

Государственная публичная научно-техническая библиотека
Сибирского отделения Российской академии наук
Институт молекулярной биологии и биофизики
Сибирского отделения Российской академии медицинских наук

Серия "Экология"

Издается с 1989 г.

Выпуск 57

Л.Ф. Гуляева, В.А. Вавилин, В.В. Ляхович

**ФЕРМЕНТЫ
БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ
В ХИМИЧЕСКОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ**

Аналитический обзор

Новосибирск, 2000

ББК 55.6

Гуляева Л.Ф., Вавилин В.А., Ляхович В.В. Ферменты биотрансформации ксенобиотиков в химическом канцерогенезе = Xenobiotic biotransformation enzymes in chemical cancerogenesis: Аналит. обзор / ГПНТБ СО РАН, Ин-т молекуляр. биологии и биофизики СО РАН; Науч. ред. д.б.н. Г.М. Дымшиц. - Новосибирск, 2000. - 85 с. - (Сер. Экология. Вып. 57).

ISBN 5-7692-0310-2

В обзоре рассмотрены современные представления о механизмах активации проканцерогенов, роли цитохрома Р450 и ферментов 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков в развитии онкологических процессов. Проведен анализ функционирования этих ферментов, повышающих или уменьшающих вероятность развития опухолей у экспериментальных животных и человека. Приведены результаты собственных исследований авторов, полученные в экспериментах на инбредных линиях мышей, различающихся по чувствительности к канцерогенному действию таких потенциальных проканцерогенов, как аминокрасители, полициклические ароматические углеводороды. Особое место в обзоре занимают собственные экогенетические исследования ферментов биотрансформации ксенобиотиков у населения Сибири, проживающего в различных условиях загрязнения окружающей среды, и онкологических больных. На основе литературных данных и результатов, полученных авторами, сделана попытка оценить патогенетическую роль цитохрома Р450 и ферментов конъюгации ксенобиотиков в процессах канцерогенеза. В связи с этим обсуждается возможность использования оценки активности этих ферментативных систем как одного из факторов риска возникновения онкологических заболеваний.

Материал, представленный в данном обзоре, может быть полезен для специалистов, работающих в области экологии, токсикологии, онкологии и эпидемиологии.

Обзор подготовлен к печати к.п.н. О.Л. Лаврик
Н.И. Коноваловой
Т.А. Калюжной

© Государственная публичная
научно-техническая библиотека
Сибирского отделения
Российской академии наук
(ГПНТБ СО РАН), 2000

ВВЕДЕНИЕ

Рост онкологических заболеваний в текущем столетии происходил такими быстрыми темпами, что это дало основание для сравнения его с эпидемией. Обширные исследования позволили сделать вывод о том, что причиной такого роста являются факторы внешней среды. За это время объем наполнения среды синтетическими соединениями достиг гигантских величин, измеряемых десятками тысяч. Этот список ежегодно пополняется на 300 - 400 новых соединений, что несопоставимо со скоростью естественных биологических механизмов изменчивости (приспособления). По оценкам International Agency for Research on Cancer (IARC), 80 - 90% всех случаев рака связано с воздействием химических факторов окружающей среды [1]. Тогда, на долю генетически обусловленных случаев рака остается 10 - 20%.

Способность вызывать рак (канцерогенность) у многих соединений связана с их токсичностью для генов, или генотоксичностью. Среди известных канцерогенов 75% приобретают генотоксичность при поступлении в организм в результате ферментативной активации в так называемые реактивные метаболиты. В такой ситуации метаболит и является окончательным, или ультимативным канцерогеном, а исходная молекула - предшественником или проканцерогеном. Если в ряду метаболических превращений возникает ряд метаболитов с канцерогенными свойствами, то ближний к началу называется проксимальным канцерогеном.

Огромное структурное разнообразие канцерогенов объединяет одно химическое свойство - электрофильность, которое делает возможным их связывание с нуклеофильными участками молекул нуклеиновых кислот и белков. В связи с этим большое значение в канцерогенезе придают ферментативной системе биотрансформации ксенобиотиков. Последняя включает в себя две функционально сопряженные фазы: цитохром P450-зависимые реакции окисления (1-я фаза) и реакции с участием ферментов 2-й фазы - глутатион S-трансфераз, N-ацетилтрансфераз, эпоксидгидролаз и др. И детоксификация, и активация исходных ксенобиотиков может происходить в реакциях как 1-й, так и 2-й фазы биотрансформации. Соотношение этих процессов зависит от активностей изоформ ферментов биотрансформации, для которых определен ксенобиотик является субстратом. Современная концепция химического канцерогенеза рассматривает этот процесс как многостадийный, состоящий из инициации, промоции и прогрессии. В рамках этой концепции, ферменты биотрансформации ксенобиотиков определяют процессы инициации, и суть событий состоит в

генерации реактивных метаболитов и повреждении ими "критических генов", к которым относят гены, контролирующие клеточный рост - протоонкогены [2], и раковые супрессорные гены. Деление такой клетки и передача генетических дефектов дочерним клеткам составляет содержание стадии промоции. Накопление генетических дефектов, приводящее к утрате присущих нормальной клетке свойств и обретению способности к неконтролируемому росту, метастазированию, происходит на стадии прогрессии. Баланс активностей реакций активации и инактивации ксенобиотиков, процессов репарации ДНК и элиминации клеток с поврежденным геномом определяет вероятность возникновения рака.

