлежит этому цитохрому: эффект индукции бензпирен-гидроксилазы от трансплацентарного введенного 2, 3, 7, 8-ТХДД очень высок в neonatalный период жизни кроликов, но не определяется уже через 2 недели после рождения /393, 401/. Показано, что в отличие от формы LM_4 при введении кроликам 2, 3, 7, 8-ТХДД форма LM_6 преобладает во внепеченочных тканях - легких и почках /131, 319/. При сравнении этих цитохромов с печеночным LM_6 по электрофоретическим характеристикам и пептидным картам выяснилось, что хотя экспрессия формы LM_6 зависит от возраста животного и вида ткани, цитохромы во всех органах идентичны /319/.

Выявлены клоны кДНК, кодирующей цитохром LM_6 /409, 606/, причем нуклеотидные последовательности экзонов имели до 93% гомологии с экзонами структурных генов, кодирующих цитохромы P-450 у мышей и P-450_c у крыс /393/. Неудивительны в этой связи данные о том, что индуцированная 2, 3, 7, 8-ТХДД бензпирен-гидроксилазная активность у кроликов селективно ингибируется 7, 8-нафтофлавоном /486/, который метаболизируется аналогичной LM_6 формой P-450_c у крыс, которым вводили 2, 3, 7, 8-ТХДД /329/. Небезынтересно отметить, что, по-видимому, эта форма монооксигеназы человека катализирует в лимфоцитах превращение 7, 8-нафтофлавона в продукт, вызывающий сестринские хроматидные обмены (см. главу 4).

Нам неизвестны работы о выделении цитохромов из микросом печени крыс, индуцированных 2, 3, 7, 8-ТХДД. На сегодня из микросом печени крыс изолированы более двадцати молекулярных форм /197/, и среди них две формы, цитохрома P-450_c и P-450_d (по старой номенклатуре, с. /508/), индуцируются в микросомах печени крыс при введении различных индукторов MX-типа, включая 2, 3, 7, 8-ТХДД /18, 585/.

В дополнение к уже изложенному материалу о цитохромах P-450_c и P-450_d нужно раскрыть, во-первых, сходные спектральные свойства их комплексов с CO, этилизосцианидом и изосафролом, а во-вторых, кросс-реактивность с гетерологичными антителами, что

свидетельствует о наличии общих иммунохимических детерминантов /585/. Авторы показали, что, хотя цитохромы P-450_c и P-450_a индуцируются совместно в ответ на введение крысам 2, 3, 7, 8-ТХДД и других ксенобиотиков МХ-типа, они, очевидно, не находятся под координированным контролем, поскольку отношение P-450_c/P-450_a в микросомах варьирует от 0,4 (при индукции крыс изосафолом) до 3,0 - 3,2 (при введении 2, 3, 7, 8-ТХДД или 3-метилхолантрена).

Субстратная специфичность в отношении 7-этоксирезорфурина изолированных форм P-450_c и P-450_a, равная 3,9 против 0,52 (в нмолях продукта / мин / нмоль формы), ацетанилида (46,0 против 4,0) и БП (9,7 против 2,1), а также активность этих форм в микросомах крыс, индуцированных 5,6-нафтофлавоном и изосафолом (соответственно 2,1 против 0,344; 5,4 против 3,2 и 4,2 против 1,8), со всей очевидностью свидетельствует о следующем. Цитохром P-450_c в печени крыс является единственной формой, катализирующей реакцию О-деэтилирования 7-этоксирезорфурина, преимущественно метаболизируют 3,4-бензапирен и ацетанилид, а у мышей и кроликов эта активность вновь принадлежит в основном формам P-450 и I_{M_4} /100, 198, 199/. Впрочем, данные относительно ацетанилида оспариваются: согласно результатам, полученным группой Сандхаймера /564/, гидрокселирование этого субстрата ведет форма P-450_a.

Форма P-450_c является единственной, которая индуцируется 2, 3, 7, 8-ТХДД во внепеченочных тканях крыс /184/. Интересной особенностью является то, что при индукции 3, 4, 5, 3', 4', 5'-ГХБ (и другими ксенобиотиками МХ-типа), хотя содержание формы P-450_c возрастает примерно в 50 раз, уровень специфичной мРНК значительно ниже уровня мРНК для цитохрома P-450_a, содержание которого в 2 - 6 раз ниже, нежели цитохром P-450_c /221, 277/.

Высокоспиновая молекулярная форма P-450_a ответственна за активацию в микросомах печени крыс различных ароматических аминов: 4-амино-бифенила, 2-аминофлуорена, 2-ацетиламинофлуорена, продуктов пиролиза аминокислот и белков - до высокомутатогенных продуктов /187, 271, 374, 490, 492/. Реакцией активации во всех случаях является N-гидроксилирование ароматического амина, имеются данные о высокой корреляции активности P-450_a и химического канцерогенеза у крыс /272/.

Применительно к теме данного обзора представляются интересными данные о связывании 3,4,5,3',4',5'-ГХБ с цитохромом P-450_a (другие индукторы МХ-типа, включая 2,3,7,8-ТХДД, также связываются в микросомах печени крыс преимущественно с этой формой монооксигеназы) и ингибировании эстрадиол-2-гидроксилазной активности, специфичной для P-450_a /618/. Эта способность цитохрома P-450_a проявляется также и в отношении пентахлордибензофурана /650/. Авторы полагают, что именно связывание с P-450_a обуславливает пролонгированные биологические эффекты этого ксенобиотика.

В микросомах печени людей найдена форма монооксигеназы, идентичная форме P-450_a у крыс /640/. У злоупотребляющих курением 40 людей с помощью моноспецифичных антител, реагирующих с эпитопом на цитохроме P-450_a, в микросомах печени реакцией **Western Blot** выявлен полипептид с м.м. 54 кДа /540/. Содержание этой формы более чем в 3 раза выше, чем у некурящих людей. Показано, что форма ведет O-деэтилирование фенаcetина, аминов - 2-ацетиламинофлюорена и продукта пиролиза триптофана Trp-P-2. В настоящее время известна полная аминокислотная последовательность цитохрома печени человека, аналогичного цитохрому P-450_a крыс /260/.

6.2. Межвидовые особенности цитохромов P-450IA1 и P-450IA2, индуцируемых хлорированными диоксинами

1987 г. можно считать по-своему знаменательным: усилиями исследователей из 12 ведущих лабораторий США, Англии и Японии была разработана и изложена на страницах журнала "DNA" первая номенклатура суперсемейства генов цитохрома P-450. В ее основу была положена информация о полной (или почти полной) последовательности нуклеотидов КДЖ или аминокислотной последовательности 65 продуктов генов P-450; кроме того номенклатура учитывала дивергентную эволюцию надсемейства генов P-450 /381a/.

Одним из восьми (и первым по счету) семейств генов P-450 является индуцируемое 2,3,7,8-ТХДД полициклическими ароматическими углеводородами семейство P-450I, включающее одно подсемейство A и состоящее только из двух индивидуальных генов - AI и A2в. У млекопитающих продукты этих двух генов известны под три-

виальными названиями P-450_c и P-450_d (у крыс), I_M₅ и I_M₄ (у кроликов) и P_I-450 и P₃-450 (у мышей и людей) / 197/.

Оба индуцируемых 2, 3, 7, 8-ТХДЦ гена контролируются Ah-рецептором. Ясна картина координированного синтеза их продуктов. Указанные цитохромы вызывают особый интерес исследователей, так как являются ферментами биоактивации ряда ксенобиотиков до токсичных или канцерогенных продуктов. Среди таких ксенобиотиков особо выделяют полициклические ароматические углеводороды, реакцию эпоксилирования которых у млекопитающих катализирует форма цитохрома AI, а также ароматические амины, претерпевающие реакцию N-гидроксилирования, которая ингибируется антителами, выработанными к цитохрому A2, но не к AI /3, 201/.

Оказавшись в центре актуальной проблемы химического канцерогенеза у млекопитающих, в том числе у человека, большое развитие получили исследования, направленные на выявление особенностей структурных и ферментативных характеристик продуктов генов AI и A2 у различных видов млекопитающих. В общем виде задача таких исследований сводится к установлению наличия одной или обеих форм цитохрома в микросомной фракции изучаемой ткани, к определению количественного соотношения цитохромов AI и A2 и по кинетическим параметрам метаболизма "маркёрного субстрата" каждой из данных форм.

Огромное значение в этих работах (помимо, естественно, препаративных методов получения цитохромов) имеют иммунохимические методы. Индуцируемые 2, 3, 7, 8-ТХДЦ цитохромы обладают выраженной иммуногенностью, и продукты каждого гена у различных видов млекопитающих характеризуются очень высокой структурной гомологией (например, между продуктами гена AI - цитохромами P-450_c у крыс и P_I-450 у мышей, - а также между продуктами гена A2 этих видов гомология последовательности а.к. остатков в экзонах достигает 93%). При этом, однако, выраженную перекрестную иммунореактивность продуктов семейства генов AI (обусловленную почти 70-процентной их структурной сходностью) приходится преодолевать с помощью предложенного Томасом и сотрудниками способа истощения антител иммуноабсорбционной хроматографией /489/.

Большинство работ такого рода выполнено на крысах. В этой связи представляется целесообразным обсудить ряд вопросов, каса-

ющихся степени адекватности этого вида как базовой (основной) экспериментальной модели для изучения продуктов генов диоксинового семейства P-450 I, их роли и реакций метаболической активации проканцерогенов у млекопитающих.

Прежде всего даже у крыс таких высокоиндуцируемых линий (поред), как **Long-Evans** (или **Sprague-Dawley**) и **Wistar**, синтезирующиеся *de novo* продукты гена A2 различаются по молекулярной массе мономеров. Если у крыс первых двух линий молекулярная масса цитохрома P-450_a практически совпадает с таковой для продукта гена P-450 PB (то есть P-450_b), то при индуцировании крыс **Wistar** различными по химической структуре ксенобиотиками так называемого MX-типа на флюорограмме гелей после SDS-электрофореза микросом печени животных, перед забоем получавших ¹⁴C/лейцин, выявляются в каждом случае две полосы с м.м. 56 кДа (P-450_c) и 54 кДа, идентифицированные как P-450_a, так как такой же электрофоретической подвижностью обладает изолированный цитохром P-450_a. Пептидные карты этих цитохромов отличаются от таковых для цитохромов P-450_b и P-450_c /18/.

Другие пункты касаются межвидовых различий. Первый из них относится к электрофоретической подвижности продуктов генов A1 и A2 у крыс и мышей. С помощью неистощенных антител против цитохрома P-450_a техникой **Western Blot** показано наличие двух полос (принадлежащих и.п. с м.м. 56 и 54 кДа) в MX-микросомах крыс. Контролем более медленно мигрирующей полосы служит изолированный цитохром P-450_c, демонстрирующий, кстати, кросс-реактивность используемых антител. Характерно, что с помощью этих антител выявляется только одна полоса окрашивания с P-450_a, P-450 и MX-микросомами мышей B6; м.м. этой полосы соответствует полипептиду с м.м. 54 кДа. После истощения этих антител иммуноабсорбцией гетерологичных антител на колодке пришитым к Сефарозе 4B цитохромом P-450_c уже не выявляется взаимодействия анти-P-450_a с изолированным и микросомным цитохромом P-450_c, но при этом практически не изменяется картина окрашивания в дорожке, где мигрировали MX-микросомы мышей. Это свидетельствует о том, что оба продукта генов A1 и A2 у мышей имеют практически одинаковые м.м., равные 54 кДа. Полученные данные подтверждают результаты Нигитши и Ниберта /392/, определивших для цитохрома

P_1-450 и P_3-450 одинаковую м.м. полипептидов, равную 55 кДа, и несколько расходятся с данными Томаса и сотрудников /586/, обнаруживших, что молекулярные массы этих белков различаются, хотя они и весьма близки.

Более актуальным представляется вопрос об относительном содержании продуктов экспрессии генов $A1$ и $A2$ в ткани, поскольку, как полагают, этот показатель чрезвычайно важен в определении инициируемого факторами окружающей среды индивидуального риска опухолеобразования и токсичности. Данные многих авторов свидетельствуют о количественном преобладании цитохрома $P-450_c$ над цитохромом $P-450_d$ в печени крыс разных пород, причем соотношение $P-450_c/P-450_d$ в разных исследованиях определяется от 50/40 (в % от общего содержания гемопротеида) до 78/II /312, 331, 441/. Такой же предел значений имеют и результаты, полученные в нашей лаборатории /18/. Логично предположить, что именно низкое содержание продукта гена $A2$ в печени крыс обуславливает самую слабую для млекопитающих активность крысиного цитохрома $P-450_d$ в N -гидроксилировании 2-ацетиламинофлуорена и 4-амино-бифенила до мутагенных продуктов /190/. Вместе с тем известны данные гибридизационного анализа, свидетельствующие, что при введении крысам индукторов - полициклических углеводородов и полихлорированных копланарных изомеров бифенила - содержание мРНК цитохрома $P-450_d$ всегда выше, чем содержание мРНК цитохрома $P-450_c$. Обсуждая причины расхождения между относительным уровнем мРНК и содержанием цитохромов $P-450_c$ и $P-450_d$, Каваири и коллеги предполагают в качестве видовой особенности крыс либо различную эффективность *in vivo* трансляции мРНК для $P-450_c$ и $P-450_d$, либо различный оборот апоферментов $P-450_c$ и $P-450_d$ в микросомах печени /276/. Такой картины, как у крыс, не наблюдается у чувствительных к ПАУ-индукции мышей В6. Нами получены результаты, подтверждающие более ранние данн. з Ниберта и сотрудников об очевидном преобладании в индуцированных микросомах печени мышей содержания продукта гена $A2$ над содержанием продукта гена $A1$; соотношение это может быть определено как 8 : 1 /15/.

Представляется очевидным, что именно такая картина характерна для млекопитающих в целом, поскольку, как у мышей цитохром P_3-450 , в микросомах печени кроликов продукт гена $A2$ (IM_4)

явно преобладает над продуктом гена А1 (IM_6) /398/. Этот фактор преобладания, по данным Кимуры и сотрудников /287/, колеблется от 4 до 20 и более. Авторы полагают, что такая пропорциональность свойственна и печени человека. Так, Джейсвал и сотрудники техникой **Western Blot** выявили в печени людей только продукт гена А2 /260/, а Райтоң и коллеги таким же методом определили высокий уровень содержания цитохрома - продукта гена А2 - во всех исследованных микросомах печени человека, и только в одном случае было найдено небольшое количество цитохрома - продукта гена А1 /640/.

С вопросом о соотношении форм цитохрома в печени млекопитающих разных видов тесно связан вопрос о субстратной специфичности этих форм и выборе адекватных "маркерных" субстратов. Собственные экспериментальные результаты и анализ литературных данных позволяет нам предположить, что только бензпирен-гидроксилазная активность (при всех издержках в виде большого числа продуктов реакции и некоторого вклада других форм) безусловно принадлежит продукту гена А1 в печени млекопитающих всех исследованных видов, а также рыб. По данным Райка и сотрудников, цитохром P-450_c у крыс в 50 раз более активен в метаболизме БП, чем цитохром P-450_d /489/.

Действительно, истощенные антитела к форме P-450_c, то есть анти-P-450_c(-a), на 70% ингибируют реакцию гидроксирования 3,4-бензпирена в МХ-микросомах печени крыс. Ранее нами показано, что в микросомах печени крыс, индуцированных 2,3,7,8-ТХДД и МХ, процент ингибирования бензпирен-гидроксилазы неистощенными антителами превышает отметку 80 /18/. У МХ-мышей бензпирен-гидроксилазная реакция ингибируется истощенными антителами наполовину.

Обращает на себя внимание почти 100-процентное подавление в МХ-микросомах печени крыс анти-P-450_c(-a) реакции O-деэтилирования 7-этоксирезорифина. Эти данные поддерживают сделанный Генгричем и сотрудниками в 1982 г. вывод о том, что у крыс реакция деэтилирования 7-ЭОР сильно коррелирует ($r + 0,8$) с уровнем формы P-450_c и, таким образом, катализируется исключительно этой формой цитохрома P-450 /199/. Вместе с тем нами показано,

что в МХ-микросомах печени мышей эта реакция ингибируется анти-Р-450_{c(-d)} только на 30%.

С помощью истощенных антител против цитохрома Р-450_d (анти-Р-450_{d(-c)}) у крыс реакция 0-деэтилирования ингибируется на 20%, а в аналогичных микросомных препаратах мышей - на 80%. Анти-Р-450_{c(-d)} практически не оказывали влияния на бензпирен-гидроксилазную активность в МХ-микросомах печени крыс, а в МХ-микросомах печени мышей процент ингибирования составлял около 40.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что в индуцированных микросомах печени мышей реакцию 0-деэтилирования 7-этоксирезорифина ведет преимущественно форма Р₃-450, то есть продукт гена А2. Имеются данные /398/, что и у кроликов формой, ответственной за метаболизм 7-ЭОР, является L₄ (также продукт гена А2). Таким образом, деэтилаза 7-ЭОР может рассматриваться в качестве "маркерной реакции" на содержание продукта гена А1 только как частный случай у крыс, преиндуцированных 3-метилхолантеном и β-нафтофлавоном, но, например, не 2,3,7,8-ТХДД, как было показано нами ранее /19/.