Таким образом, значение ферментов биотрансформации ксенобиотиков в проблеме рака обусловлено, во-первых, тем, что они осуществляют взаимодействие организма с разнообразием химических компонентов окружающей среды и, во-вторых, их стартовой позицией в канцерогенном процессе. Кроме того, необходимо помнить, что частота встречаемости онкобольных в большинстве популяций находится в пределах единиц, реже десятков больных на 1000 человек. Это указывает на возможную предрасположенность части популяции к заболеванию раком. Биология ферментов биотрансформации ксенобиотиков, обуславливающая, вследствие генетического полиморфизма или механизмов индуцибельности, межиндивидуальную вариацию активностей в пределах десятков и сотен раз, делает их кандидатами на роль факторов предрасположенности к онкозаболеваниям. А это уже увеличивает возможности профилактики рака.

Принятые сокращения

АА - ацетаминофен

АБ - азобензол

БП - бенз[а]пирен

ГСТ - глутатион S-трансфераза

МХ - 3-метилхолантрен

мЭГ - микросомальная эпоксидгидролаза

НАТ - N-ацетилтрансфераза

ОАТ - орто-аминоазотолуол

ОР - отношение шансов (odds ratio)

ПАУ - полициклические ароматические углеводороды

СУР - номенклатурное обозначение цитохрома P450

СД - сульфадимезин

СТ - сульфотрансфераза

УДФ-ГТ - УДФ-глюкуронозилтрансфераза

ФБК - ферменты биотрансформации ксенобиотиков

Глава 1. МЕТАБОЛИЗМ ХИМИЧЕСКИХ КАНЦЕРОГЕНОВ

В последние десятилетия накоплено большое количество полученных в лабораториях данных, установивших канцерогенные свойства многих химических соединений. Эти же соединения могут рассматриваться как потенциальные канцерогены и для человека, тем более, что они присутствуют в окружающей среде. Следует заметить, что эта проблема возникла не сейчас: канцерогенные для человека соединения присутствовали в продуктах жизнедеятельности грибов и сгорания природных энергоносителей уже многие тысячелетия. Впервые химическую природу рака установил в 1775 г. английский хирург Перциваль Потт, который показал канцерогенность угольной сажи, вызывавшей рак гортани у трубочистов. Позднее, в 1915 г., японские исследователи сделали важное открытие в области химического канцерогенеза животных, показав, что деготь обладает ярко выраженным опухолеобразующим действием. В 1930 г. был впервые выделен химически индивидуальный канцероген - дибензо[*h*]антрацен, вызывавший образование опухолей у экспериментальных животных [3]. Дальнейшие исследования были направлены на выявление канцерогенных компонентов дегтя, среди которых позднее был идентифицирован бенз[*a*]пирен (БП). Каменноугольная смола, используемая в дорожных и строительных работах, содержит бенз[*a*]пирен, наряду с другими ПАУ, а также ароматическими аминами и другими вредными химическими соединениями. Она является сильным канцерогеном для животных, причем активным началом выступает бенз[*a*]пирен, который вызывает опухоли во многих органах [4].

Обнаружение канцерогенных соединений с относительно простой химической структурой стимулировало исследования, направленные на поиск других канцерогенов. Новые канцерогенные соединения выявляются и до настоящего времени. В обзоре D. Clayson [5], опубликованном в 1962 г., сообщается об идентификации около 500 химических канцерогенов, и это число постоянно растет. Многие канцерогены были синтезированы при исследовании взаимосвязи активности вещества и его структуры.

Химические канцерогены разделяют на два больших класса: 1) не требующие дальнейшей активации ферментными системами и 2) требующие метаболической активации. В данном обзоре основное внимание уделяется второму классу химических канцерогенов, которые претерпевают метаболическую активацию, как правило, ферментами 1-й и 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков.

1.1. Полициклические ароматические углеводороды

Первыми канцерогенами, изолированными в чистом виде, были ароматические углеводороды, и понимание механизмов их активации стало ясным лишь в последнее десятилетие. В 70-е годы, когда стала понятной метаболическая активация данных канцерогенов, было высказано предположение, что химические канцерогены действуют через ДНК-реактивные метаболиты. Классическим объектом изучения метаболизма ПАУ стал бенз[а]пирен. Последовательность событий, приводящих к образованию реактивных метаболитов, представлена на рис. 1.1. Первоначальное окисление ПАУ по двойным связям приводит к образованию эпоксидов.

В метаболической активации БП первой стадией является образование 7,8-эпоксида. Для этого эпоксида возможны 3 варианта дальнейшего метаболизма: превращение в фенол, образование конъюгата с глутатионом, катализируемое глутатион S-трансферазой, и гидратация эпоксидгидролазой в *транс*-дигидродиол. Любая из этих трех реакций, при условии быстрой скорости, способна уменьшить реактивность метаболита в отношении ДНК. Реакционная способность эпоксидов зависит от природы ароматической двойной связи. Если энергия связи достаточно высока, т. е. она приближается к истинной ароматической связи, основными продуктами будут фенолы. Это единственный путь, когда сохраняется ароматичность молекулы. Связи с низкой энергией (К-область) проявляют свойства изолированной двойной связи, и, как правило, для этого пути характерно образование конъюгатов с глутатионом. Метаболиты, образовавшиеся во всех перечисленных случаях, не взаимодействуют с ДНК и не могут рассматриваться в инициации канцерогенеза.

Если эпоксид, образующийся в анулярном бензольном кольце, гидратируется во вторичном метаболическом акте в дигидродиол, последний снова может окисляться цитохромом P450 с образованием мутагенного (\pm)-бенз[а]пирен-7,8-дигидродиол-9,10-эпоксида (диолэпоксида ДЭ 2). Это событие менее вероятно, когда первоначально образующийся дигидродиол находится в квазидиаксиальной конформации из-за близости гидроксильных групп к Вау-области или метильной группе [6]. Из этих соображений образование дигидродиол-эпоксидов Вау-области (т. е. когда по соседству с Вау-областью находится эпоксид) происходит легче, чем дигидродиол-эпоксидов, где с Вау-областью соседствует уже дигидродиольный фрагмент. Понимание значения Вау-области дигидродиол-эпоксидов для их канцерогенной активности было продемонстрировано E. Voyleand [7]. Он предположил, что такие эпоксиды могут быть активными метаболитами ПАУ, ответственными за инициацию процессов канцерогенеза, тогда как К-область эпоксидов не является реакционноспособной при взаимодействии с ДНК [8]. ДЭ 2 является высокорекционноспособным химическим соединением, способным связываться с белками, РНК и ДНК. При взаимодействии с ДНК он образует аддукты преимущественно с гуанином (рис. 1.2). Было показано, что такой метаболит обладает ДНК-связывающей способностью, в 10 раз превышающей таковую для бенз[а]пирена, причем этот метаболит в конечном итоге окисляется с образованием алкилирующего агента [9]. Дальнейшие исследования метабо-

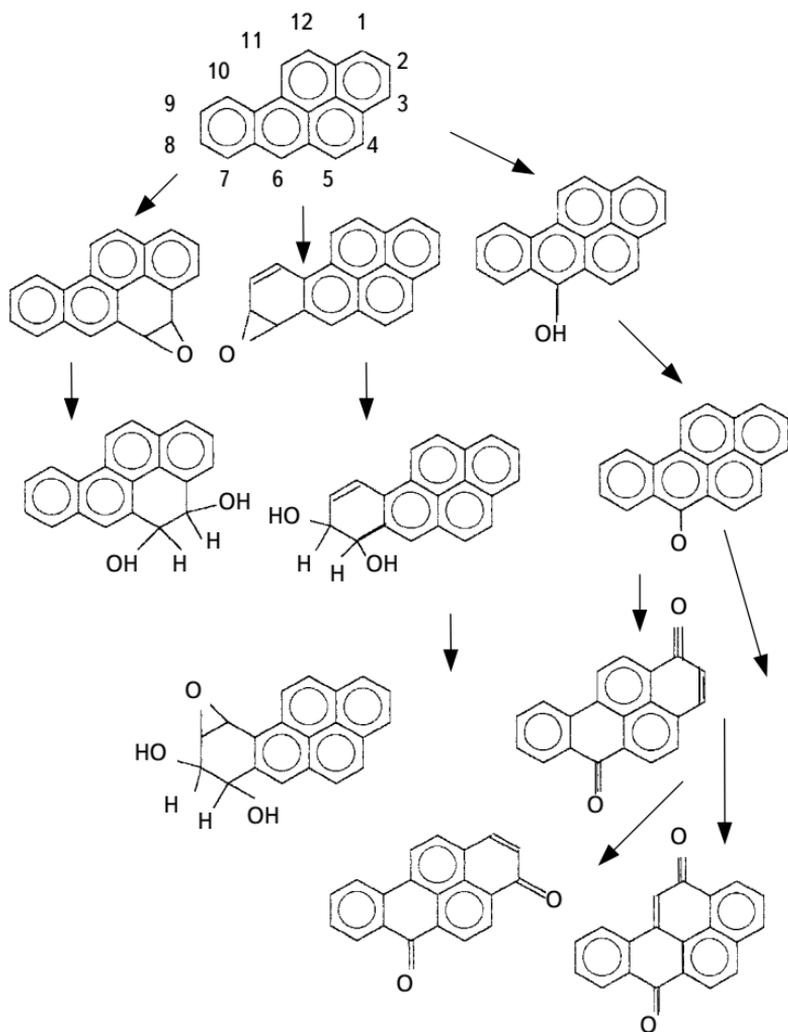


Рис. 1.1. Основные пути метаболизма 3,4-бенз[а]пирена

лизма других ароматических углеводородов также подтвердили значение Вау-области в активации ПАУ [10].

Как и в случае с бенз[а]пиреном, образование ультимативных канцерогенов из других ПАУ во многих случаях изучено через строение их аддуктов с ДНК, синтез различных дигидродиолов и их эпоксидов с после-