Нечто подобное происходит и с таким субстратом, как ацетанилид. Нибертом и сотрудниками было показано его преимущественное (хотя и не столь выраженное) 4-гидроксилирование формой Р₃-450 в МХ-хромосомах печени мышей, но затем выяснилось, что у крыс и у людей эта активность почти полностью принадлежит продукту гена А1 /260/.

В лаборатории Бурке /99/, а затем в нашей лаборатории была зарегистрирована 7-ЭОР-деэтилазная активность только в преиндуцированных бенз(а)антраценом мутаген-стимулированных лимфоцитах периферической крови /15/. Ранее мы, исходя из данных, полученных в опытах на крысах, полагали, что эта активность в лимфоцитах человека принадлежит, как и бензпирен-гидроксилазная активность, продукту гена А1. В свете изложенных выше сведений необходимы эксперименты с истощенными антителами для выделения той формы цитохрома Р-450, которая катализирует деэтилазную реакцию. Не исключена возможность, что этой формой, как у мышей и кроликов, окажется продукт гена А2.

Поиск "маркерных субстратов" для формы цитохрома - продукта гена A2 - у человека чрезвычайно актуален в связи с тем, что эта форма фермента катализирует в печени млекопитающих реакцию N-гидроксилирования ариламинов, то есть биоактивацию этих ксенобиотиков. Необходимость проведения такого поиска обусловлена полученными Вебером данными о наследуемом полиморфизме N-ацетилирования (последующей за N-гидроксилированием реакции II фазы биотрансформации) ароматических аминов у людей и о чрезвычайно высоком факторе риска возникновения рака мочевого пузыря у особей - "слабых ацетиляторов" /627/.

Этот поиск затруднен, во-первых, техническими причинами: процедуры забора человеческого материала должны быть не инвазивными, а методы регистрации ферментативной активности - простыми, готовыми для скрининга и в то же время чувствительными и специфичными. Во-вторых, в экстраполяции экспериментальных данных на человека должно учитываться, что у грызунов индукция монооксигеназ ПАУ - "системная", а у человека она тканеспецифичная. Наконец, в-третьих, метаболизм ксенобиотиков у людей вариабелен, он регулируется как генетическими факторами, так и факторами окружающей среды.

В последние годы получили широкое распространение исследования на лимфоцитах периферической крови вследствие доступности этой ткани и возможности регистрировать в бласт-трансформированных лимфоцитах монооксигеназные активности диоксинового типа /203/. Ранее Джелбойну с сотрудниками с помощью моноклональных антител к крысиному цитохрому P-450_c удалось выявить их различный ингибирующий эффект на активность гидроксилирования бензпирена и 7-этоксикумарина. Ими было высказано предположение о наличии двух форм цитохрома P-450 в индуцированных 3-метилхолантеном лимфоцитах человека /157/, причем одна из этих форм была определена как идентичная форме, зарегистрированной в плаценте курящих женщин, где, по данным Вонга и сотрудников, присутствует только цитохром - продукт гена A1 /637/.

Нами с помощью неистощенных антител против цитохрома P-450_c и P-450_d удалось в реакции **Western Blot** зарегистрировать в индуцированных бензантраценом лимфоцитах крови людей две полосы окрашивания, принадлежащие полипептидам с м.м. 56 и 54 кДа. По-

сколькx в исследованиях с использованием этой техники в печени человека выявлено, что полипептид с меньшей электрофоретической подвижностью принадлежит цитохрому - продукту гена А1, а с большей - продукту гена А2, можно полагать, что данные цитохромы в исследованных нами лимфоцитах мигрируют в той же последовательности, что и в печени.

Если проблемы определения содержания и специфичной активности цитохрома - продукта гена А2 в тканях человека остаются пока нерешенными, то для гена А1 в одной из работ найден острomный термин "онкоген", поскольку у млекопитающих доказана ключевая роль фермента - продукта гена А1 в биоактивации таких проканцерогенов, как полициклические ароматические углеводороды. Определяющее значение в таких работах справедливо отводит инбредным мышам. Так, именно на мышах различных линий были выявлены контролируемые *Ah*-локусом мутагенные и канцерогенные эффекты ПАУ. При подкожном или интратрахеальном введении ПАУ у "чувствительных" к ПАУ-индукции цитохрома P₁-450 мышей (то есть у несущих аллель *Ah^b*) подкожные саркомы и карциномы сквамозных клеток бронхов (актуальная "человеческая" модель опухоли) появляются во много раз чаще, нежели у мышей, "устойчивых" к ПАУ-индукции /3/.

При многолетнем внеинбредном скрещивании мышей "чувствительных" и "устойчивых" линий в лаборатории Ниберта выяснили, что в гистограмме популяционного распределения индуцированной бензпирен-гидроксилазной активности наблюдается сдвиг влево, то есть преобладают особи с низкой экспрессией гена А1 /382/.

В этой связи показательно изучение популяционного распределения индуцибельности бензпирен-гидроксилазы в лимфоцитах периферической крови людей, где также выявлен сдвиг влево. После опубликования в 1984 г. совместной работы 6 ведущих лабораторий /302/, получил, наконец, "право гражданства" так называемый лимфоцитарный тест, позволивший оценивать в доступной для скринингового анализа ткани ферментативную активность продукта диоксигенового гена А1. Этот тест доказывает более высокую бензпирен-гидроксилазную активность в лимфоцитах больных первичным раком легкого. Нами установлено, что как среди больных, так и среди людей контрольной группы высокая индуцибельность фермента наблю-

дается у 80 - 85% заядлых курильщиков, что позволяет среди клинически здоровых курильщиков выявлять группы повышенного риска возникновения бронхогенной карциномы /7/.

Оказалась полезной другая, пришедшая из экспериментов на мышах, модель регулирующего влияния Ah-локуса на индуцирующие и канцерогенные эффекты ПАУ. Известно, что введение 3,4-бензапирена перорально вызывает апластическую анемию у гомозиготных по рецессивному аллелю Ah^d мышей, в то время как мыши - носители доминантного аллеля индуцибельности Ah^b, чувствительные к возникновению солидных опухолей на месте введения ПАУ, - крайне устойчивы к поражению миелодного ростка костного мозга при пероральном введении ПАУ. Это объясняется эффектом "first-pass elimination" /318/.

У устойчивых к индукции мышей почти в 20 раз большее количество ПАУ достигает клеток костного мозга и активизируется цитохромом P₁-450 до электрофильных продуктов, о чем свидетельствуют данные об ингибирующем влиянии α-нафтофлавона. Показано, что у мышей генотипа Ah^d/Ah^d, получавших бензапирен перорально, развивается лейкоз.

Представлялось важным проверить у людей аналогичную взаимосвязь скорости биоактивации маркерного ПАУ с частотой возникновения лейкоза. Оказалось, что у всех больных хроническим лимфолейкозом в моноцитах и митоген-стимулированных мононуклеарных клетках крови отсутствует какое-либо индуцирующее влияние бензантрацена. Еще предстоит оценить диагностическое и прогностическое значение этого феномена. По аналогии с данными, полученными в клеточных опухолевых линиях человека, необходимо с помощью высокопотентного индуктора семейства генов P-450I - 2, 3, 7, 8-ТХДД выяснить, не отражают ли полученные нами результаты генетического дефекта в средстве цитоплазматическо-го рецептора к ПАУ в ядродержащих клетках крови больных лейкозом.

Продолжал обсуждение межвидовых особенностей продуктов экспрессии индуцируемых 2, 3, 7, 8-ТХДД генов P-450IA1 и P-450IA2, приводим сравнение сходства (% гомологии) аминокислотных последовательностей десяти различных цитохромов у млекопитающих разных видов /301a/.

Из табл. 17 следует, что у животного одного вида (например у крысы) цитохром, кодируемый геном одного семейства, имеет не более 36% гомологии с цитохромами, кодируемыми генами других семейств. Цитохромы внутри одного подсемейства гомологичны в своей полипептидной структуре более чем на 70%, а цитохромы - продукты экспрессии генов разных подсемейств внутри одного семейства характеризуются 40 - 65-процентной схожестью с цитохромом, кодируемым геном другого подсемейства. Таким образом, цитохромы - продукты экспрессии идентичных генов у животных разных видов (а также у человека) обладают большим процентом гомологии, чем цитохромы, принадлежащие одному виду, но кодируемые генами разных подсемейств. В данном случае гомология аминокислотных последовательностей цитохромов P-450_c, P₁-450 (мышь, человек) и L₆ превышает 80%, а гомология P-450_d, P₃-450 (мышь, человек) и L₄ выше 73%, в то время как между собой цитохромы подсемейств A1 и A2 у каждого из видов гомологичны менее чем на 70%.

Данные по межвидовой гомологии аминокислотных последовательностей цитохромов (зачастую дедуцированные из нуклеотидной последовательности кДНК) подкрепляются результатами, полученными с помощью специфичных к каждой из форм моноклональных или поликлональных антител /167, 581, 586/.

Разработанная в последние годы техника молекулярного клонирования и анализа нуклеотидной последовательности кДНК изоформ цитохрома P-450 у индуцированных и интактных организмов разных видов позволила проследить эволюцию суперсемейства генов P-450 /381a/. На основе анализа структурной гомологии молекулярных форм P-450 у различных видов и концепции линейной дивергенции (1% изменений аминокислотной последовательности каждые 4 млн. лет), разработанной Кимурой и сотрудниками /288/, выявлена динамика дивергенции разных генов суперсемейства из общего предшественника, представленного ныне кДНК бактериального цитохрома P-450_{сам}. Так, семейство индуцируемых диоксином генов P-450I претерпело расхождение с генами других семейств примерно 200 млн. лет назад. Поскольку дивергенция генов цитохрома P-450 у видов "человек - грызуны" произошла примерно 80 млн. лет назад, у видов "роликки - грызуны" - 60 млн. лет назад и у видов

"крысы - мыши" - примерно 17 млн. лет назад, понятно, что человек, крысы, мыши и кролики несут оба индуцируемых 2,3,7,8-ТХДД гена семейства P-450I. По данным соотношения гомологии нуклеотидных и дедуцированных аминокислотных последовательностей цитохромов P-450IA1 и P-450IA2 следует, что эти гены дивергировали примерно 100 млн. лет назад /ЗВта/.

Таблица 17

Гомология индуцируемых 2,3,7,8-ТХДД цитохромов P-450IA1 и P-450IA2

	P ₃ - 450	P _I - 450	P ₃ - 450	P _I - 450	P- 450 _d	P- 450 _c	LM ₄	LM ₆	P- 450 _e
	(че- ловек)	(че- ловек)	(мышь)	(мышь)	(кры- са)	(кры- са)	(кро- лик)	(кро- лик)	(кры- са)
P _I -450 (человек)	72								
P ₃ -450 (мышь)	73	68							
P _I -450 (мышь)	69	80	73						
P-450 _d (крыса)	75	67	93	71					
P-450 _c (крыса)	68	79	69	93	70				
LM ₄ (кролик)	77	68	73	67	73	67			
LM ₆ (кролик)	65	71	60	72	59	72	65		
P-450 _e (крыса)	36	35	35	36	35	35	35	34	
P-450 (крыса)	30	≤ 25	32	≤ 25	32	33	31	25	32

Хотя в обзоре, как и имеющейся литературе, преобладают данные об индуцирующих эффектах 2,3,7,8-ТХДД и сходных соединений у грызунов, ряд работ посвящен индукции этим ксенобиотиком бензпирен-гидроксилазы у животных разных видов /165/, в частности у малого скота /58/, лягушек /124/, морских свинок /162/, коров /265/, в клетках животных разных видов /145, 237, 381а, 399, 415/. Особый интерес представляют исследования устойчивости к индукции 2,3,7,8-ТХДД бензпирен-гидроксилазы у золотистых хомячков /55/ (см. главу 4 о резистентности хомячков к токсическому влиянию 2,3,7,8-ТХДД) и в культивированных мутантных клетках /252, 259/.

В заключение главы приведем несколько работ, посвященных характеристикам генов, кодирующих цитохромы P-450IA1 и P-450IA2 у животных разных видов и у человека.

Молекулярно-генетические исследования данной проблемы прошли характерный путь от первого доказательства внутриклеточной рецепции 2,3,7,8-ТХДД и ПАУ, активации транскрипции и трансляции до современного уровня в изучении степени гомологии нуклеотидной последовательности генов, кодирующих структуру различных форм цитохрома P-450, и данных об обратной транскрипции мРНК в кДНК, из которой изолированы и охарактеризованы участки (клоны), гибридизирующиеся со структурными генами цитохромов. В целом технология рекомбинации участков ДНК считается сегодня самой перспективной в выявлении конкретного числа множественных форм микросомных монооксигеназ. Разумеется, при этом не умаляется роль исследований, выполненных с помощью методов белковой химии, биохимических и иммунохимических методов, анализа "пептидных карт", аминокислотной последовательности NH₂- и COOH-терминальных участков и др.

Клонированные последовательности ДНК (и в них нуклеотидные последовательности структурных генов), кодирующие индуцируемые 2,3,7,8-ТХДД и ПАУ цитохромы A1 и A2, были изолированы и охарактеризованы. Это относится к крысиным цитохромам P-450_c /155, 643/ и P-450_a /26, 156, 275/, к мышинным цитохромам P₁-450 (259, 376, 385а, 386а, 605/ и P₃-450 /188, 288, 604/, цитохромам LM₆ /409, 606/ и LM₄ /606/ и, наконец, к цитохромам человека P₁-450 /234, 253/ и P₃-450 /256, 260/.

Обращают на себя внимание, например, данные о длине и сходстве экзонов и интронов генов подсемейства P-450IA1, кодирующих у мышей, крыс и людей бензпирен-гидроксилазу /188, 259/ (см. табл. 18).

Таблица 18

Характеристики экзонов и интронов генов, кодирующих цитохромы P-450IA1 у крыс, мышей и человека

Локализация в гене	Длина (пары оснований)			Процент гомологии между:		
	P _I -450 (человек)	P _I -450 (мышь)	P-450 _c (крыса)	P _I -450 (человек) и P _I -450 (мышь)	P-450 _c (крыса) и P _I -450 (мышь)	P _I -450 и P ₃ -450 (мышь)
1	2	3	4	5	6	7
5'-фланкирующий участок	1604	823	564	55	75	23
Экзон 1	90	87	87	63	66	39
Интрон 1	2644	2360	2454	48	79	36
Экзон 2	851	851	851	80	91	81
Интрон 2	556	748	464	52	80	36
Экзон 3	127	127	127	90	96	55
Интрон 3	87	87	84	66	89	37
Экзон 4	90	90	90	91	94	73
Интрон 4	91	93	93	67	91	20
Экзон 5	124	124	124	90	96	85
Интрон 5	145	150	148	58	82	36
Экзон 6	87	87	87	87	94	78
Интрон 6	192	137	146	50	88	42
Экзон 7	1227	1255	1278	59	88	50
3'-фланкирующий участок	113	1771	304	37	75	36

Известно, что человек и крысы как виды дивергировали 80 млн. лет назад, а крысы и мыши - примерно 17 млн. лет назад. Гены мышей P₁-450 и P₃-450 разошлись путем дупликации примерно 100 млн. лет назад. Примечательно, что экзоны 2, 3, 4, 5 и 6 в гене P-450IAI человека, крысы и мыши остались практически неизменными по длине и за последние 80 млн. лет дивергировали только на 9 - 20% своих нуклеотидных последовательностей. Это предполагает, что функция данных экзонов тщательно сохранена; сохранение частей 5'-фланкирующего отрезка гена P-450IAI у млекопитающих разных видов позволяет говорить о присутствии здесь важных регуляторных элементов.

Действительно, из лабораторий Витлока /265/ и Ниберта /394/ одновременно были представлены данные, характеризующие такие элементы в 5'-фланкирующем участке мышинного гена P₁-450. Так, трансфекция гепатомных клеток Нера-I вектором, содержащим ген хлорамфениколацетилтрансферазы, позволила в мутантах pSV40-cat выявить участок в 300 оснований (от -1218 до -918), который авторы назвали чувствительным к диоксику усиливающим элементом транскрипции гена P₁-450 /394/. В другой работе в высокочувствительных к индукции 2,3,7,8-ТХДД клетках мышинной гепатомы с помощью сходной технологии было установлено, что чувствительные к 2,3,7,8-ТХДД домены ДНК удовлетворяют требованиям усилителей транскрипции, так как регулируют гетерологичные промоторы, остаются чувствительными к 2,3,7,8-ТХДД, даже когда варьирует расстояние от промотора, и, наконец, потому что усиливающий элемент требует взаимодействия с комплексом "2,3,7,8-ТХДД - Ah-рецептор" (так называемый **trans-acting factor**) /265/. Авторы выявили два таких домена со свойствами усилителей транскрипции, чувствительных к 2,3,7,8-ТХДД и не обладающих выраженной гомологией нуклеотидных последовательностей. В целом регуляторный элемент гена P₁-450 состоит из промотора, локализованного между нуклеотидами -45 и -8 и содержащего последовательность САТААА нуклеотидов от -30 до -25; ингибиторного домена, локализованного между нуклеотидами -1055 и -692 и блокирующего функцию промотора; двух структурно различных и функционально независимых чувствительных к 2,3,7,8-ТХДД доменов, локализованных между нуклеотидами -1014 и -1508 и нуклеотидами -1915 и -1682; также предполага-

ется, что последовательности между нуклеотидами -2263 и -1916 усиливают экспрессию гена P_I-450 /265/.