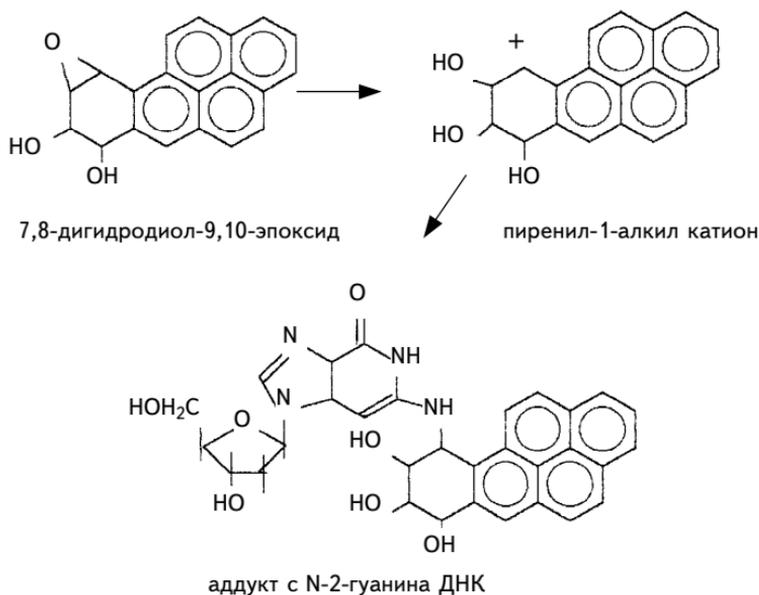


Рис. 1.2. Образование аддуктов метаболитов бенз[а]пирена с ДНК

дующим тестированием на канцерогенность. К настоящему времени считается доказанным, что метаболиты ПАУ, активированные в Bay-области, обладают канцерогенным потенциалом. Так, дигидродиол-эпоксиды бензантрацена и бенз[с]фенантрена с Bay-областью являются более активными опухолеобразующими агентами, чем исходные молекулы [11], тогда как для других углеводородов, таких как 7-метилдibenзоантрацен и хризен, такого эффекта не показано. Такая сниженная активность ультимативных канцерогенов может быть связана с их быстрым гидролизом и, следовательно, инактивацией реактивного метаболита. Нельзя исключить также, что для развития опухоли необходимы и другие, помимо дигидродиол-эпоксидов, метаболиты.

БП, как и многие другие ПАУ, связывается с цитозольным белком Ah-рецептором, активируя таким образом многие гены (CYP1A, CYP1B, УДФ-ГТ, GST и др.) [12]. Среди мышей были выявлены линии, чувствительные и резистентные к индукции ПАУ. Основное различие между нечувствительными (DBA/2; D2) и чувствительными мышами (C57BL/6; B6) состоит в том, что у первых этот рецептор присутствует в клетках в незначительных количествах и представлен в виде его низкоаффинной формы. Такое изменение аффинности рецептора к ПАУ связано с мутациями в гене этого белка. Анализ токсичности и канцерогенности химических соединений относительно Ah-фенотипа показал, что способ введения канцерогена и органмишень, поражающийся им, являются определяющими в развитии токсиче-

ских процессов [13]. Межлинейные различия относительно Ah-локуса были обнаружены и в образовании аддуктов ПАУ с ДНК в костном мозге мышей, причем их количество было выше у мышей D2 [14]. Совсем недавно появились сообщения об активации БП цитохромом P4501B1 (CYP1B1) печени человека, формы, специфично индуцируемой диоксином [15].

Дибензо[а]пирен (ДБП) - один из сильных канцерогенов, принадлежащих к классу ПАУ, вызывает опухоли кожи у мышей и грудной железы крыс. Это соединение обнаружено в почве, конденсате сигаретного дыма. Его высокая токсичность и канцерогенность, а также распространенность в окружающей среде представляют серьезную опасность для человека. Диолэпоксиды, преимущественно 11,12-диол-13,14-эпоксид, образующиеся в результате метаболической активации цитохромом P4501A, связываются с множественными сайтами ДНК [16]. Было убедительно показано, что ДБП - сильный легочный канцероген по сравнению с другими ПАУ из окружающей среды, метаболиты которого образуют аддукты с ДНК, вызывая таким образом мутации, в том числе и в онкогене K-ras, гене-мишени для химических канцерогенов [17].

В настоящее время идентифицированы ферменты, участвующие в метаболизме ПАУ. Ключевым ферментом, осуществляющим их биотрансформацию, является цитохром P4501A1 [18]. Многочисленные работы, выполненные на мышах и крысах, показали, что эта форма CYP гидроксилирует БП и другие ПАУ. Образовавшиеся гидроксиметаболиты подвергаются дальнейшему метаболизму, в который вовлекаются ферменты 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков, такие как эпоксидгидролаза и GST. Недавно были проведены исследования по метаболизму БП формами CYP человека [19], экспрессированными в дрожжах. CYP1A1 был наиболее активным в метаболизме этого канцерогена, причем среди продуктов окисления были как фенолы, так и дигидродиолы. Другие CYP, такие как CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, 2C18, 2C19 и 3A4, присутствующие в печени человека в достаточных количествах, гидроксильировали БП с выходом 3-ОН-БП и некоторых его дигидродиолов. Дальнейшее окисление образовавшегося проксимального мутагена 7,8-диола БП осуществляется также CYP1A1. Когда результаты экспериментов были экстраполированы на микросомную систему печени человека, оказалось, что CYP3A4 и CYP2C9 играют ключевую роль в образовании 3-ОН-БП (путь детоксикации), тогда как накопление 7,8-диола происходит за счет CYP1A2, 2C9 и 2C19. Образование генотоксического диолэпоксиды (путь токсификации) катализируется CYP1A2 и 3A4.