Транскрипционный уровень контроля (а не амплификация гена, см. /435/) показан в экспериментах по измерению возрастающего уровня мРНК для цитохромов P-450_c и P-450_d крыс /172, 221, 276/ P_I-450 и P₃-450 мышей /189, 287, 605/, цитохрома P_I-450 в лимфоцитах крови людей /259/.

Гибридационным анализом выявлено, что длина индуцированной 2,3,7,8-ТХДД мРНК для P_I-450 и P-450_c равна 2,9 тыс. оснований, для P₃-450 и P-450_d - 2,1 тыс. оснований, а для цитохромов человека, напротив, если длина мРНК для P_I-450 равна 2,8 тыс. оснований, то для P₃-450 - 3,4 тыс. оснований /108, 189, 259, 276, 605/.

Методами соматической гибридизации гены цитохромов P-450IA1 и P-450IA2 картированы на хромосомах млекопитающих разных видов /234, 258, 266, 270, 380, 385а, 386а/; в частности, гены цитохромов P_I-450 и P₃-450 локализованы на 15-й хромосоме человека (15q22-qter, около MPI), а у мышей - на 9-й хромосоме (Mid-9, около Mpi-1).

ВМЕСТО ЗАКЛЮЧЕНИЯ

О Т З Ы В

на аналитический обзор

"Хлорированные диоксины: биологические и медицинские аспекты",
подготовленный д-ром биол. наук И.Б. Цырловым

Представленный обзор является первым в отечественной литературе достаточно полным обобщением сведений о медицинских и биологических аспектах проблемы полихлорированных полициклических соединений типа диоксин, являющихся побочными продуктами многочисленных технологий. В нем в сжатом виде представлены основные сведения об эпидемиологических аспектах проблемы этих опасных ксенобиотиков, обобщены и критически оценены данные о биологической активности полихлорированных бифенилов (ПХБ), дибензо-*p*-диоксинов (ПХДД) и дибензофуранов (ПХДФ), метоболизм этих соединений в организмах, а также достижения в области изучения механизма нарушения этими ядами химического гомеостаза организмов.

По широте охвата, научной глубине и доступности изложения проблемы диоксина и родственных ему соединений обзор И.Б. Цырлова уникален. Он необходим работникам санитарно-эпидемиологической службы, медицинским работникам различных специальностей, научным работникам в области медицины, охраны природы и химии физиологически активных веществ, преподавателям высших учебных заведений медицинского и химического профиля. Существует острая необходимость в срочном издании этой книги, что послужит импульсом для развертывания в нашей стране фундаментально-прикладных ис-

следований в области медико-экологических проблем, связанных с накоплением в природе ксенобиотиков типа диоксин.

Для повышения прикладной ценности обзора в него желательно внести дополнительные сведения. Представляется необходимым расширить объем сведений по эпидемиологическим аспектам проблемы диоксина (глава I): привести перечень наиболее опасных ксенобиотиков из числа ПХДД, ПХДФ, ПХБ, указав их относительную опасность, более подробно рассмотреть известные источники этих ксенобиотиков, их миграцию в природе, перенос по цепям питания, биоаккумуляцию и пути поступления к человеку. В главе 2 следовало бы обобщить все сведения о биотрансформации ксенобиотиков типа диоксин и их предшественников, в том числе и о летальном синтезе более токсичных аналогов из нетоксичных или малотоксичных. Это данные о биохимических путях образования ПХДФ из ПХБ, ПХДД и ПХДФ из полихлорфенолов, их производных и дифениловых эфиров, а также восстановительное дехлорирование организмами высокохлорированных ПХДД и ПХДФ в более опасные тетра-, пента- и гексахлорпроизводные. Эти материалы весьма важны при оценке реальной опасности технологий, поставляющих в природу ксенобиотики типа диоксин. В главе 6 желательно дополнительно привести сведения о влиянии индукторов ФБ- и МХ-типа на биотрансформацию широко распространенных в природе ксенобиотиков из числа непредельных соединений, фосфор-, тиофосфорорганических соединений, карбаматов, замещенных мочевины и других веществ, биоактивация которых приводит к высокоактивным иммунодепрессантам, ингибиторам ацетилхолинэстеразы, нейротоксичным агентам, канцерогенам и др. Здесь же в сжатой форме следовало бы рассмотреть влияние индукторов ФБ- и МХ-типов на резистентность организмов к различным химическим агентам. Эти данные крайне важны для оценки перспективных путей создания безопасных для человека и природы практически ценных веществ и материалов.

А.Ф. Коломиец,
зав. лабораторией ИИЭСС
АН СССР, канд. хим. наук

8 октября 1988 года

1. Динерман А.А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития. - М.: Медицина, 1980. - 191 с.
2. Козлов В.А., Журавкин И., Цырлова И.Г. Стволовая цветочная клетка и иммунный ответ. - Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1982. - 221 с.
3. Ляхович В.В., Цырлов И.Б. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков. - Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1981. - 242 с.
4. Ляхович В.В., Цырлов И.Б. Структурные аспекты биохимии монооксигеназ. - Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1978. - 231 с.
5. Мизгирев И.В., Худолей В.В. // Эксперим. онкология. - 1985. - Т. 7, № 1. - С. 15.
6. Мишин В.М., Ляхович В.В. Множественные формы цитохрома P-450. - Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1985. - 181 с.
7. Остафьевский В.А., Наров Ю.Э., Цырлов И.Б. // Вопр. онкологии. - 1987. - № II. - С.62 - 65.
8. Тутельян В.А., Лашнева Н.В., Хан А.В. и др. // Цитохром P-450 и охрана внутренней среды человека. - Пушкино, 1985. - С. 81.
9. Худолей В.В. // Успехи соврем. биол. - 1984. - Т. 98, № 2. - С. 177 - 192.
10. Цырлов И.Б. Индукция ксенобиотиками и особенности функционирования мембраносвязанных монооксигеназ: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. - Л., 1982. - 44 с.
11. Цырлов И.Б. // Молекулярные механизмы клеточного гомеостаза. - Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1987. - С. 130-144.
12. Цырлов И.Б., Герасимов К.Е., Гуткина Н.И. и др. // Биохимия. - 1987. - Т. 52, № 8. - С. 1307 - 1315.
13. Цырлов И.Б., Громова О.А., Захарова Н.Е. и др. // Труды 3-го Всесоюз. биохим. съезда. - Рига, 1974. - С. 107.
14. Цырлов И.Б., Громова О.А., Рывкин И.Б. и др. // Биохимия.

1977. - Т. 42. - С. 1184 - 1194.
15. Цырлов И.Б., Дужак Т.Г., Часовникова О.Б. // Тез. докл. Всесоюз. конф. "Цитохром Р-450 и охрана окружающей среды". - Новосибирск, 1987. - С. 36.
 16. Цырлов И.Б., Захарова Н.Е., Ляхович В.В. // Докл. АН СССР. - 1975. - Т. 223, № 1. - С. 237 - 240.
 17. Цырлов И.Б., Ляхович В.В. // Успехи соврем. биологии. - 1979. - Т. 88. - С. 181 - 197.
 18. Цырлов И.Б., Часовникова О.Б., Гришанова А.Ю. и др. // Биохимия. - 1986. - Т. 51, № 4. - С. 579 - 589.
 19. Цырлов И.Б., Часовникова О.Б., Ляхович В.В. // Докл. АН СССР. - 1986. - Т. 290, № 5. - С. 1271 - 1273.
 20. Цырлова И.Г. Межсистемные взаимодействия в регуляции гуморального иммунитета: иммуносупрессорные клетки эритроидной природы: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. - М., 1987. - 48 с.
 21. Цырлова И.Г., Цырлов И.Б., Коалов В.А. // Цитология. - 1986. - № 1. - С. 102 - 105.
 22. Abdel-Hamid F.M., Moore J.A., Mattheus H.B. // J. Toxicol. Environ. Health. - 1981. - Vol. 7. - P. 181 - 191.
 23. Adams W.J., Blaine K.M. // Chemosphere. - 1985. - Vol. 15. - P. 1397 - 1400.
 24. Adams W.J., DeGraeve G.M., Sabauri T.O. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1503 - 1511.
 25. Addison R.E., Zink M.E., Willis D.E. // Comp. Biochem. Physiol. - 1978. - Vol. 61C. - P. 323 - 325.
 26. Adesnick M. // CRC Crit. Rev. Biochem. - 1986. - Vol. 19. - P. 247 - 305.
 27. Ahlborg U.G., Warn F., Hakansson H. // Abst. book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 53.
 28. Ahotupa M. Polychlorinated biphenyls and structurally related compounds as modifiers of drug-metabolizing enzyme activities: Acad. Diss. - Turku: University of Turku, 1984. - 133 p.

29. Ahotupa M., Aitio A. // *Toxicology*. - 1978. - Vol. 11. - P. 309 - 314.
30. Ahotupa M., Hietanen E., Nienstedt W. // *Adv. Physiol. Sci.* - 1981. - Vol. 29. - P. 421 - 431.
31. Ahotupa M., Mantyla E. // *Biochem. Pharmacol.* - 1983. - Vol. 32. - P. 261.
32. Ahotupa M., Mantyla E. // *Biochem. Pharmacol.* - 1983. - Vol. 32. - P. 2612 - 2615.
33. Ahotupa M., Mantyla E. // *Mol. Pharmacol.* - 1983. - Vol. 24. - P. 464 - 470.
34. Ahotupa M., Svolinna E.-M., Marniemi J. // *Amer. Toxicol. Suppl.* - 1977. - Vol. 1. - P. 277 - 279.
35. Aitio A., Parkki M.G. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1978. - Vol. 44. - P. 107 - 114.
36. Aitio A., Parkki M.G., Marniemi J. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1979. - Vol. 47. - P. 55 - 60.
37. Al-Bayati Z.A.F., Stone B.J., Al-Turk W.A. // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* - 1987. - Vol. 38. - P. 300 - 307.
38. Albro P.W., McKinney J.D. // *Chem.-Biol. Interactions.* - 1981. - Vol. 34. - P. 373.
40. Allen J.R., Hargraves W.A., Hsia M.T. et al. // *Pharmacol. Ther.* - 1979. - Vol. 7. - P. 513 - 518.
41. Allen J.R., Miller J.P., Norback D.H. // *Food Cosmet. Toxicol.* - 1975. - Vol. 13. - P. 501 - 505.
42. Alvarez A.P., Bickers D.R., Kappas A. // *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*. - 1973. - Vol. 70. - P. 1321.
43. Alvarez A.P., Kappas A. // *J. Biol. Chem.* - 1977. - Vol. 252. - P. 6373.
44. Alvarez A.P., Kappas A. // *Clin. Pharmacol. Ther.* - 1977. - Vol. 22. - P. 809.
45. Alvarez A.P., Kappas A. // *FEBS Letters*. - 1975. - Vol. 50. - P. 172 - 174.
46. Alfares A.P., Ueng T.-H., Eiseman J.L. // *Life Sci.* - 1982. - Vol. 30. - P. 747 - 751.
47. Anderson K.J., Leighty E.G., Takahashi M.T. // *J. Agric.*

- Food. Chem. - 1972. - Vol. 20. - P. 649 - 659.
48. Anderson R.S. // *Comp. Biochem. Physiol.* - 1978. - Vol. 60C. - P. 51 - 55.
 49. Anderson T., Pesonen M., Johansson C.B. // *Biochem. Pharmacol.* - 1985. - Vol. 34. - P. 3309.
 50. Andrews J.S., Woodrow M., Garrett W.A. et al. // *Abst. Book DIOXIN'87.* - 1987. - Vol. 1. - P. 111.
 51. Appel K.E., Hildebrandt A.G. et al. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 9 - 12.
 52. Appel K.E., Hildebrandt A.G., Link W. et al. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1825 - 1834.
 53. Arie G.T., Allen J.W., Doerr C.L. et al. // *Cancer Res.* - 1987. - Vol. 47. - P. 3388 - 3395.
 54. Arnold P.S., Garner R.C., Tierney B. // *Biochem. J.* - 1987. - Vol. 242. - P. 375 - 381.
 55. Atlas S.A., Boobis A.R., Felton J.S. et al. // *J. Biol. Chem.* - 1977. - Vol. 252. - P. 4712 - 4721.
 56. Atlas S.A., Taylor B.A., Divan B.A. et al. // *Genetics.* - 1976. - Vol. 83. - P. 537 - 550.
 57. Azais V., Pascal G., Arand M. et al. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1905 - 1908.
 58. Ball M., Papke O., Lis Z.A. et al. // *Abst. Book DIOXIN'87.* - 1987. - Vol. 2. - P. 165.
 59. Bandiera S., Safe S., Okey A.B. // *Chem.-Biol. Interactions.* - 1982. - Vol. 39. - P. 259.
 60. Bandiera S., Sawyer T.W., Campbell M.A. et al. // *Biochem. Pharmacol.* - 1983. - Vol. 32. - P. 3803.
 61. Bandiera S., Sawyer T.W., Campbell M.A. et al. // *Life Sci.* - 1982. - Vol. 31. - P. 517.
 62. Bannister R., Mason G., Kelley M. et al. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1909 - 1911.
 63. Barnes D.G., Berlin J., Glevery D. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1895 - 1903.
 64. Barthel E. // *Z. Erkrankungen der Atmungsorgane.* - 1976. - Bd. 146. - S. 266.

65. Bartsch H., Malaveille C. // ISI Atlas of Science. - 1987. - P. 1 - 21.
66. Beatty P.W., Vaughn W.K., Neal R.A. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1978. - Vol. 45. - P. 513 - 519.
67. Beck H., Eckart K., Kellert M. et al. // Abst. Book DIOXIN '86. - P. 134.
68. Bend J.R., Pohl R.J., Davidson N.P. et al. // Bull. Desert Inst. - 1974. - Vol. 14. - P. 7 - 11.
69. Berg M., Heeremus C., Weerman L. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1477 - 1487.
70. Berg M. van den, Jongh J. de, Eckhardt P. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 143.
71. Berg M. van den, Poigen H. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 144.
72. Berry D.L., Slaga T.J., DiGiovanni J. et al. // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1979. - Vol. 320. - P. 405 - 415.
73. Berry D.L., Slaga T.J., Wilson N.M. et al. // Biochem. Pharmacol. - 1977. - Vol. 26. - P. 1383 - 1388.
74. Bertazzi P.A., Zocchetti C., Radice L. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 87.
75. Bickers D.R., Harber L.C., Kappas A. et al. // Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. - 1972. - Vol. 3. - P. 505 - 512.
76. Bickers D.R., Kappas A., Alvares A.P. // J. Pharmacol. Exp. Ther. - 1974. - Vol. 188. - P. 300 - 309.
77. Bigelow S.W., Zislastra J.A., Vogel E.W. et al. // Arch. Toxicol. - 1985. - Vol. 56. - P. 219 - 225.
78. Billings R.E., McMahon R.E. // Mol. Pharmacol. - 1978. - Vol. 14. - P. 145.
79. Binns W., Balls L. // Teratology. - 1971. - Vol. 4. - P. 249.
80. Biometrics Research Laboratories: Evaluation of the Carcinogenic, Teratogenic and Mutagenic Activity of Selected Pesticides and Industrial Chemicals. - NTIS Publ. N PB-223160. - Springfield, 1968. - Vol. 2.

81. Birmingham B., Clement R., Harding D. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1835 - 1850.
82. Birnbaum L.S., Decad G.M., Matthews H.B. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1980. - Vol. 55. - P. 342 - 352.
83. Birnbaum L.S., Decad G.M., Matthews H.B. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1981. - Vol. 57. - P. 189 - 196.
84. Birnbaum L.S., Weber H., Harris M.W. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1985. - Vol. 77. - P. 292 - 302.
85. Blair E.H. Chlorodioxins - Origin and Fate: ACS Monogr. - Washington: Amer. Chem. Soc., 1973. - N 120. - 141 p.
86. Boobis A.R., Caldwell J., Matteis F. de et al. Microsomes and Drug Oxidations. - London - Philadelphia: Taylor & Francis, 1985. - 428 p.
87. Boobis A.R., Nedert D.W. // Adv. Enzyme Regul. - 1977. - Vol. 15. - P. 339.
88. Boobis A.R., Nebert D.W., Felton J.S. // Mol. Pharmacol. - 1977. - Vol. 13. - P. 259 - 268.
89. Boreiko C.J., Dorman B.H. // Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. - 1984. - Vol. 25. - P. 143 - 145.
90. Bowman R.E., Shentz S.L., Gross M.L. et al. // Abst. book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 45.
91. Bowman R.E., Schentz S., Weerasinghe N.C.A. et al. // Ibid. - P. 47.
92. Bradlaw J.A., Garthoff L.H., Hurley N.E. et al. // Food Cosmet. Toxicol. - 1980. - Vol. 18. - P. 627 - 635.
93. Brandfield C. // Abst. book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 10.
94. Braun W.H., Sauerhoff M.W. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1976. - Vol. 8. - P. 525 - 533.
95. Braun W.H., Young J.D., Blau G.E. et al. // Ibid. - 1977. - Vol. 41. - P. 395 - 406.
96. Brower D. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1699 - 1709.
97. Brusik D.J. // Chemical Induction of Cancer. Orlando-San Diego - N.Y. - London: Acad. Press. - 1985. - Vol. 1118. - P. 481 - 521.

98. Bunyan P.J., Page J.M.J. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1978. - Vol. 43. - P. 507 - 518.
99. Burke M.D., Mayer R.T., Kouri R.E. // Cancer Res. - 1977. - Vol. 37. - P. 460 - 464.
100. Burke M.D., Thompson S., Elcombe C.R. et al. // Biochem. Pharmacol. - 1985. - Vol. 34. - P. 3337 - 3345.
101. Burt D.W., Storm L.W. // J. Ariz. Acad. Sci. - 1973. - Vol. 8. - P. 6 - 11.
102. Butschak G., Teichmann B., Scheunig G. et al. // Acta Biol. Med. Germ. - 1978. - Vol. 37. - P. 969 - 977.
103. Butte W., Juhl U. // Abst. Book DIOXIN⁸⁷. - 1987. - Vol. 2. - P. 139 - 141.
104. Cantoni L., Salmona M., Rizzardini M. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1981. - Vol. 57. - P. 156 - 163.
105. Carlstedt-Duke J. // Cancer Res. - 1979. - Vol. 39. - P. 3172 - 3176.
106. Carlstedt-Duke J., Gillner M., Hansson L.A. // Biochemistry, Biophysics and Regulation of Cytochrome P₄₅₀, Amsterdam - N.Y. - Oxford: Elsevier, 1980. - P. 147 - 154.
107. Chabra R.S., Iredger J.W., Philpot R.M., Fouts J.R. // Life Sci. - 1975. - Vol. 15. - P. 123 - 130.
108. Chen Y.-T., Negishi M. // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1982. - Vol. 104. - P. 641 - 648.
109. Chiu P.-L., Yang S.K. // Cancer Res. - 1986. - Vol. 46. - P. 5084 - 5094.
110. Chu I., Secours V., Villeneuve D.C., Viau A. // Bull. Environ. Contam. Toxicol. - 1977. - Vol. 18. - P. 177 - 183.
111. Chuang C.Y., Chen Y.R., Chen C.J. et al. // Abst. Book DIOXIN⁸⁷. - 1987. - Vol. 1. - P. 89.
112. Clarke J.U. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 275.
113. Clark D.A., Gauldie J., Sweeney G. // Biological Mechanism of Dioxin Action. - 1984. - P. 421 - 434.
114. Collins T.F.X., Williams C.H. // Bull. Environ. Contam. Toxicol. - 1971. - Vol. 6. - P. 559 - 565.

115. Cook R.R., Bodner K.M. // Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds. - N.Y. - London: Plenum Press, 1984. - P. 593 - 603.
116. Cook R.R., Boud G.G., Olson R.A. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1769 - 1776.
117. Coon M.J., Koop D.R., Black S.D. // Genetic Variable Response to Chemical Exposure. - N.Y.: Cold Spring Harbor, 1984. - P. 51 - 63.
118. Cooper D.Y., Schleyer H., Rosenthal O. et al. // Eur. J. Biochem. - 1977. - Vol. 74. - P. 69 - 75.
119. Corbett J., Albro P.W., Chae K. et al. // Chem.-Biol. Interactions. - 1982. - Vol. 39. - P. 331.
120. Courtney K.D., Gaylor D.F., Hogan M.D. et al. // Sciences. - 1970. - Vol. 168. - P. 864 - 872.
121. Courtney K.D., Mocre J.A. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1971. - Vol. 20. - P. 396 - 406.
122. Couson F.M., Nebert D.W., Gielen J.E. // Mol. Pharmacol. - 1972. - Vol. 8. - P. 667 - 676.
123. Cow K.D. // Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds. - N.Y., London: Plenum Press, 1984. - P. 605 - 613.
124. Czyczwa J., Pitts G., Aichele D. et al. // Abst. book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 187.
125. Dalgaard-Mikkelsen S., Poulsen E. // Pharmacol. Rev. - 1962. - Vol. 14. - P. 225 - 239.
126. Dannan G.A., Sleight S.D., Fraker P.J. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1982. - Vol. 64. - P. 187 - 203.
127. D'Argy R., Hassoun E., Dencker L. // Toxicol. Lett. - 1984. - Vol. 21. - P. 197 - 203.
128. Davidson E.H., Britten P.J. // Quar. erly Rev. Biol. - 1973. - Vol. 48. - P. 565 - 613.
129. Decad G.M., Birnbaum L.S., Matthews H.B. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1981. - Vol. 59. - P. 231 - 240.
130. Decad G.M., Birnbaum L.S., Matthews H.B. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1981. - Vol. 59. - P. 564 - 573.

131. Dees J.H., Masters B.S.S., Muller-Eberhard U. et al. // *Cancer Res.* - 1982. - Vol. 42. - P. 1423 - 1432.
132. Denison M.S., Vella C.M., Okey A.B. // *J. Biol. Chem.* - 1986. - Vol. 261. - P. 3987 - 3995.
133. Denison M.S., Wilkinson C.F., Okey A.B. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1665 - 1672.
134. DiGiovanni J., Berry D.L., Gleason G.L. et al. // *Cancer Res.* - 1980. - Vol. 40. - P. 1580 - 1589.
135. DiGiovanni J., Berry D.L., Slaga T.J. et al. // *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: Ann. Arbor Science Publ.* - Ann. Arbor, 1979. - P. 553 - 573.
136. Di-Giovanni J., Slaga T.J. // *Polycyclic Hydrocarbons and Cancer.* - N.Y. - London - Toronto - Sydney - San Francisco: Acad. Press, 1981. - Vol. 3. - P. 259 - 292.
137. Di-Giovanni J., Slaga T.J., Berry D.L. et al. // *Carcinogenesis.* - N.Y.: IRL Press, 1980. - Vol. 5. - P. 145 - 168.
138. Di-Giovanni J., Slaga T.J., Berry D.L. et al. // *Drug Metab. Dispos.* - 1979. - Vol. 5. - P. 595 - 601.
139. Domino E.F., Fivenson D.P., Domino S.E. // *Ibid.* - 1980. - Vol. 8. - P. 332 - 336.
140. Donnelly K.C., Jones D., Safe S. // *Chemosphere.* - 1986. - 1986. - Vol. 15. - P. 1961 - 1964.
141. Dougherty W.H., Coulston F., Golbert C. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1973. - Vol. 25. - P. 442 - 447.
142. Doyle E.A., Fries G.F. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1745 - 1748.
143. Ecobichon D.J., Comeau A.M. // *Chem. - Biol. Interactions.* - 1974. - Vol. 9. - P. 341 - 350.
144. Ecobichon D.J., Comeau A.M. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1975. - Vol. 33. - P. 94 - 105.
145. Eisen H.J., Schecter A., Cresteil T. et al. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1965 - 1970.
146. ElMouelhi M., Sidolkar M.S., Elias E.G. et al. // *Cancer Res.* - 1987. - Vol. 47. - P. 460 - 466.

147. Elshourbagy N.A., Cuzelien P.S. // J. Biol. Chem. - 1980.
- Vol. 255. - P. 1279.
148. Estabrook R.W., Lindenlaub E. The Induction of Drug Metabolism. - Stuttgart - N.Y.: Schattauer Verlag, 1979. - 645 p.
149. Evans R.G., Webb K.B., Knutsen A.P. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 90 - 91.
150. Fahl W.E., Scarpelli D.G., Gill K. // Cancer Res. - 1981. - Vol. 41. - P. 3400 - 3406.
151. Farrell K., Safe L., Safe S. // Abst. book DIOXIN'86. - 1986. - P. 69.
152. Farrell K., Safe L., Safe S. // Abst. book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 232.
153. Fouts J. // Trends Pharmacol. Sci. - 1982. - Vol. 3. - P. 164 - 165.
154. Frolin L., Anderson T. // Comp. Biochem. Physiol. - 1981. - Vol. 68C. - P. 239 - 242.
155. Fujii-Kiriyama Y., Sogawa K., Mizukami Y. et al. // P-450 and Chemical Carcinogenesis. - N.Y. - London: Japan Sci. Soc. Press, Plenum Press. - 1985. - P. 157 - 169.
156. Fujii-Kiriyama Y., Sogawa K., Suwa Y. et al. // Microsomes and Drug Oxidations. - London - Philadelphia: Taylor & Francis. - 1985. - P. 107 - 117.
157. Fujino T., Park S.S., West D. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. (USA). - 1982. - Vol. 79. - P. 3682 - 3686.
158. Fujita S., Suzuki M., Peisach J. et al. // Chem.-Biol. Interactions. - 1984. - Vol. 52. - P. 15.
159. Furst P., Kruger C., Weemken M.A. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 102.
160. Gaines T.B., Holson J.F., Nelson C.J. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1975. - Vol. 33. - P. 174 - 184.
161. Gasiewicz T.A., Gieger L.E., Rucci G. et al. // Drug Metab. Dispos. - 1983. - Vol. 11. - P. 397 - 403.
162. Gasiewicz T.A., Henry E.C., Baggs R.B. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1749 - 1752.

163. Gasiewicz T., Neal R.A. // *Analyt. Biochem.* - 1982. - Vol. 124. - P. 1 - 11.
164. Gasiewicz T.A., Neal R.A. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1979. - Vol. 51. - P. 329 - 339.
165. Gasiewicz T.A., Olson J.R., Geiger L.H. et al. // *Human and Environmental Risks of Chlorinated Dioxin and Related Compounds.* - N.Y.: Plenum Press, 1984. - P. 495 - 525.
166. Geiger L.E., Neal R.A. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1981. - Vol. 59. - P. 125 - 130.
167. Gelboin H.V., Friedman F.K. // *Biochem. Pharmacol.* - 1985. - Vol. 34. - P. 2225 - 2234.
168. Gelboin H.V., Whitlock J.P. // *The Induction of Drug Metabolism.* - Stuttgart - N.Y.: Schattauer, 1979. - P. 67 - 69.
169. Gerhart E.H., Carlson R.M. // *Environ. Res.* - 1978. - Vol. 17. - P. 284 - 295.
170. Geyer H.J., Scheunert I., Fiber J.G. et al. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1495 - 1502.
171. Ghiasuddin S.M., Menzer R.E., Nelson J.O. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1976. - Vol. 36. - P. 187.
172. Giachelli C.M., Omiecinski C.J. // *Mol. Pharmacol.* - 1987. - Vol. 31. - P. 477 - 484.
173. Gianini E., Prati M., Vismara G. // *Environ. Res.* - 1982. - Vol. 27. - P. 74 - 81.
174. Gianini E., Prati M., Vismara G. // *Ibid.* - 1983. - Vol. 31. - P. 105 - 109.
175. Gielen J.E., Goujon F.M., Nebert D.W. // *J. Biol. Chem.* - 1972. - Vol. 247. - P. 1125 - 1137.
176. Gilbert P., Saint-Ruf G., Poncelet F. et al. // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* - 1980. - Vol. 9. - P. 533 - 561.
177. Gilbertson M., Fox G.A. // *Human and Environmental Risks of Chlorinated Dioxins and Related Compounds.* - N.Y. - London: Pergamon Press, 1984. - P. 341 - 356.

178. Gillner M., Ferustrom B., Gustafsson J.-A. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1673 - 1680.
179. Glatt H.R., Billings R., Platt K.L. et al. // Cancer Res. - 1981. - Vol. 41. - P. 270.
180. Glusker J.P. // Polycyclic Hydrocarbons and Cancer. - N.Y. - London - Toronto: Acad. Press, 1981. - Vol. 3. - P. 61 - 116.
181. Goldstein J.A., Friesen M., Scotti T.M. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1978. - Vol. 46. - P. 633 - 649.
182. Goldstein J.A., Hass J.R., Linko P. et al. // Drug Metab. Dispos. - 1978. - Vol. 6. - P. 258.
183. Goldstein J.A., Hickman P., Bergman H. et al. // Chem. Biol. Interactions. - 1977. - Vol. 17. - P. 69.
184. Goldstein J.A., Linko P. // Mol. Pharmacol. - 1984. - Vol. 25. - P. 185 - 191.
185. Goldstein J.A., Linko P., Luster M.I. et al. // J. Biol. Chem. - 1982. - Vol. 257. - P. 2702.
186. Goldstein J.A., Linko P., McKinney J.D. et al. // Biochem. Pharmacol. - 1981. - Vol. 30. - P. 1008 - 1011.
187. Goldstein J.A., Weaver R., Sundheimer D.W. // Cancer Res. - 1984. - Vol. 44. - P. 3768.
188. Gonzalez F.J., Kimura S., Nebert D.W. // J. Biol. Chem. - 1985. - Vol. 260. - P. 5040 - 5049.
189. Gonzalez F.J., Tukey R.H., Nebert D.W. // Mol. Pharmacol. - 1984. - Vol. 26. - P. 117 - 121.
190. Gorrod J.W., Manson D. // Xenobiotica. - 1986. - Vol. 16. - P. 933 - 955.
191. Goto M., Sugiura K., Hattari M. et al. // Chemosphere. - 1974. - Vol. 5. - P. 227.
192. Graham M., Hileman F.O., Orth R.G. et al. // Ibid. - 1986. - Vol. 15. - P. 1595 - 1600.
- 192a. Grant W.R. // Mutation Res. - 1979. - Vol. 65. - P. 83 - 93.
193. Grel W., Klein W., Coulston F. et al. // Bull. Environ. Contam. Toxicol. - 1975. - Vol. 13. - P. 424.

194. Greenlee W.F., Dold K.W., Osborne R. // Biological Mechanisms of Dioxin Action. - 1984. - P. 435 - 440.
195. Greenlee W.F., Poland A. // J. Pharmacol. Exp. Ther. - 1978. - Vol. 205. - P. 596 - 665.
196. Greig J.B., De Matteis F. // Environ. Health Perspect. - 1973. - Vol. 5. - P. 211 - 219.
197. Guengerich F.P. // ISI Atlas of Science: Pharmacology. - 1987. - P. 205 - 207.
198. Guengerich F.P., Dannan G.A., Wright S.T. et al. // Biochemistry. - 1982. - Vol. 21. - P. 6019 - 6030.
199. Guengerich F.P., Dannan G.A., Wright S.T. et al. // Xenobiotica. - 1982. - Vol. 12. - P. 701 - 716.
200. Guengerich F.P., Mason P.S. // Mol. Pharmacol. - 1979. - Vol. 15. - P. 154 - 164.
201. Guengerich F.P., Wang P., Davidson N.K. // Biochemistry. - 1982. - Vol. 21. - P. 1698 - 1706.
202. Guenther T.M., Nebert D.W. // J. Biol. Chem. - 1977. - Vol. 252. - P. 8981 - 8989.
203. Guenther T.M., Nebert D.W. // Eur. J. Biochem. - 1978. - Vol. 91. - P. 449 - 456.
204. Guenther T.M., Negishi M., Nebert D.W. // Analyt. Biochem. - 1979. - Vol. 96. - P. 201 - 207.
205. Guenther T.M., Poland A.P., Nebert D.W. // Fed. Proc. - 1976. - Vol. 35. - P. 282.
206. Haake J.M., Merrill J.C., Safe S. // Can. J. Physiol. Pharmacol. - 1985. - Vol. 63. - P. 1096 - 1100.
207. Hahn M.E., Gasiewicz T.A., Goldstein J.A. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1691 - 1698.
208. Hakansson H., Elert A., Ahlberg U.G. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 56.
209. Hakansson H., Ahlberg U.G., Gottling L. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1715 - 1723.
210. Hakansson H., Johansson L., Manzoor E. et al. // Abstr. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 55.
211. Hankinson O., Anderson R.D., Birren B.W. et al. // J. Biol. Chem. - 1985. - Vol. 260. - P. 1790 - 1795.