1.2. Гетероциклические амины

Эпидемиологические исследования показали строгую корреляцию между факторами питания и возникновением рака, причем некоторые сообщения предполагают взаимосвязь между потреблением пережаренного мяса и определенными типами рака человека [20]. Некоторые гетероциклические амины класса аминимидазоазарена (АИА) были изолированы из пережаренного мяса. Многие из них были мутагенами в тесте Эймса и канцероген-

нами для грызунов [21]. Около 75% от всех гетероциклических аминов этого класса представлено 2-амино-1-метил-6-фенилимидазо[4,5-b]пиридином (PhIP). Было показано, что это соединение вызывает рак грудной железы и кишечника у крыс [22] и лимфому у мышей [23]. Учитывая его канцерогенность для грызунов и высокое содержание в пище, можно предположить его потенциальную опасность в этиологии рака у человека. Для проявления генотоксичности таких соединений необходима метаболическая активация цитохромом P450, особенно CYP1A2, в N-гидро-ксиметаболиты [24]. Образовавшиеся в результате окисления метаболиты далее подвергаются O-ацетилированию N-ацетилтрансферазами NAT1 и NAT2, либо могут экскретироваться в виде глюкуронидов с желчью, проходя затем деконъюгацию, осуществляемую кишечной флорой, и окончательно выводятся из организма через O-ацетилирование кишечной формой NAT [25]. Тогда одним из факторов, определяющим риск заболевания колоректальным раком, который, как предполагают, индуцируется этими токсинами, может быть активность ферментов детоксикации, т. е. NAT2. Недавно это предположение было подтверждено в исследовании, где показана положительная корреляция между статусом ацетилирования, курением, питанием и риском возникновения колоректального рака [26]. Появились сообщения о том, что в активацию этого токсина вносит вклад недавно идентифицированный цитохром P4501B1, в результате каталитического участия которого образуется реакционноспособный N-OH-PhIP [27]. Так как этот цитохром P450 экспрессируется во внепеченочных органах, в том числе и ткани молочной железы и прямой кишки, делается вывод о роли этого фермента в этиологии рака этих органов. Доказано, что PhIP индуцирует более 32 видов мутаций [28].

Эпидемиологические исследования, проведенные в Китае, показали, что среди женщин, болеющих раком разной этиологии, 60% приходится на рак легкого, хотя большинство китайских женщин не курит. В связи с этим, интерес был сосредоточен на поиске других факторов, включая пассивное курение, дым против комаров, сгорание угля в домашних печах, масло для жарки пищи, которые могли бы влиять на столь высокий процент данной патологии. Был проведен множественный условно-логический регрессионный анализ факторов риска заболевания раком легкого на Тайване, который выявил существенную роль мутагенных/канцерогенных компонентов, образующихся в результате приготовления пищи [29]. Были проанализированы аэрозольные компоненты пищи, образующиеся после жарки. Показано, что основным компонентом смеси пирогенных гетероциклических аминов является 2-амино-3,8-диметилимидазо[4,5-f]хиноксалин, обладающий высоким мутагенным потенциалом [30].

1.3. Пищевые токсины

В последнее время все больший интерес проявляется к патогенезу гепатоцеллюлярной карциномы человека - опухоли, появляющейся с большой частотой в некоторых регионах земного шара (Китай, Мозамбик, Сенегал,

Мексика). Географические вариации появления этой болезни коррелировали с различиями в экспозиции некоторыми потенциальными этиологическими агентами, такими как вирус гепатита В, химическими канцерогенами, включая пищевые микотоксины, а также алкогольный цирроз печени [31], причем хроническая инфекция вирусом гепатита В и экспозиция афлатоксином В1 представляют синергический фактор риска [32].

Недавно была показана мутация в 249-м кодоне гена р53 в клетках гепатоцеллюлярной карциномы человека, вызванной приемом пищи, содержащей афлатоксин В1, причем частота этой мутации составляла около 50% [33]. Эта мутация была обнаружена и в образцах печени здоровых людей, проживающих в областях с повышенным содержанием этого токсина, из чего был сделан вывод о том, что данное молекулярное событие возникает на ранних стадиях развития гепатоцеллюлярной карциномы. Было также доказано, что развитие цито- и генотоксических эффектов афлатоксина В1 происходит лишь после его биоактивации цитохромом Р450. Некоторые цитохромы Р450 человека, такие как СYP1A2, СYP2A6, СYP2B6 и СYP3A4 [34], метаболизируют этот токсин в реакции эпоксилирования двойной связи терминального фуранового кольца, в результате чего образуется электрофильный метаболит, способный алкилировать нуклеиновые кислоты [35].

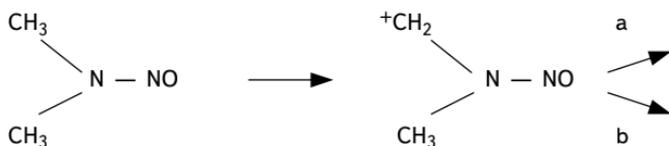
Интересно, что, несмотря на более чем 85%-ю гомологию между СYP3A4 и 3A5 и обусловленную этим сходную субстратную специфичность в отношении множества субстратов, эти изоформы сильно различаются по региоспецифичности в метаболизме АFB1. Соотношение нетоксичного 3-гидрокси-АFB1 и генотоксичного эпокси-АFB1 составляет 2,2 в случае метаболизма СYP3A4 и 0,3 в случае СYP3A5. Следовательно, последняя форма играет более важную роль в токсичности этого соединения [36]. Были также проведены исследования по кинетике окисления этого токсина цитохромами Р450 1A2 и 3A4, экспрессируемыми с кДНК [37]. Обе эти формы катализировали образование как генотоксичных 8,9-эпоксидов, так и химически неактивных метаболитов - афлатоксина М1 и Q1, причем в активации данного канцерогена показана преобладающая роль СYP1A2. Ввиду наличия межиндивидуальных различий в активности цитохромов Р450 человека существуют и различия в активации проканцерогенов, поэтому определение индивидуальной степени риска должно учитывать не только количество попавшего в организм токсина, но и активность ферментов, вовлеченных в его токсификацию/детоксикацию. Недавно были получены линии клеток человека, стабильно экспрессирующие вышеуказанные формы цитохрома Р450, и обнаружена корреляция между активностью этих Р450 и генотоксичностью афлатоксина В1 [38].

1.4. Активация N-нитрозоаминов

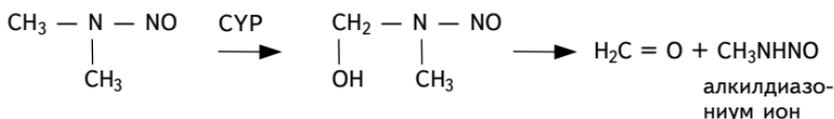
Хотя биохимические и молекулярные механизмы канцерогенности N-нитрозоаминов остаются неясными, считается доказанным, что иницирующим шагом в метаболической активации этих соединений является энзиматическое деалкилирование с образованием реактивных электрофильных алки-

лирующих агентов, способных взаимодействовать с нуклеофильными сайтами ДНК, что приводит к ее повреждению [39]. Появляется все больше доказательств в пользу того, что и у экспериментальных животных, и у человека, важную роль в биоактивации нитрозодиаalkиламинов с короткими алкильными цепями играет цитохром P450-зависимая монооксигеназная система [40]. Так, цитохром P450E1, индуцируемый этанолом и пиридином, активирует N-нитрозодиметиламин, обуславливая, таким образом, цитотоксичность, мутагенность и генотоксичность этого соединения [41].

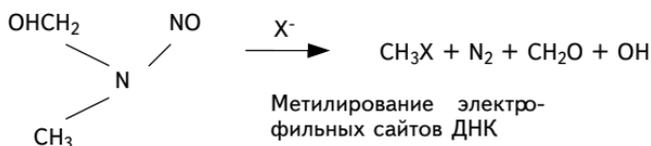
После открытия канцерогенности N-нитрозодиметиламина для крыс довольно скоро стало понятным, что соединения этого класса реализуют свое канцерогенное действие через метаболиты [42]. Это хорошо изученное соединение является наиболее простым среди нитрозоаминов. Было показано, что принципиальной реакцией активации является N-деалкилирование нитрозоаминов с образованием альдегидов при окислении α -углеродного атома одной из алкильных групп (рис. 1.3). Образовавшиеся



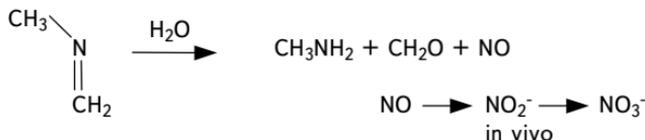
А.1. Гидроксилирование
2. Деметилирование (CYP2E1)



или



В. Денитрозирование



ни альдегиды и соответствующие нитрозомоноалкиламины. Последние весьма нестабильны и расщепляются до алкилдиазониевого иона или напрямую до

карбокатиона в зависимости от стабильности. Обе ионные структуры обладают высокой электрофильностью и являются ультимативными канцерогенами. Гидроксилирование, катализируемое цитохромом P450, является основным метаболическим путем в биоактивации нитрозоаминов. Все остальные метаболические превращения, скорее всего, детоксификационные. ДНК и РНК, изолированные из печени крыс, получавших полностью дейтерированные N-нитрозодиметиламин и N-нитрозодиэтиламин, сохраняли весь дейтерий в присоединившихся метильных и этильных группах, соответственно [43]. Гепатотоксичный N-нитрозодиэтиламин является для человека канцерогеном. В экспериментах, выполненных на микросомах печени человека, показано, что основным ферментом, ответственным за метаболическую активацию этого токсина, является CYP2E1 [44].

4-(метилнитрозоамино)-1-(3-пиридил)-1-бутанол - специфичный для табачного дыма нитрозоамин, образуется в результате нитрозирования никотина. Это соединение индуцирует возникновение рака легкого, печени, слизистой носовой полости и поджелудочной железы у экспериментальных животных и, как предполагают, у человека. Как для большинства других канцерогенов, его участие в инициации рака реализуется через метаболическую активацию цитохромом P450. Этот процесс включает в себя последовательное гидроксилирование и деметилирование данного нитрозоамина, в результате чего продукты метаболизма могут метилировать ДНК [45]. Хотя гидроксилирование осуществляется несколькими формами цитохрома P450, CYP1A2 является основным ферментом, активирующим данное соединение в печени человека [46]. Было показано, что в активации этого соединения, как и самого никотина, участвует также цитохром 2D6 [47]. Более того, S. Kato et al. показали существенно уменьшенное количество аддуктов у людей, имеющих дефект этого гена по обоим аллелям [48]. Следовательно, люди, имеющие низкую активность этого цитохрома P450, обладают пониженным риском заболевания раком легкого. Было также предположено, что эта связь еще более усиливается, когда люди находятся в условиях повышенного содержания полиароматических углеводородов и асбеста [49].

N-нитрозонорникотин (NNN) - табак-специфичный нитрозоамин, вызывающий рак пищевода у курильщиков [50]. Предполагается, что 2'-гидроксилирование этого канцерогена является критическим в его активации. Этот факт подтверждается данными по образованию аддуктов с ДНК, тестом на мутагенность, тканеспецифичным метаболизмом. Реакция преимущественно протекает в слизистой пищевода и носовой полости крыс, органах-мишенях для NNN-индуцированного канцерогенеза [51]. Недавно было показано, что в микросомах печени человека 2'-гидроксилирование NNN осуществляется цитохромом P4503A4, тогда как детоксикация этого канцерогена происходит через 5'-гидроксилирование цитохромом P4502A6 [52]. Следовательно, люди с низкой активностью цитохрома P4502A6 должны быть более чувствительны к генотоксичному действию 2'-гидроксиметаболита NNN в печени и других органах.