212. Hannah R.R., Nebert D.W., Eisen H.J. // *Ibid.* - 1981. - Vol. 256. - P. 4584 - 4590.
213. Hansell M.M., Ecobichon D.J., Comeau A.M. et al. // *Exp. Mol. Pathol.* - 1977. - Vol. 26. - P. 75.
214. Hanson D.J. // *Chem. News.* - 1987. - Vol. 65, N 45. - P. 7 - 14.
215. Hansen W.H., Quaife M.L. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1972. - Vol. 21. - P. 165 - 174.
216. Hansen W.H., Quaife M.L., Haberman R.T. et al. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1971. - Vol. 20. - P. 122 - 132.
217. Harada N., Omura T. // *J. Biochem.* - 1981. - Vol. 89. - P. 237.
218. Hardwick J.P., Lonko P., Goldstein J.A. // *Mol. Pharmacol.* - 1985. - Vol. 27. - P. 676 - 682.
219. Hardell L. // *Lakartidningen.* - 1977. - Vol. 74. - P. 2753.
220. Hardel L., Eriksson M., Lenner P. et al. // *Brit. J. Cancer.* - 1981. - Vol. 43. - P. 169.
221. Hardwick J.P., Linko P., Goldstein J.A. // *Fed. Proc.* - 1984. - Vol. 43. - P. 1475.
222. Hardwick J.P., Linko P., Goldstein J.A. // *Mol. Pharmacol.* - 1985. - Vol. 27. - P. 676.
223. Harris C.C., Weston A., Willey J.C. et al. // *Abst. VII Intern. Symp. Microsomes Drug. Oxidations, Adelaide.* - 1987. - P. 41.
224. Hart E.R., Valerio M.G. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1972. - Vol. 22. - P. 317 - 327.
225. Hassoun E., d'Argy R., Dencker L. // *J. Toxicol. Environ. Health.* - 1984. - Vol. 14. - P. 337 - 351.
226. Hassoun E., d'Argy R., Dencker L. // *Toxicologist.* - 1983. Vol. 3. - P. 67 - 72.
227. Haugen D.A., Coon M.J., Nebert D.W. // *J. Biol. Chem.* - 1976. - Vol. 251. - P. 1817 - 1827.
228. Helder T., Seinen W. // *Abst. Book DIOXIN'87.* - 1987. - Vol. 2. - P. 173.

229. Helder Th., Seinen W. // *Ibid.* - 1987. - Vol. 2. - P. 150, 173.
230. Helder Th., Seinen W. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1165 - 1172.
231. Henry E.C., Gasiewicz T.A. // *Chem. - Biol. Interactions.* - 1986. - Vol. 59. - P. 29 - 42.
232. Herbold B.A., Machefer L., Rohrborn G. // *Teratog. Carcinog. Mutagen.* - 1982. - Vol. 2. - P. 91 - 99.
233. Hesse S., Wolf T. // *Biochem. Pharmacol.* - 1977. - Vol. 26. - P. 2043.
234. Hildebrand C.E., Gonzalez F.J., McBride O.W. et al. // *Nucleic Acids Res.* - 1985. - Vol. 13. - P. 2009 - 2016.
235. Hiremath C., Bayard S., Thorslung T. // *Abst. Book DIOXIN'87.* - 1987. - Vol. 2. - P. 243.
236. Hiremath C., Bayliss D., Bayard S. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1815 - 1823.
237. Ho D., Gill K., Fahl W.E. // *Mol. Pharmacol.* - 1983. - Vol. 23. - P. 198 - 205.
238. Hoffman R.E., Stehr-Green P.A., Webb K.B. et al. // *JAMA.* - 1986. - Vol. 255. - P. 2031 - 2038.
239. Hong R., Taylor K., Abonour R. // *Abst. book DIOXIN'87.* - 1987. - Vol. 1. - P. 57.
240. Hood R.D., Patterson B.L., Thacker C.T. et al. // *J. Environ. Sci. Health.* - 1979. - Vol. C13. - P. 189 - 192.
241. Hook G.E.R., Haseman J.K., Lucier G.W. // *Chem.-Biol. Interactions.* - 1975. - Vol. 10. - P. 199 - 214.
242. Houser W.H., Zielinski R., Bresnick E. // *Arch. Biochem. Biophys.* - 1986. - Vol. 251. - P. 361 - 368.
243. Huong L.D., Phucng N.T.N. et al. // *Abst. Book DIOXIN'86.* - 1986. - P. 171.
244. Huong L.D., Phuong N.T.N., Thuy T.T. et al. // *Ibid.* - 1986. - P. 172.
245. Huong G.D., Phuong N.T.N., Thuy T.T. et al. // *Abst. book DIOXIN'87.* - 1987. - Vol. 2. - P. 175.

246. Hussain S., Ehrenberg L., Lofroth G. et al. // *Ambio.* - 1972. - Vol. 1. - P. 32 - 38.
247. Hutzinger O., Nash D.M., Safe S. et al. // *Science.* - 1972. - Vol. 178. - P. 312.
248. IARC: Some Fumigants the Herbicides 2, 4-D and 2, 4, 5-T, Chlorinated Dibenzodioxins and Miscellaneous Industrial Chemicals: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to man. - Lyon.: Int. Agency Res. Cancer, 1977. - Vol. 15.
249. Imai Y. // *J. Biochem. (Tokyo).* - 1979. - Vol. 86. - P. 1697.
250. Innes J.R.M., Ulland B.M., Valerio M.G. et al. // *J. Nat. Cancer Inst.* - 1969. - Vol. 42. - P. 1101 - 1121.
251. Inoue K., Takanaka A., Mizokami K. et al. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1981. - Vol. 59. - P. 540 - 547.
252. Israel D.I., Whitlock J.P. // *J. Biol. Chem.* - 1984. - Vol. 259. - P. 5400 - 5402.
253. Iversen P.L., Heiger W.J., Bresnick E. et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* - 1987. - Vol. 256. - P. 397 - 401.
254. Jacob J., Grimmer G., Raab G. et al. // *Xenobiotica.* - 1982. - Vol. 12. - P. 45.
255. Jacobson I., Yllner B. // *Acta Pharmacol. Toxicol.* - 1971. - Vol. 29. - P. 513 - 524.
256. Jaiswal A.K., Gonzalez F.J., Nebert D.W. // *Nucl. Acids Res.* - 1985. - Vol. 13. - P. 4503 - 4520.
257. Jaiswal A.K., Gonzalez F.J., Nebert D.W. // *Science.* - 1985. - Vol. 228. - P. 80.
258. Jaiswal A.K., Nebert D.W. // *Nucl. Acids Res.* - 1986. - Vol. 14. - P. 4376.
259. Jaiswal A.K., Nebert D.W., Eisen H.W. // *Biochem. Pharmacol.* - 1985. - Vol. 34. - P. 2721 - 2731.
260. Jaiswal A.K., Nebert D.W., McBride O.W. et al. // *J. Expt. Pathol.* - 1987. - Vol. 3. - P. 1 - 17.
261. Johnson E.C., Schwab G.E., Muller-Eberhard U. // *Mol. Pharmacol.* - 1979. - Vol. 15. - P. 708 - 718.

262. Johnson E.C., Muller-Eberhard U. // J. Biol. Chem. - 1977. - Vol. 252. - P. 2839 - 2845.
263. Johnstone G.J., Ecobichon D.J., Hutzinger O. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1974. - Vol. 28. - P. 66 - 81.
264. Jones G., Batter W.H. // J. Pathol. - 1974. - Vol. 112. - P. 93 - 97.
265. Jones P.B.C., Durrin L.K., Fisher J.M. et al. // J. Biol. Chem. - 1986. - Vol. 261. - P. 6647 - 6650.
266. Jones P.B.S., Miller A.G., Israel D.I. et al. // J. Biol. Chem. - 1984. - Vol. 259. - P. 12357 - 12363.
267. Juchau M.R., Bark D.H., Shewey L.M. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1985. - Vol. 81. - P. 533.
268. Kahl G.F., Kahl R., Kumaki K. et al. // J. Biol. Chem. - 1976. - Vol. 251. - P. 5397 - 5407.
269. Kahn P.C., Gochfeld M., Nygren M. et al. // JAMA. - 1988. - Vol. 259. - P. 1661 - 1667.
270. Kalow W. // Eur. J. Clin. Pharmacol. - 1987. - Vol. 31. - P. 633 - 642.
271. Kamataki T., Kato R. // P-450 and Chemical Carcinogenesis. - N.Y. - London: Japan Sci. Soc. Press, 1985. - P. 81 - 91.
272. Kamataki T., Maeda K., Yamazaki Y. et al. // Mol. Pharmacol. - 1983. - Vol. 24. - P. 146 - 154.
273. Kaminsky L.S., Kennedy M.W., Adams S.M. et al. // Biochemistry. - 1981. - Vol. 20. - P. 7379.
274. Kaminsky L.S., Piper L.J., Martin D.N. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1978. - Vol. 43. - P. 372.
275. Karon J.M., Flanders W.O., Devine O.J. et al. // Abst. Book DIXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 98.
- 275a. Karenlampi S.O., Gudas J.M., Hankinson O. // Proc. 5th Int. Conf. Biochem. Biophys. Induction of Cytochrome P-450, Budapest. - 1985. - P. 1 - B.
276. Kawajiri K., Gohon O., Sogawa K. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. - 1984. - Vol. 81. - P. 1649 - 1653.
277. Kawajiri K., Gotoh O., Tagashira Y. et al. // J. Biol.

- Chem. - 1984. - Vol. 259. - P. 10145 - 10149.
278. Kawashima Y., Kato H., Nakajima S. et al. // *Biochem. Pharmacol.* - 1984. - Vol. 33. - P. 241 - 249.
279. Kegana E.E., Norris L.A. // *Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds.* - N.Y., London: Plenum Press, 1984. - P. 277 - 291.
280. Kennedy M.W., Carpentier N.K., Dymerski P.P. et al. // *Biochem. Pharmacol.* - 1980. - Vol. 29. - P. 727.
281. Kennedy M.W., Carpentier N.K., Dymerski P.P. et al. // *Ibid.* - 1981. - Vol. 30. - P. 577.
282. Kennel S.J., Wason G., Safe S. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 2007 - 2010.
283. Kester J.E., Gasiewicz T.A. // *Arch. Biochem. Biophys.* - 1987. - Vol. 252. - P. 606 - 625.
284. Kester J.E., Gasiewicz T.A. // *Biochem. Biophys. Acta.* - 1987. - Vol. 925. - P. 109 - 116.
285. Khara K.S., McKinley W.P. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1972. - Vol. 22. - P. 14 - 19.
286. Khara K.S., Ruddick J.A. // *Chlorodioxins - Origin and Fate: ACS Monographs.* / Amer. Chem. Soc. - 1973. - N 120. - P. 70 - 120.
287. Kimura S., Donovan J.C., Nebert D.W. // *J. Expt. Pathol.* - 1987. - Vol. 3. - P. 61 - 74.
288. Kimura S., Gonzales F.J., Nebert D.W. // *Nucl. Acids Res.* - 1984. - Vol. 12. - P. 2917 - 2928.
289. Kimbrough R.D. // *CRC Crit. Rev. Toxicol.* - 1974. - Vol. 2. - P. 445.
290. Kimbrough R.D. *Halogenated biphenyls, terphenyls, naphthalenes, dibenzodioxins and related products.* - Amsterdam: Elsevier/North-Holland, 1980. - 312 p.
291. Kimbrough R.D. // *Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds.* - N.Y., London: Plenum Press, 1984. - P. 5 27 - 538.
292. Kimbrough R.D. // *Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds.* - N.Y., London:

- Plenum Press, 1984. - P. 563 - 573.
293. King C.T.G., Horigan E.A., Wilk A.L. // *Teratology*. - 1971. - Vol. 4. - P. 233 - 240.
294. King M.E., Shefner A.M., Bates R.R. // *Environ. Health Perspect.* - 1973. - Vol. 5. - P. 163 - 171.
295. Kitchin K.T., Wood J.S. // *Mol. Pharmacol.* - 1978. - Vol. 14. - P. 890 - 899.
296. Kochman S., Behard J., Cazabat A. et al. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1799 - 1804.
297. Kociba R.J. // *Banbury Rep.* - 1984. - Vol. 18. - P. 73 - 84.
298. Kociba R.J. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1978. - Vol. 46. - P. 279 - 303.
299. Kociba R.J., Keyes D.G., Beyer J.E. et al. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* - 1979. - Vol. 320. - P. 397 - 402.
300. Kociba R.J., Schwetz B.A. // *Drug Metab. Rev.* - 1982. - Vol. 13, N 3. - P. 387 - 399.
301. Kohli K.K., Mukhtar H., Bend J.R. et al. // *Biochem. Pharmacol.* - 1979. - Vol. 28. - P. 1444 - 1446.
302. Kouri R.E., McKinney C.E., Levine A.S. et al. // *Toxicol. Pathol.* - 1984. - Vol. 12. - P. 44 - 48.
303. Kouri R.E., Ratrie H., Atlas S.A. et al. // *Life Sci.* - 194. - Vol. 15. - P. 1585 - 1595.
304. Kouri R.E., Rude T.H., Joglekar R. et al. // *Cancer Res.* - 1978. - Vol. 38. - P. 1977 - 1987.
305. Kouri R.E., Rude T.H., Joglekar R. // *Ibid.* - P. 2777 - 2783.
306. Knutson J.C., Poland A. // *Cell.* - 1980. - Vol. 22. - P. 27 - 34.
307. Krowke R. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 2011 - 2022.
308. Krowke R., Franz G., Neubert D. // *Abst. book DIOXIN'87.* - 1987. - Vol. 1. - P. 54.
309. Kumaki K., Jensen N.M., Shire J.G.M. et al. // *J. Biol. Chem.* - 1977. - Vol. 252. - P. 157 - 165.

310. Kurl R.N., Poellinger L., Lind J. et al. // Biochemistry, Biophysics and Regulation of Cytochrome P-450. - Amsterdam - N.Y. - Oxaord: Elsevier, 1980. - P. 155 - 162.
311. Kuroki H., Haraguchi K., Masuda Y. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 155.
312. Kuwahara S., Harada N., Yoshioka H. et al. // J. Biochem. (Tokyo). - 1984. - Vol. 95. - P. 703 - 714.
313. Landers J.P., Bunce N.J., Safe S. // Abst. book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 157.
314. Landolph J.R., Becker J.F., Gamper H. et al. // Chem.-Biol. Interactions. - 1978. - Vol. 23. - P. 331 - 344.
315. Larsen R.V., Kirsch L.E., Shaw S.M. et al. // J. Pharmacol. Sci. - 1972. - Vol. 61. - P. 2004 - 2006.
316. Leder P. // New Engl. J. Med. - 1978. - Vol. 298. - P. 1079 - 1083.
317. Leece B., Denomme M.A., Towner R. et al. // Toxicol. Environ. Health. - 1985. - Vol. 16. - P. 379.
318. Legraverend G., Harrison D.E., Ruscetti F.W. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1983. - Vol. 70. - P. 390 - 401.
319. Leim H.H., Muller-Eberhard U., Johnson E.F. // Mol. Pharmacol. - 1980. - Vol. 18. - P. 565 - 570.
320. Lesca P., Fernandes N., Roy M. // J. Biol. Chem. - 1987. - Vol. 262. - P. 4827 - 4835.
321. Leung H.W., Anderson M.E., Ku R.H. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 142.
322. Lewis D.F.V., Ioannides C., Parke D.V. // Biochem. Pharmacol. - 1986. - Vol. 35. - P. 2179 - 2185.
323. Litterst O.L., Farber T.M., Baker A.M. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1972. - Vol. 23. - P. 112 - 122.
324. Loew G.H., Rebagliati M., Poulsen M. // Cancer Biochem. Biophys. - 1984. - Vol. 7. - P. 109.
325. Lubet R.A., Nims R.W., Mayer R.T. et al. // Mutation Res. - 1985. - Vol. 142. - P. 127.
326. Lucier G.W., McDaniel D.S., Hook G.E.R. et al. // Envi-

- ron. Health Perspect. - 1973. - Vol. 5. - P. 199 - 209.
327. Lucier G.W., McDaniel O.S. // J. Steroid Biochem. - 1977. - Vol. 8. - P. 867 - 872.
328. Lucier G.W., Sonawane B.R., McDaniel O.S. et al. // Chem.-Biol. Interactions. - 1975. - Vol. 11. - P. 15 - 26.
329. Lundgren K., Andries M., Thompson C. et al. // Cancer Res. - 1987. - Vol. 47. - P. 3662 - 3666.
330. Lundgren K., Andties M., Thompson C. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1986. - Vol. 85. - P. 189 - 195.
331. Luster M.I., Lawson L.D., Linko P. et al. // Mol. Pharmacol. - 1983. - Vol. 23. - P. 252 - 257.
332. Luster M.I., Tucker A.N., Hong L. et al. // Biological Mechanisms of Dioxin Action. - 1984. - P. 411 - 420.
333. Lutz R.J., Dedrick R.L., Matthews H.B. et al. // Drug. Metab. Dispos. - 1977. - Vol. 5. - P. 386 - 396.
334. Madsen C., Larsen J.C. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 208.
335. Malik N., Owens I.S. // J. Biol. Chem. - 1981. - Vol. 256. - P. 9599 - 9604.
336. Marniemi J., Nokkala M., Parkki M.G. et al. // Industrial and Environmental Xenobiotics. - Oxford: Excerpta Medica, 1978. - P. 216 - 218.
337. Mason G., Denomme M.A., Safe L. et al. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 68.
338. Mason G., Safe S. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 2081 - 2083.
339. Mason G., Safe S. // Toxicology. - 1986. - Vol. 41, N 2. - P. 153 - 160.
340. Mason G.G.F., Wilhelmeson A., Gothill S. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 47.
341. Mason M.E., Okey A.B. // Eur. J. Biochem. - 1982. - Vol. 123. - P. 209 - 215.
342. Masson H.S., Ioannides C., Gibson G.G. // Toxicol. Lett. - 1983. - Vol. 17. - P. 131.