N-нитрозодипропиламин (NDPA) и N-нитрозодибутиламин (NDBA), два длинноцепочечных нитрозодиакиламины, также являются потенциальными

мутагенами и канцерогенами. Эти соединения широко распространены в окружающей среде, они могут присутствовать в пище и воде. Окислительное dealкилирование NDPA и NDBA осуществляется несколькими формами цитохрома P450: CYP2E1 и CYP2B1, образующиеся при этом реактивные метаболиты могут повреждать ДНК [44].

1.5. Метаболическая активация N-гидроксипроизводных 4-аминобифенила

4-аминобифенил - канцероген, вызывающий рак мочевого пузыря у человека [53]. Хотя это соединение больше не используется в промышленности, оно может быть обнаружено в различных загрязнителях окружающей среды, таких как сигаретный дым и синтетические горючие материалы. Его аддукты с гемоглобином находят как у курильщиков, так и у некурящих людей. Механизмы канцерогенности арилинов в последнее время интенсивно исследуются. Основным механизмом активации этой группы канцерогенов является N-гидроксилирование, катализируемое цитохромом P4501A2 [54].

Образовавшиеся N-ОН-ариламины представляют собой ультимативные канцерогены, большинство из которых проходит дальнейшую активацию в реактивные электрофильные метаболиты, способные связываться с ДНК и другими клеточными макромолекулами [55]. Одним из таких путей является образование реактивных эфиров серной кислоты, катализируемое сульфотрансферазами. Этот процесс часто называют сульфатацией. В цитозоле клеток печени человека идентифицировано три класса таких ферментов: два изомера фенольной сульфотрансферазы и одна форма, катализирующая сульфатацию стероидов и желчных кислот, так называемая ДГЭС (дегидроэпиандростерон)-сульфотрансфераза. Фенольная сульфотрансфераза конъюгирует фенолы и производные катехоламинов, причем одна изоформа термостабильная, а другая нет.

Недавно было показано, что термостабильная форма фермента преобразовывает N-ОН-ариламины в реактивные метаболиты в печени человека [56]. 4-аминобифенил канцероген для мочевого пузыря, но не печени человека. Он же является канцерогеном и для мочевого пузыря собак, на которых было показано накопление данного метаболита и образование его ДНК-аддуктов в этом органе-мишени [57]. Предполагается, что дальнейшая активация метаболита может происходить в мочевом пузыре через O-ацетилирование, которое может катализироваться микросомальными эстеразами или цитозольными ацетилтрансферазами (NAT1).

Остается неизвестным, играет ли биоактивация сульфотрансферазой печени главную роль в генезисе рака мочевого пузыря человека, но представляется невероятным, что сульфопроизводные аминобифенила, будучи слишком неустойчивыми в водном окружении, пройдут почечную циркуляцию и сформируют ДНК-аддукты в мочевом пузыре. Сульфоактивация метаболитов *in situ* в эпителиальных клетках этого органа также представляется проблематичной, так как сульфотрансферазная активность здесь не

обнаруживается. Этот факт подтверждается сообщением, показывающим, что 2-нафтол не сульфатируется в мочевом пузыре, в отличие от таких органов, как печень, почки, легкие и кишечник [58]. Поэтому, образование сульфоконъюгатов для данных канцерогенов можно рассматривать и как детоксикационный процесс, тем более, что происходит он в печени. Тогда N-ацетилирование конкурирует с N-гидроксилированием, а сульфатация уменьшает количество гидроксиметаболитов, которые транспортируются в органы-мишени. В пользу этого предположения свидетельствует тот факт, что у афро-американцев наблюдается низкая частота возникновения рака мочевого пузыря. Было показано, что они обладают более высоким (почти в 2 раза выше по сравнению с белым населением) базальным уровнем термостабильной сульфотрансферазы как в крови, так и печени [59].

Тем не менее, если процесс сульфатации не является активирующим путем в аминобифенил-индуцируемой канцерогенезе, он важен для других ариламинов или ариламидов в различных тканях человека, поскольку H. Chou et al. показали возможность образования генотоксичных сульфатов N-гидроксипроизводных 2-ацетиламинофлуорена, 2-амино-1-метил-6-фенилимидазо[4,5-b]пиридина и других гетероциклических аминов в цитозоле печени человека [60].

1.6. Механизмы активации ароматических аминов и азобензолов

Первое прямое доказательство, что метаболиты канцерогена являются более канцерогенными, чем исходная молекула, было продемонстрировано в работе E. Miller et al. на примере 2-флуоренилацетамида [61]. Авторами показано, что N-гидроксилированный метаболит этого канцерогена обладал гораздо более высоким канцерогенным потенциалом, чем 2-флуоренилацетамид и гидрокселированные по кольцу метаболиты. К настоящему времени общепринято, что N-гидроксилирование широкого круга канцерогенных N-замещенных ароматических соединений является путем активации этих соединений. Среди этого класса соединений достаточно хорошо изучен метаболизм канцерогенного ацетиламинофлуорена (рис. 1.4). Канцерогенный эффект этого соединения осуществляется через образование реактивного метаболита N-гидрокси-ацетиламинофлуорена, тогда как окисление по углеродным атомам кольца представляет путь детоксификации.