343. Mastroiacovo P., Spagnolo A., Marni E. et al. // JAMA. - 1988. - Vol. 259. - P. 1668 - 1672.
344. Masuda Y., Kuroki H., Haragichi K. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1621 - 1628.
345. Masuda-Mikawa R., Fujii-Kuriyama K., Negishi M. et al. // J. Biochem. (Tokyo). - 1979. - Vol. 86. - P. 1383.
346. Mather W., Beck H., Eckart K. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 96.
347. Matthews H.B. / Metabolic Basis of Detoxication. - N.Y.: Academic Press, 1982. - P. 51 - 68.
348. Matthews H.B., Anderson M.W. // Drug Metab. Dispos. - 1975. - Vol. 3. - P. 371 - 380.
349. Matthews H.B., Birnbaum L.S. // Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds. - N.Y., London: Plenum Press, 1984. - P. 463 - 475.
350. Matthews H.B., Kato S. // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1979. - Vol. 320. - P. 131.
351. McConnell E.E. // Halogenated Biphenyls, Terphenyls, Naphthalenes, Dibenzodioxins and Related Products. - Amsterdam: Elsevier, 1980. - P. 109 - 129.
352. McCormack K.M., Melross P.R., Rickert D.E. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1979. - Vol. 47. - P. 95 - 104.
353. McKinney J.D., Chae K., Gupta B.N. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1976. - Vol. 36. - P. 64.
354. McKinney J.D., Singh P. // Chem.-Biol. Interactions. - 1981. - Vol. 33. - P. 271.
355. Mabus C.A., Piper W.N. // Biochem. Pharmacol. - 1986. - Vol. 35. - P. 4359 - 4363.
356. Meedham L.L., Patterson D.G., Isaacs S. et al. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 141.
357. Merlo F., Pontoni R., Santi L. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1777 - 1786.
358. Merlo F., Pontoni R., Strigini P. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 200.

359. Miller E.C., Miller J.A. // Bioactivation of Foreign Compounds. - Orlando - San-Diego - N.Y. - London: Acad. Press, 1985. - P. 3 - 29.
360. Miller T.L. // J. Environ. Pathol. Toxicol. - 1978. - Vol. 1. - P. 459.
361. Miranda G.L., Henderson M.C., Wang J.-L. et al. // J. Toxicol. Environ. Health. - 1987. - Vol. 20. - P. 27 - 35.
362. Miyata H., Tkayama K., Ogaki J. et al. // Abst. Book DIOXINS'87. - Vol. 1. - P. 93.
363. Moore J.A., Courtney K.D. // Teratology. - 1971. - Vol. 4. - P. 236 - 243.
364. Moore J.A., Gupta B.N., Zinki J.G. et al. // Environ. Health Perspect. - 1973. - Vol. 5. - P. 81 - 86.
365. Moore J.A., Harris M.W., Albro P.W. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1976. - Vol. 37. - P. 146 - 153.
366. Moore J.A., McConnell E.E., Dalgard D.W. et al. // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1979. - Vol. 320. - P. 151 - 156.
367. Moore R.W., Sleight S.D., Aust S.D. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1978. - Vol. 44. - P. 309 - 321.
368. Morikawa K., Morita M., Fujita M. et al. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 62.
369. Muhlebach S., Bickel M.H. // Xenobiotica. - 1981. - Vol. 11. - P. 249 - 257.
370. Mukerjee D.I. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 195.
371. Mukerjee D.I., Stara J.F., Schaum J.L. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1805 - 1813.
372. Muranyi-Kovacs I., Rudali G., Imbert J. // Brit. J. Cancer. - 1976. - Vol. 33. - P. 626 - 631.
373. Murray F.J., Smith P.A., Nitschke K.D. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1979. - Vol. 50. - P. 241 - 252.
374. Nagata C., Kodawa M., Kimura T. et al. // P-450 and Chemical Carcinogenesis. - N.Y. - London: Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, Plenum Press, 1985. - P. 93 - 110.
375. Nagata K., Mitsuaga T., Buppodom P. et al. // Pharmaco-

- bio. - Dyn. - 1985. - Vol. 8. - P. 948.
376. Nakamura M., Negishi M., Altieri M. et al. // *Eur. J. Biochem.* - 1983. - Vol. 134. - P. 19 - 25.
377. Narbonne J.F. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1980. - Vol. 56. - P. 1 - 7.
378. NCI: Bioassay of 2, 7 - Dichlorodibenzo-dioxin (DCDD) for Possible Carcinogenicity" NCI - CG - TR - 123. - NIH Publ. No-79-1378. - Bethesda, 1979.
379. Neal R., Gasiewicz T., Geiger L. et al. // *Biological Mechanisms of Dioxin Action.* - 1984. - P. 49 - 60.
380. Nebert D.W. // *Drug Metabolism. Molecular Approaches and Pharmacological Implications.* - Oxford. - N.Y. - Toronto - Sydney - Paris - Frankfurt: Pergamon Press, 1985. - P. 85 - 92.
- 380a. Nebert D.W. // *The Induction of Drug Metabolism.* - Stuttgart - N.Y.: Schattauer Verlag, 1979. - P. 419 - 452.
381. Nebert D.W., Benedict W.F., Kouri R.E. // *Chemical Carcinogenesis.* - N.Y.: Marcel Dekker, 1974. - Pt 2. - P. 271 - 288.
- 381a. Nebert D.W., Adeshik M., Coon M.J. et al. // *DNA.* - 1987. - Vol. 6. - P. 1 - 11.
382. Nebert D.W., Atlas S.A., Guenther T.M. et al. // *Polycyclic Hydrocarbons and Cancer: Chemistry, Molecular Biology and Environment.* - N.Y.: Acad. Press, 1978. - P. 345 - 365.
- 382a. Nebert D.W., Eisen H.J., Hankinson O. // *Biochem. Pharmacol.* - 1984. - Vol. 33. - P. 917 - 924.
383. Nebert D.W., Felton J.S. // *Fed. Proc.* - 1976. - Vol. 35. - P. 1133 - 1141.
384. Nebert D.W., Gelboin H.V. // *J. Biol. Chem.* - 1968. - Vol. 243. - P. 6242 - 6249, 6250 - 6261.
385. Nebert D.W., Gielen J.E. // *Fed. Proc.* - 1972. - Vol. 31. - P. 1315 - 1325.
- 385a. Nebert D.W., Gonzalez F.J. // *Hospital Practice.* -

1987. - Vol. 17, March. - P. 63 - 74.
386. Nebert D.W., Goujon F.M., Gielen J.E. // *Nature: New Biol.* - 1972. - Vol. 236. - P. 107 - 110.
- 386a. Nebert D.W., Jaiswal A.K., Meyer U.A. et al. // *Biochem. Soc. Transact.* - 1987. - Vol. 15. - P. 586 - 589.
387. Nebert D.W., Jensen N.M. // *Biochem. Pharmacol.* - 1979. - Vol. 27. - P. 149 - 151.
388. Nebert D.W., Kon H. // *J. Biol. Chem.* - 1973. - Vol. 248. - P. 169 - 178.
389. Nebert D.W., Negishi M. // *Biochem. Pharmacol.* - 1982. - Vol. 31. - P. 2311 - 2317.
390. Nebert D.W., Robinson J.R., Niwa A. et al. // *J. Cell. Physiol.* - 1975. - Vol. 85. - P. 393 - 414.
391. Nebert D.W., Thorgeirsson S.S., Felton J.S. // *In vitro Metabolic Activation in Mutagenesis Testing.* - Amsterdam: Elsevier, 1976. - P. 105 - 145.
392. Needham L.L., Patterson D.G., Pirkle J.L. et al. // *Abst. Book DIOXIN'87.* - 1987. - Vol. 1. - P. 97.
393. Negishi M., Nebert D.W. // *J. Biol. Chem.* - 1979. - Vol. 254. - P. 11015 - 11023.
394. Neubert D., Dillmann I. // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* - 1972. - Vol. 272. - P. 243 - 248.
395. Neuhold L.A., Gonzalez F.J., Jaiswal A.K. et al. // *DNA.* 1986. - Vol. 5. - P. 403 - 411.
396. Nicholson W.J., Moore J.A. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* - 1979. - Vol. 320. - P. 1.
397. NIEHS: Perspectives on Chlorinated Dibenzodioxins and Dibenzofurans: *Environ. Health Perspect. Exp. / NIEHS, Research Triangle Park.* - 1973. - Issue No 5. - 201 p.
398. Nilsen O.G., Toftgard R., Eng L. et al. // *Acta Pharmacol. Toxicol.* - 1981. - Vol. 48. - P. 369 - 376.
399. Niwa A., Kumaki K., Nebert D.W. // *Mol. Pharmacol.* - 1975. - Vol. 11. - P. 399 - 406.
400. Niwa A., Kumaki K., Nebert D.W. et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* - 1975. - Vol. 166. - P. 559 - 564.

401. Norman R.L., Johnson E.F., Muller-Eberhard U. // J. Biol. Chem. - 1978. - Vol. 253. - P. 8640 - 8649.
402. Ogaki J., Takayama K., Miyata H. et al. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 156.
403. Oguri K., Kamimura H., Koda N. et al. // Ibid. - 1986. - P. 63.
404. Oishi H., Oishi S. // Toxicol. Lett. - 1983. - Vol. 15. - P. 119 - 122.
405. O'Key A.B. // Human and Environmental Risks of Chlorinated Dioxins and Related Compounds. - N.Y. - London: Plenum Press, 1984. - P. 423 - 440.
406. Okey A.B., Bondy G.P., Mason C. et al. // J. Biol. Chem. - 1980. - Vol. 255. - P. 11415 - 11422.
407. Okey A.B., Dube A.W. // Cytochrome P-450 Biochemistry, Biophysics and Environmental Implications. - Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982. - P. 173 - 176.
408. Okey A.B., Dube A.W., Vella L.M. // Cancer Res. - 1984. - Vol. 44. - P. 1426 - 1432.
409. Okino S.T., Quattrochi L.C., Barnes H.J. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. - 1985. - Vol. 82. - P. 5310 - 5314.
410. Olson J.R., Gasiewicz T.A., Neal R.A. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1980. - Vol. 56. - P. 78 - 84.
411. Olson J.R., Gutman S.I., Shen E.S. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 77.
412. Ono M., Wakimoto T., Tatsukawa R. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1629 - 1634.
413. Osborne R., Greenlee W.F. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1714 - 1724.
414. Owens I.S. // J. Biol. Chem. - 1977. - Vol. 252. - P. 2827 - 2833.
415. Owens I.S., Nebert D.W. // Mol. Pharmacol. - 1975. - Vol. 11. - P. 94 - 104.
416. Ozawa N., Yoshihara S., Kawano K. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1979. - Vol. 91. - P. 1480 - 1487.

417. Paasivirta J., Tarhanen J., Juvonen P. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 86.
418. Pappe C. // Ibid. - 1986. - P. 33 - 35.
419. Parkinson A., Cockerline R., Safe S. // Chem.-Biol. Interactions. - 1980. - Vol. 29. - P. 277 - 289.
420. Parkinson A., Robertson L., Safe S. // Biochem. Pharmacol. - 1983. - Vol. 32. - P. 2269.
421. Parkinson A., Robertson L., Safe L. et al. // Chem. - Biol. Interactions. - 1980. - Vol. 30. - P. 271 - 285.
422. Parkinson A., Robertson L., Safe L. et al. // Ibid. - 1981. - Vol. 35. - P. 1.
423. Parkinson A., Robertson L., Uhlig L. et al. // Biochem. Pharmacol. - 1982. - Vol. 31. - P. 2830 - 2833.
424. Parkinson A., Safe S. // Ibid. - P. 1849.
425. Parkinson A., Safe S. // Toxicol. Environ. Chem. Rev. - 1981. - Vol. 4. - P. 1 - 46.
426. Parkinson A., Safe S., Robertson L. et al. // Biol. Chem. - 1983. - Vol. 258. - P. 5967.
427. Parkki M.G., Warniemi J., Vainio H. // J. Toxicol. Environ. Health. - 1977. - Vol. 3. - P. 903 - 911.
428. Patterson D.G., Hoffman R.E., Needham L.L. et al. // Abst. Book. DIOXIN'86. - 1986. - P. 143.
429. Patterson D.E., Needham L.L., Pirkle J.L. et al. // Ibid. - 1986. - P. 142.
430. Pearce N. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 85.
431. Pedersen R.A., Meneses J., Spindle A. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1985. - Vol. 82. - P. 3311 - 3315.
432. Pelkonen O., Nebert D.W. // Pharmacol. Rev. - 1982. - Vol. 34. - P. 189 - 222.
433. Pelkonen O., Vahakangas K., Nebert D.W. // J. Toxicol. Environ. Health. - 1980. - Vol. 6. - P. 1009 - 1020.
434. Pellizzari E.D., Moseley M.A., Cooper S.D. // J. Chromatography. - 1985. - Vol. 334. - P. 277.

435. Peterson T.C., Gonzalez F.J., Nebert D.W. // Biochem. Pharmacol. - 1986. - Vol. 35. - P. 2107 - 2114.
436. Phillipson C.E., Ioannides C. // Mutation Res. - 1983. - Vol. 124. - P. 325.
437. Phuong N.T.N., Ky N.C., Thanh P.V. et al. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 170.
438. Phuong N.T.N., Ky N.C., Thanh P. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 186.
439. Phuong N.T.N., Thuy T.T., Phuong P.K. // Ibid. - 1987. - Vol. 2. - P. 174.
440. Phuong N.T.N., Ky N.C., Thanh P. et al. // Ibid. - 1987. - Vol. 2. - P. 186.
441. Pickett C.B., Jeter R.L., Morin L. et al. // J. Biol. Chem. - 1981. - Vol. 256. - P. 8815 - 8820.
442. Piper W.N., Rose J.Q., Gehring P.J. // Environ. Health Perspect. - 1973. - Vol. 5. - P. 241 - 244.
443. Piper H., Schkatter C. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1489 - 1494.
444. Pirkle J., Wolff W.H., Fatterson D.G. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 101.
445. Plant A.L., Knapp R.D., Smith L.C. // J. Biol. Chem. - 1987. - Vol. 262. - P. 2514 - 2519.
446. Poellinger L., Gullberg D. // Mol. Pharmacol. - 1985. - Vol. 27. - P. 271 - 276.
447. Poellinger L., Lund J., Gillner M. et al. // J. Biol. Chem. - 1983. - Vol. 258. - P. 13535 - 13542.
448. Poellinger L., Lund J., Soderkvist P. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1649 - 1656.
449. Poellinger L., Wilhelmsson A., Cuthill S. et al. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 55.
450. Poellinger L., Kurl R.N., Lund J. et al. // Biochim. Biophys. Acta. - 1982. - Vol. 714. - P. 516 - 523.
451. Poellinger L., Wilhelmsson A., Lund J. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1681 - 1686.
452. Poellinger L., Wilhelmsson A., Mason G. et al. // Abst.

- book VII Intern. Symp. Microsomes Drug Oxidations, Adelaide. - 1987. - P. 47.
453. Pohjanvirta R., Tuomisto J., Vartiainen T. et al. // Pharmacology & Toxicology. - 1987. - Vol. 60. - P. 145 - 150.
454. Fohl R.J., Philpot R.M., Fouts J.R. // Drug Metab. Dispos. - 1976. - Vol. 4. - P. 442 - 450.
455. Poiger H. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 54.
456. Poiger H., Buser H.-R. // Biologic Mechanisms of Dioxin Action. - 1984. - P. 39 - 47.
457. Poiger H., Buser H.-R. // Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds. - 1984. - P. 483 - 492.
458. Poiger H., Buser H.-R., Pluess N. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 50.
459. Poiger H., Buser H.-R., Weber H., Zweifel U. // Experimentia. - 1982. - Vol. 4. - P. 484 - 489.
460. Poland A. // Biological Mechanisms of Dioxin Action. - 1984. - P. 109 - 116.
461. Poland A., Glover E. // Cancer Res. - 1979. - Vol. 39. - P. 3341 - 3349.
462. Poland A., Glover E. // Mol. Pharmacol. - 1973. - Vol. 9. - P. 736 - 747.
463. Poland A., Glover E. // Ibid. - 1973. - Vol. 10. - P. 349 - 359.
464. Poland A.P., Glover E. // Ibid. - 1974. - Vol. 10. - P. 349 - 359.
465. Poland A., Glover E. // Ibid. - 1975. - Vol. 11. - P. 389 - 398.
466. Poland A., Glover E. // Ibid. - 1977. - Vol. 13. - P. 924 - 938.
467. Poland A.P., Glover E. // Ibid. - 1980. - Vol. 17. - P. 86 - 94.
468. Poland A., Glover E., Kende A.S. // J. Biol. Chem. -

1976. - Vol. 251. - P. 4936 - 4946.
469. Poland A.P., Glover E., Kende A.S. et al. // Science. - 1976. - Vol. 194. - P. 627 - 630.
470. Poland A., Glover E., Robinson J.R. et al. // J. Biol. Chem. - 1974. - Vol. 249. - P. 5599 - 5606.
471. Poland A., Greenlee W.E., Kende A.S. // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1979. - Vol. 320. - P. 214 - 230.
472. Poland A.P., Kende A. // Origins of Human Cancer / Gold Spring Harbor Lab. - N.Y., 1977. - P. 847 - 867.
473. Poland A., Knutson J., Glover E. // Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds. - 1984. - P. 539 - 559.
474. Poland A., Knutson J.C. // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. - 1982. - Vol. 22. - P. 517 - 537.
475. Poland A., Palen D., Glover E. // Nature. - 1982. - Vol. 300. - P. 271 - 273.
476. Potter D.W., Levin W., Ryan D.E. // Biochem. Pharmacol. - 1984. - Vol. 33. - P. 609.
477. Provost E., Cresteil T., Columelli S. et al. // Ibid. - 1983. - Vol. 32. - P. 1673 - 1682.
478. Puhvel S.M., Sakamoto M. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 49.
479. Puhvel S.M., Sakamoto M. // Ibid. - 1987. - Vol. 2. - P. 235.
480. Puhvel S.M., Sakamoto M., Reisner R.M. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 2065 - 2067.
481. Quynh H.T., Dai L.C., Thom L.H. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 194.
482. Randerath K., Putman K.L., Rauderath E. et al. // Ibid. - 1987. - Vol. 2. - P. 145.
483. Rappe C. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 33 - 35.
484. Rappe C., Nygren M., Hansson M. // Ibid. - 1986. - P. 41.
485. Rappe C., Nygren M., Lindstrom G. // Chemosphere. -

1986. - Vol. 15. - P. 1635 - 1639.
486. Raucy Y.L., Johnson E.F. // *Mol. Pharmacol.* - 1985. - Vol. 27. - P. 296 - 301.
487. Raunio H., Skurnik M., Korhonen P. et al. // *Biochem. Pharmacol.* - 1982. - Vol. 34. - P. 189 - 193.
488. Reddy J.K., Qureshi S.A. // *Brit. J. Cancer.* - 1979. - Vol. 40. - P. 476 - 484.
489. Reik L.M., Levin N., Ryan D.E. et al. // *J. Biol. Chem.* - 1982. - Vol. 257. - P. 3950 - 3957.
490. Rice J.C., Gooderham N.J., Boobis A.R. et al. // *Abst. Book 7th Int. Symp. Microsomes and Drug Oxidations, Adelaide.* - 1987. - P. 94.
491. Risebrough R.W., Rieche P., Peakall D.B. et al. // *Nature.* - 1968. - Vol. 220. - P. 1098 - 1102.
492. Robertson I.G.C., Kasser U.R., Oesch F. et al. // *Abst. Book 7th Int. Symp. Microsomes and Drug Oxidations, Adelaide.* - 1987. - P. 80.
493. Robertson L.W., Parkinson A., Bandiera S. et al. // *Chem.-Biol. Interactions.* - 1981. - Vol. 35. - P. 13.
494. Robertson L.W., Parkinson A., Campbell K.A. et al. // *Ibid.* - 1982. - Vol. 42. - P. 53.
495. Robertson I.G.C., Zeiger E., Goldstein J.A. // *Carcinogenesis.* - 1983. - Vol. 4. - P. 93 - 96.
496. Robinson J.R., Considine N., Nebert D.W. // *J. Biol. Chem.* - 1974. - Vol. 249. - P. 5851 - 5859.
497. Robinson J.R., Felton J.S., Levitt R.C. et al. // *Mol. Pharmacol.* - 1975. - Vol. 11. - P. 850 - 865.
498. Rochman S., Bernard J., Cazabat A. et al. // *Chemosphere.* - 1986. - Vol. 15. - P. 1799 - 1804.
499. Rodwell D.E., Wilson R.D., Nemeo M.D. et al. // *Toxicologist.* - 1984. - Vol. 4. - P. 167.
500. Rogers A.M., Andersen M.E., Back K.C. // *Mutation Res.* - 1982. - Vol. 105. - P. 445 - 451.
501. Rose J.Q., Ramsey J.C., Wentzler T.H. et al. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1976. - Vol. 36. - P. 209 - 226.

502. Rowe V.K., Hymas T.A. // Amer. J. Vet. Res. - 1954. - Vol. 15. - P. 622 - 627.
503. Rowley B., Sweeney G.D. // Can. J. Biochem. Cell Biol. - 1984. - Vol. 62. - P. 1293 - 1300.
504. Rozman K., Greim H. // Arch. Toxicol. - 1986. - Vol. 59. - P. 211 - 215.
505. Rozman K., Hezelton G.A., Klaassen C.D. et al. // Toxicology. - 1985. - Vol. 37. - P. 51 - 65.
506. Ryan J.J., Mukerjee D., Brown J.F. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 94 - 95.
507. Ryan D.E., Ramanathan L., Lida S. // J. Biol. Chem. - 1985. - Vol. 260. - P. 6385.
508. Ryan D.E., Thomas P.E., Korzeniowski D. // Ibid. - 1979. - Vol. 254. - P. 1365 - 1374.
509. Ryan D.E., Thomas P.E., Levin W. // Mol. Pharmacol. - 1977. - Vol. 13. - P. 521.
510. Ryan D.E., Thomas P.E., Levin W. // J. Biol. Chem. - 1980. - Vol. 255. - P. 7941.
511. Safe S., Campbell M.A., Lambert I. et al. // Cytochrome P-450, Biochemistry, Biophysics Environmental Implications / Eds. Hitanen E., Laitinen M., Hanninen O. - Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982. - P. 341.
512. Safe S., Fujita T., Romkes M. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1657 - 1663.
513. Safe S., Mason G., Keys B. et al. // Ibid. - 1986. - Vol. 15. - P. 1725 - 1731.
514. Safe S., Robertson L.W., Safe L. // Can. J. Physiol. Pharmacol. - 1982. - Vol. 60. - P. 1057 - 1064.
515. Safe S., Robertson L., Sawyer T. et al. // Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds. - 1984. - P. 393 - 403.
516. Safe S., Zacharewski T., Safe L. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 206.
517. Safe S., Romkes M., Mason G. et al. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 66.

518. Sandberg P.-O., Glaumann H. // *Exp. Mol. Path.* - 1980. - Vol. 32. - P. 1.
519. Sassa S., Sugita O., Ohnuma N. et al. // *Biochem. J.* - 1986. - Vol. 235. - P. 291.
520. Sawyer T., Safe S. // *Toxicol. Lett.* - 1982. - Vol. 13. - P. 87 - 94.
521. Schecter A., Constable J., Tong H. et al. // *Abst. Book DIOXIN'87.* - 1987. - Vol. 1. - P. 99.
522. Schecter A., Furst P., Kruger G. et al. // *Ibid.* - 1987. - Vol. 1. - P. 103.
523. Schecter A., Gaziewicz T. // *Abst. Book DIOXIN'86.* - 1986. - P. 199.
524. Schecter A., Gross M., Constable J. // *Ibid.* - 1986. - P. 147.
525. Schecter A., Raisanen S., Thulberg T. // *Ibid.* - 1986. - P. 149.
526. Schecter A., Rappé C., Hanson M. et al. // *Abst. Book DIOXIN'87.* - 1987. - Vol. 2. - P. 115.
527. Schecter A.J., Ryan J.J. // *Abst. Book DIOXIN'86.* - 1986. - P. 145.
528. Schecter A., Ryan J.J., Constable J. // *Abst. Book DIOXIN'87.* - 1987. - P. 151.
529. Schemmel R., Wickeisen O., Gill J.L. // *J. Nutr.* - 1970. - Vol. 100. - P. 1041 - 1048.
530. Schenkman J.B., Kupfer D. (Eds.) *Hepatic Cytochrome P-450 Monooxygenase System.* - London: Pergamon Press, 1982. - Sect. 108. - 941 p.
531. Schmetz B.A., Norria J.M., Sparschu G.L. et al. // *Environ. Health Perspect.* - 1973. - Vol. 3. - P. 87 - 94.
532. Scholte B.J., Velde B., Groot G. et al. // *Eur. J. Biochem.* - 1985. - Vol. 151. - P. 67.
533. Schuetz E.G., Wrighton C.A., Safe S.H. et al. // *Biochemistry.* - 1986. - Vol. 25. - P. 1124.
534. Schulz C.O., LaGay P.K., Paxton W.B. // *Chemosphere.* -

1986. - Vol. 15. - P. 2099 - 2102.
535. Seefeld M.D., Corbett S.W., Keesey R.E. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1984. - Vol. 73. - P. 311 - 322.
536. Seefeld M.D., Peterson R.E. // Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds. - 1984. - P. 405 - 413.
537. Seidegard J., DePierre J.W., Morgenstern R. et al. // Biochim. Biophys. Acta. - 1981. - Vol. 672. - P. 65.
538. Seiler J.P. // Experientia. - 1973. - Vol. 29. - P. 622 - 627.
539. Selenka F. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 144.
540. Sesardic D., Boobis A.R., Harries G.C. et al. // Abst. Book 7th Int. Symp., Microsomes and Drug Oxidations, Adelaide. - 1987. - P. 80.
541. Shara M.A., Stehs S.J. // Arch. Environ. Contam. col. - 1987. - Vol. 16. - P. 599 - 605.
542. Shepard B.M., Young A.L. // Human and Environmental Risks of Chlorinated Dioxins and Related Compounds. - N.Y. - London: Plenum Press, 1984. - P. 3 - 12.
543. Shimada T., Sato R. // Biochem. Pharmacol. - 1978. - Vol. 27. - P. 535.
544. Shopp G.M., Edwards B.S., Coons T.A. et al. // Abst. Book. DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 191.
545. Shulte E., Acker L. // Naturwissenschaften. - 1974. - Vol. 61. - P. 79.
546. Sielergeld E.K. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 245.
547. Silbergeld E.K. // Ibid. - 1987. - Vol. 2. - P. 245.
548. Singh P., McKinney J.D. // Acta Crystallogr. - 1979. - Vol. B35. - P. 259.
549. Sipes I.G., Slocumb M.L., Perry D.F. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1988. - Vol. 55. - P. 554 - 563.

550. Slaga T.J. (ed.) Modifiers of Chemical Carcinogenesis: An Approach to the Biochemical Mechanism and Cancer Prevention. - N.Y.: Paven Press, 1980. - 275 p.
551. Smith A.H., Pearce N.E. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 95 - 98.
552. Smith F.A., Schwetz B.A., Nitschke K.D. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1976. - Vol. 38. - P. 517 - 522.
553. Snyder R., Remmer H. // Pharmacol. Ther. - 1979. - Vol. 7. - P. 203 - 244.
554. Sogawa K., Gotoh O., Kawajiri K. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. - 1984. - Vol. 81. - P. 5066.
555. Solch J.G., Tienan T.O., Wagel J.J. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 5.
556. Sparschu G.L., Dunn F.L., Rowe V.K. // Food Cosmet. Toxicol. - 1971. - Vol. 9. - P. 405 - 411.
557. Stadnicki S.S., Allen J.R. // Bull. Environ. Contam. Toxicol. - 1979. - Vol. 23. - P. 788.
558. Stegeman J.J. // Polycyclic Hydrocarbons and Cancer. - N.Y.: Acad. Press, 1981, - Vol. 3. - P. 1 - 60.
559. Stephens R.D., Hayward D., Goldman L. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 104.
560. Steward A.R., Byard J.L. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1981. - Vol. 59. - P. 603 - 616.
561. Stonard M.D., Greig J.B. // Chem-Biol. Interactions. - 1976. - Vol. 15. - P. 365.
562. Sweeney G.D., Jones K.G. // Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds. - 1984. - P. 415 - 422.
563. Sunahara G.I., McLoy Z., Bresnick E.H. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 158.
564. Sundheimer D.W., Cavaness M.B., Goldstein J.A. // Arch. Biochem. Biophys. - 1983. - Vol. 226. - P. 548 - 557.
565. Sundatrom G., Hutzinger O., Safe S. // Chemosphere. - 1976. - Vol. 5. - P. 267.

566. Sundstrom G., Sawyer T., Hutzinger O. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 2105 - 2107.
567. Suskind R.R., Pershing L.K., Krueger G.G. // Abst. Book DIOXIN'8. - P. 168.
568. Suter-Hofman M., Schlatter C. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 52.
569. Takizawa Y., Muto H. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 133.
570. Tan B., Melius P. // Comp. Biochem. Physiol. - 1986. - Vol. 83c. - P. 217 - 224.
571. Tagashira J., Omura T. (Eds). P-450 and Chemical Carcinogenesis. - N.Y. - London: Tokyo Plenum Press, 1985. - 175 p.
572. Tarkowski S., Yrjanheikk E. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1641 - 1648.
573. Tatsukawa R., Ono M., Wakimoto T. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 105.
574. Tenchini M.L., Crimauco C., Pacchetti G. et al. // Environ. Mutagen. - 1983. - Vol. 5. - P. 73 - 79.
575. Thalken C.E., Young A.L. // Human and Environmental Risk of Chlorinated Dioxins and Related Compounds. - 1984. - P. 357 - 371.
576. Thalken C.E., Young A.L. // Ibid. - 1984. - P. 357 - 369.
577. Thalken C.E., Young A.L. // Ibid. - 1984. - P. 357 - 372.
578. Thakker D.R., Yagi H., Akagi H. et al. // Chem.-Biol. Interactions. - 1977. - Vol. 16. - P. 281.
579. Theoharides A.D., Kupfer D. // Drug Metab. Dispos. - 1981. - Vol. 9. - P. 580.
580. Thoma H., Mucke W., Kretschmer E. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 110.
581. Thomas P.E., Bandiera S., Reik L.M. et al. // Fed. Proc. - 1987. - Vol. 46. - P. 2563 - 2566.
582. Thomas P.E., Kouri R.E., Hutton J.J. // Biochem. Genet.

1972. - Vol. 6. - P. 157 - 168.
583. Thomas P.E., Reidy L.M., Ryan D.E. // Arch. Biochem. Biophys. - 1984. - Vol. 235. - P. 239.
584. Thomas P.E., Reik L.M., Ryan D.E. et al. // Biol. Chem. - 1981. - Vol. 256. - P. 1044.
585. Thomas P.E., Reik L.M., Ryan D.E. et al. // Ibid. - 1983. - Vol. 258. - P. 4590 - 4598.
586. Thomas P.E., Reik C.M., Ryan D.E. et al. // Ibid. - 1984. - Vol. 259. - P. 3890 - 3899.
587. Thompson C., Andries M., Lundgren K. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 146 - 147.
588. Thompson D.J., Emerson J.L., Sparschu G.L. // Teratology. - 1971. - Vol. 4. - P. 243 - 247.
589. Thorgeirsson S.S. // Microsomes and Drug Oxidations. - London - Philadelphia: Taylor & Francis, 1985. - P. 320 - 329.
590. Thorgeirsson S.S., Nebert D.W. // Adv. Cancer Res. - 1977. - Vol. 25. - P. 149 - 193.
591. Thorslund T., Bayard S., Holder J. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 205.
592. Thundberg A. Studies on the Effect of 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin on Vitamin A- A New Aspect Concerning the Mechanism of Toxicity / Karolinska Institute. - Stockholm, 1983. - 54 p.
593. Tiernan T.O., Taylor M.L., Wagel D.J. et al. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 160 - 161.
594. Tierney B., Munzer S., Bresnick E. // Arch. Biochem. Biophys. - 1983. - Vol. 225. - P. 826 - 835.
595. Tierney B., Weaver D., Heintz N.H. et al. // Ibid. - 1980. - Vol. 200. - P. 513 - 523.
596. Toftgard R., Lofroth G., Carlstedt-Duke J. et al. // Chem.-Biol. Interactions. - 1983. - Vol. 46. - P. 335 - 346.
597. Tong S., Smith J., Manson D. et al. // Anticancer Res. - 1986. - Vol. 6. - P. 1107 - 1112.

598. Toth K., Somfai-Belle S., Sugar J. et al. // Nature (London). - 1979. - Vol. 278. - P. 548 - 550.
599. Tsyrllov I.B., Gerasimov K.E. // Cytochrome P-450, Biochemistry, Biophysics and Induction / Eds. Vereczkey L., Magyar K. - Budapest: Akademiai Kiado, 1985. - P. 469.
600. Tsyrllov I.B., Chasovnikova O.B., Grishanova A.Y. et al. // FEBS Letters. - 1986. - Vol. 198. - P. 225 - 228.
601. Tsyrllov I.B., Zakharova N.E., Grozova O.A. et al. // Biochim. Biophys. Acta. - 1976. - Vol. 421. - P. 44 - 56.
602. Tsyrllov I.S., Chasovnikova O.B., Lyakhovich V.V. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 2. - P. 155 - 156.
603. Tukey R.H., Hannah R.T., Negishi D.W. et al. // Cell. - 1982. - Vol. 31. - P. 275 - 284.
604. Tukey R.H., Nebert D.W. // Biochemistry. - 1984. - Vol. 23. - P. 6003 - 6008.
605. Tukey R.H., Nebert D.W., Negishi M. // J. Biol. Chem. - 1981. - Vol. 256. - P. 6969 - 6974.
606. Tukey R.H., Negishi M., Nebert D.W. // Mol. Pharmacol. - 1982. - Vol. 22. - P. 779 - 786.
607. Tulp M.T., Hutzinger O. // Chemosphere. - 1978. - Vol. 9. - P. 761 - 768.
608. Tung T.T. // Chirurgie. - 1973. - Vol. 99. - P. 427 - 431.
609. Umbreit T.H., Hesse E.J., Galla M.A. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 2121 - 2124.
610. Unger T.M., Kliethermes J., Van Goethem D. et al. // Teratology and Postnatal Studies in Rats of the Propylene Glycol Butyl Ether and Isooctyl Ester of 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid: NIDS Publ. - No PB-81-191148. - Springfield: National Technical Information Service, 1981.
611. Vairto H. // Chem.-Biol. Interactions. - 1974. - Vol. 9. - P. 379 - 387.

612. Vecci A., Sironi M., Bernasconi S. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 44.
613. Venkatesan N., Arcos J.C., Argus M.F. // J. Theor. Biol. - 1971. - Vol. 33. - P. 517 - 537.
614. Vicchi A., Sironi M., Sfreddo-Gallotta E. et al. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1707 - 1714.
615. Villeneuve D.C. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1975. - Vol. 31. - P. 313 - 319.
616. Villeneuve D.C., Grant D.L., Phillips W.E. et al. // Bull. Environ. Contamin. Toxicol. - 1971. - Vol. 6. - P. 120 - 128.
617. Vlasuk G.P., Chrayeb J., Ryan D.E. et al. // Biochemistry. - 1982. - Vol. 21. - P. 789.
618. Voorman R., Aust S.D. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1987. - Vol. 90. - P. 69 - 78.
619. Vonopal J.H., Casida J.E. // Arch. Environ. Contam. Toxicol. - 1973. - Vol. 1. - P. 122 - 129.
620. Vos J.G. // Biological Mechanism of Dioxin Action: Banbury Report. - 1984. - Vol. 18. - P. 401 - 410.
621. Vyas K.P., Shibata T., Hight R.J. et al. // J. Biol. Chem. - 1983. - Vol. 258. - P. 5649 - 5659.
622. Wacker R., Poiger H., Schlatter C. // Chemosphere. - 1986. - Vol. 15. - P. 1473 - 1476.
623. Wasson J.S., Hugg J.E., Loprieno N. // Mutation Res. - 1977/1978. - Vol. 47. - P. 141 - 146.
624. Waters M.D., Simmon V.E., Mitchell A.D. et al. // J. Environ. Sci. Health. - 1980. - Vol. B15. - P. 867 - 870.
625. Watkins J.B., Gregus Z., Thompson T.N. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1982. - Vol. 64. - P. 439 - 446.
626. Wassermann M., Wassermann D., Lucas S. et al. // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1979. - Vol. 320. - P. 69.
627. Weber W.W. // Drug Metabolism Molecular Approaches and Pharmacological Implications. - Oxford - N.Y. - Toronto - Sydney - Paris - Frankfurt: Pergamon Press, 1985. - P. 5 - 10.

628. Weber H., Harris M.W., Haseman J.K. et al. // Toxicol. Lett. - 1985. - Vol. 26. - P. 159 - 167.
629. Weber H., Lamb J.C., Harris M.W. et al. // Ibid. - 1984. - Vol. 20. - P. 183 - 189.
630. Weber H., Poiger H., Schlatter C. // Xenobiotica. - 1982. - Vol. 12. - P. 353 - 363.
631. Welch R.M., Harrison Y.E., Conney A.H. et al. // Science. - 1968. - Vol. 160. - P. 541.
632. West S.B., Huang M.-T., Miwa G.T. et al. // Arch. Biochem. Biophys. - 1979. - Vol. 193. - P. 42.
633. White W.E., Rock S.G. // Drug Chem. Toxicol. - 1983. - Vol. 6. - P. 71 - 78.
634. Wilhelmsson A., Wikstrom A.-Ch., Poellinger L. // J. Biol. Chem. - 1986. - Vol. 261. - P. 13456 - 13463.
635. Williams R.T. Detoxication Mechanisms. - London: Chapman & Hall, 1959. - 561 p.
636. Wolff T., Grein H., Huang M.-T. et al. // Eur. J. Biochem. - 1980. - Vol. 111. - P. 545.
637. Wong T.K., Domin B.A., Bent P.E. et al. // Cancer Res. - 1986. - Vol. 46. - P. 999 - 1005.
638. Woo Y.-T., Lai P.Y., Arcos J.C. et al. (Eds.) Chemical Induction of Cancer. - Orlando - San-Diego - N.Y.: Acad. Press, 1985. - Vol. 111B. - 598 p.
639. Woods J.S., Polissar L. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 84.
640. Wrighton S.A., Campanile C., Thomas P.E. et al. // Mol. Pharmacol. - 1986. - Vol. 29. - P. 405 - 415.
641. Wroblewski V.J., Olson J.R. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1985. - Vol. 81. - P. 231 - 240.
642. Wyndham C., Debenish J., Safe S. // Res. Commun. Chem. Path. Pharmacol. - 1976. - Vol. 15. - P. 563.
643. Yabasaki Y., Shimuzu M., Murakami H. et al. // Nucl. Acids Res. - 1984. - Vol. 12. - P. 2929 - 2938.
644. Yagi N., Itakawa Y. // Environ. Res. - 1980. - Vol. 22. - P. 139.

645. Yamamoto H., Yoshimura H. // Chem. Pharmacol. Bull. (Tokyo). - 1973. - Vol. 21. - P. 2237.
646. Yang R.S.H., Pittman K.A., Rourke D.R. et al. // J. Agric. Food Chem. - 1978. - Vol. 26. - P. 1076 - 1083.
647. Yong A.C., Calcagni J.A., Thaklen G.E. et al. // The Toxicology, Environmental Fate and Human Risk of Herbicide Orange and its Associated Dioxins / USAF OEH. - Technical Rep. TR-78-92. - Texas, 1978.
648. Yoshihara S., Nagata K., Yoshimura H.J. // Pharmacol. Dyn. - 1983. - Vol. 6. - P. 954.
649. Yoshihara S., Nagata K., Yoshimura H. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 1981. - Vol. 59. - P. 580 - 589.
650. Yoshimura H., Kuroki J., Koga N. // Abst. Book DIOXIN'86. - 1986. - P. 58.
651. Yoshimura H., Ozawa N., Saeki S. // Chem. Pharmacol. Bull. - 1978. - Vol. 26. - P. 1215 - 1221.
652. Yuasa A., Yokota H. // Cytochrome P-450, Biochemistry, Biophysics and Environmental Implications / Eds. Hiltanen E., Laitinen M., Hanninen O. - Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982. - P. 185.
653. Zacharewski T., Harris M., Safe S. et al. // Abst. Book DIOXIN'87. - 1987. - Vol. 1. - P. 79.
654. Zingesser M.R. // Teratology. - 1979. - Vol. 19. - P. 54A.
655. Zytkovicz T.H. // Chem.-Biol. Interactions. - 1987. - Vol. 62. - P. 15 - 24.

СПИСОК СОКРАЩЕННЫХ И ПОЛНЫХ НАЗВАНИЙ ЖУРНАЛОВ

- Вопр. онкологии - Вопросы онкологии
Докл. АН СССР - Доклады Академии наук СССР
Успехи соврем. биологии - Успехи современной биологии
Эксперим. онкология - Экспериментальная онкология
Acta Biol. Med. Germ. = Acta Biomed. Germ. - Acta Biologica et Medica Germanica.
Acta Crystallogr. - Acta Crystallographica
Acta Pharmacol. Toxicol. - Acta Pharmacologica et Toxicologica
Abst... - Abstracts...
Adv. Cancer Res. - Advances in Cancer Research
Adv. Enzyme Regul. - Advances in Enzyme Regulation
Adv. Pharm. Sci. - Advances in Pharmaceutical Sciences
Amer. J. Vet. Res. - American Journal of Veterinary Research
Amer. Toxicol. - American Toxicology
Analyt. Biochem. - Analytical Biochemistry
Ann. N.Y. Acad. Sci. - Annals of the New York Academy of Sciences
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. -
Anticancer Res. - Anticancer Research
Arch. Biochem. Biophys. - Archives of Biochemistry and Biophysics
Arch. Toxicol. - Arch. Environ. Contam. Toxicol. - Archives of Environmental Contamination and Toxicology
Bonbury Rep. - Bonbury Report
Biochem. Biophys. Res. Commun. - Biochemical and Biophysical Research Communication
Biochem. Genet. - Biochemical Genetics
Biochem. J. - Biochemical Journal
Biochem. Pharmacol. - Biochemical Pharmacology
Biochem. Soc. Transact. - Biochemical Society Transactions
Biochem. Biophys. Acta - Biochemica et Biophysica Acta
Brit. J. Cancer - British Journal of Cancer
Bull. Environ. Contam. Toxicol. - Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology

Bull. Desert Inst. - Bulletin of Desert Institute
 Can. J. Biochem. Cell Biol. - Canadian Journal of Biochemistry
 and Cell Biology
 Can. J. Physiol. Pharmacol. - Canadian Journal of Physiology
 and Pharmacology
 Cancer Biochem. Biophys. - Cancer Biochemistry Biophysics
 Cancer Res. - Cancer Research
 Chem.-Biol. Interactions - Chemo-Biological Interactions
 Chem. Eng. News - Chemical and Engineering News
 Chem. Pharm. Bull. - Chemical and Pharmaceutical Bulletin
 Clin. Pharmacol. Ther. - Clinical Pharmacology and Therapeutics
 Comp. Biochem. Physiol. - Comparative Biochemistry and Physio-
 logy
 CRC Crit. Rev. Biochem. - Chemical rubber Cleveland. Critical
 Reviews in Biochemistry
 CRC Crit. Rev. Toxicol. - Chemical rubber Cleveland. Critical
 Reviews in Toxicology
 Drug Chem. Toxicol. - Drug and Chemical Toxicology
 Drug Metab. Dispos. - Drug Metabolism and Disposition
 Drug Metab. Rev. - Drug Metabolism Reviews
 Environ. Health Perspect. - Environmental Health Perspectives
 Environ. Mutagen. - Environmental Mutagenesis
 Environ. Res. - Environmental Research
 Eur. J. Biochem. - European Journal of Biochemistry
 Eur. J. Clin. Pharmacol. - European Journal of Clinical Pharma-
 cology
 Exp. Mol. Pathol. - Experimental and Molecular Pathology
 Fed. Proc. - Federation Proceedings
 Food Cosmet. Toxicol. - Food and Cosmetics Toxicology
 ISI. Atlas of Science - Institute for Scientific Information.
 Atlas of Science
 J. Agric. Food Chem. - Journal of Agricultural and Food Chemist-
 ry
 JAMA - The Journal of the American Medical Association
 J. Ariz. Acad. Sci. - Journal of Arizona Academy of Science
 J. Biochem. - J. of Biochemistry sci.
 J. Biol. Chem. - Journal of Biological Chemistry
 J. Cell. Physiol. - Journal of Cellular Physiology

J. Chromatography - Journal of Chromatography
J. Environ. Pathol. Toxicol. - Journal of Environmental Pathology and Toxicology
J. Environ. Sci. Health - Journal of Environmental Science and Health
J. Expt. Pathol. - Journal of Experimental Pathology
J. Nat. Cancer Inst. - Journal of National Cancer Institute
J. Nutr. - Journal of Nutrition
J. Pathol. - Journal of Pathology
J. Pharm. Sci. - Journal of Pharmaceutical Sciences
J. Pharmacol. Exp. Ther. - Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics
J. Pharmacobio.-Dyn. - Journal of Pharmacobio-Dynamics
J. Steroid Biochem. - Journal of Steroid Biochemistry
J. Toxicol. Environ. Health - Journal of Toxicology and Environmental Health
Life Sci. - Life Sciences
Mol. Pharmacol. - Molecular Pharmacology
Mutation Res. - Mutation Research
Naunyn-Schmiederberg's Arch. Pharmacol. - Naunyn-Schmiederberg's Archives of Pharmacology
New Engl. J. Med. - New England Journal of Medicine
Nucl. Acids Res. - Nucleic Acids Research
Pharmacol. Rev. - Pharmacological Reviews
Pharmacol. Ther. - Pharmacology and Therapeutics
Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. - Proceedings of the American Association of Cancer Research
Proc. Nat. Acad. Sci (USA) - Proceedings of National Academy of Sciences
Quarterly Rev. Biol. - Quarterly Review of Biology
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. - Research Communication in Chemical Pathology and Pharmacology
Teratog. Carcinog. Mutagen. - Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis
Toxicol. Appl. Pharmacol. - Toxicology and Applied Pharmacology
Toxicol. Environ. Chem. Rev. - Toxicological and Environmental Chemistry Reviews
Toxicol. Lett. - Toxicology Letters

Toxicol. Pathol. - Toxicologic Pathology

Trends Pharmacol. Sci. - Trends in Pharmacological Sciences

Z. Erkrankungen der Atmungsorgane - Zeitschrift für Erkrankungen der Atmungsorgane

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
Глава I. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ МЕДИЦИНСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ	5
Глава 2. СУДЬБА ПОПАВШИХ В ОРГАНИЗМ ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ	17
2.1. Распределение, ретенция и элиминация	17
2.2. Биотрансформация	32
Глава 3. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ	37
3.1. Ферментативная биотрансформация галобифенилов в микросомах	36
3.2. Индуцирующее влияние смесей галобифенилов на монооксигеназы	42
3.3. Характеристика физико-химических и индуцирующих свойств изомеров СБ-типа	46
3.4. Анализ связи "структура - биологическая активность" для изомеров диоксинового типа	51
Глава 4. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ ДИБЕНЗО-П-ДИКСИНОВ И СХОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	59
4.1. Токсические эффекты	59
4.2. Тератогенность и эмбриотоксичность	69
4.3. Мутагенные и канцерогенные эффекты	77
4.4. Кожные нарушения	89
4.5. Влияние на иммунную систему	93
Глава 5. АНАЛИЗ ЦИТОЗОЛЬНОГО А ₂ -РЕЦЕПТОРА - КЛЮЧЕВОГО МЕДИАТОРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДИКСИНОВ	100
Глава 6. ИНДУЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ ДИКСИНОВ НА ФЕРМЕНТЫ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ КАНЦЕРОГЕНОВ	121
6.1. Индукция монооксигеназ и ферментов II фазы биотрансформации ксенобiotиков	121

6.2. Межвидовые особенности цитохромов P-450IA1 и P-450IA2, индуцируемых хлорированными диоксидами	146
ВМЕСТО ЗАКЛЮЧЕНИЯ: Отзыв на аналитический обзор "Хлорированные диоксины: биологические и медицинские аспекты", подготовленный д-ром биол. наук И.Б. Царловым	161
ЛИТЕРАТУРА	163
СПИСОК СЖАЧЕННЫХ И ПОЛНЫХ НАЗВАНИЙ ЖУРНАЛОВ	204

Цырлов И.Б.

**ХЛОРИРОВАННЫЕ ДИОКСИНЫ:
БИОЛОГИЧЕСКИЙ И МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ**

Аналитический обзор

Художник В.Н. Лебедев

Подписано в печать 12.02.90 МН 10270
Формат 60x84/16 Бумага писчая
Ротапринт. Усл. печ. л. 13,1 Уч.-изд.л. 12,5
Тираж 400 экз. Цена 4 руб. Заказ 240.

ГПНТБ СО АН СССР. Новосибирск, ул. Восход, 15.
Типография СО АН СССР. Новосибирск, пр. К. Маркса, 2.