Исследования канцерогенности других ароматических аминов, таких как 4-аминобифенил, 2-нафтиламин и бензидин, показали, что их метаболиты, образующиеся в результате окисления цитохромом P4501A, могут взаимодействовать с ДНК [62]. Недавно был исследован уровень аддуктов

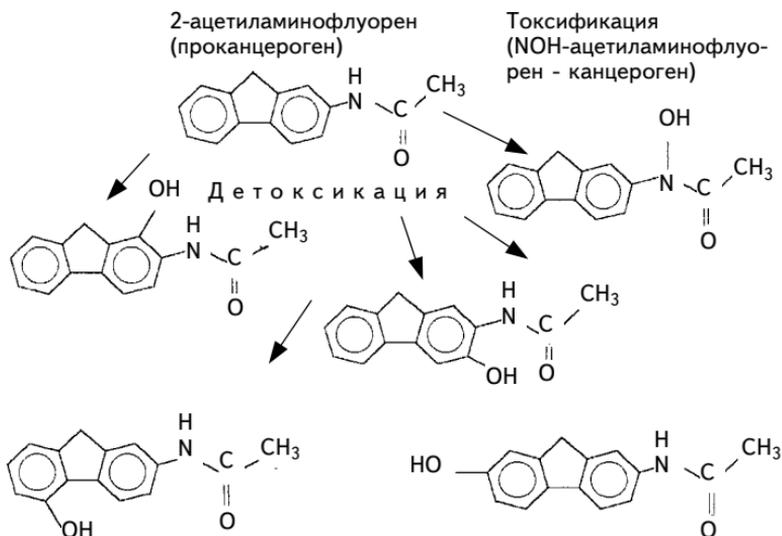


Рис. 1.4. Метаболизм 2-ацетиламинофлуорена

этих канцерогенов с ДНК в поджелудочной железе человека [63]. В 8 из 29 образцов ДНК был идентифицирован основной аддукт 4-аминобифенила - N-(дезоксигуанозин-8-ил)-аминобифенил. Авторами делается предположение о том, что ароматические амины, а также нитроароматические углеводороды могут играть существенную роль в этиологии рака поджелудочной железы.

Азосоединения как красители широко используются в современной индустрии, включая такие области, как косметическая, пищевая, бумажная, кожная и текстильная промышленности. Некоторые из азокрасителей являются канцерогенами для животных и проявляют положительный эффект в тестах на мутагенность [64]. Как и многие другие химические канцерогены, они проявляют свой канцерогенный эффект через образование высокореактивных метаболитов, которые могут взаимодействовать с ДНК, что может привести к возникновению мутаций [65]. Показано, что метаболизм таких соединений может происходить в нескольких направлениях (рис. 1.5).

Первый путь - это анаэробная азоредукция, катализируемая азоредуктазами млекопитающих или бактериальной флорой желудочно-кишечного тракта [66]. Продукты деградации могут затем подвергаться окислению с образованием генотоксичных форм. Если этого не происходит, то процесс азоредукции можно рассматривать как детоксикационный процесс. Другой

путь - это N-гидроксилирование микросомальным цитохромом P450 и ферментами флавиновой монооксигеназной системы [67].

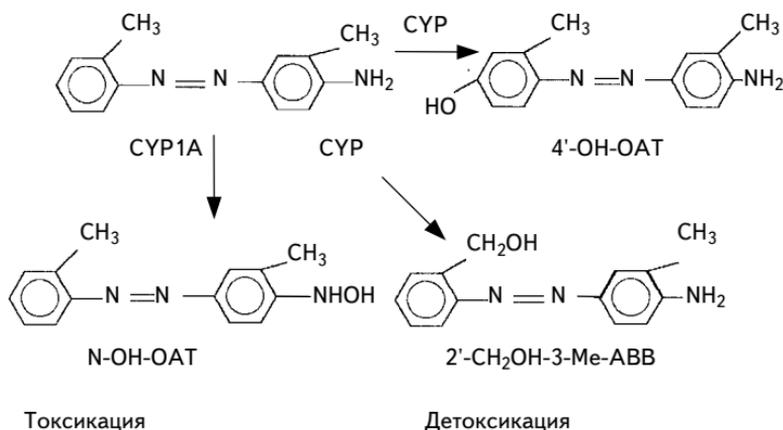


Рис. 1.5. Пути метаболизма *o*-аминоазотолуола (OAT)

Образовавшиеся гидроксиламины обладают свойствами либо проксимальных, либо ультимативных канцерогенов с карбониевыми, нитрониевыми ионами или нитроксидными радикалами. Следует заметить, что аддукты азобензолов с ДНК сохраняли азосвязь. Цитохром P450 окисляет данные канцерогены и по кольцу, при этом образующиеся гидроксиметаболиты теряют генотоксичность и, следовательно, этот путь метаболизма является детоксикационным.

Структурно близкие азобензолы обладают разным канцерогенным потенциалом. Так, диметиламиноазобензол представляет собой потенциальный канцероген, тогда как диэтиламиноазобензол не является канцерогеном. В настоящее время исследователи изучают возможные причины таких различий. Одной из них может быть различная степень генотоксичности ультимативных канцерогенов. Показано, что N-гидроксилирование азобензолов осуществляется цитохромом P450 CYP1A2, который конститутивно экспрессируется в печени, являющейся органом-мишенью для этого класса канцерогенов [68]. Количество этого фермента в печени человека незначительно, следовательно, выход реактивных метаболитов также мал, и эту ситуацию можно рассматривать как несущественную для активации канцерогена. Однако при повторяющихся воздействиях азобензолов на печень грызунов данные соединения могут селективно индуцировать ту форму цитохрома P450, которая катализирует N-гидроксилирование, ускоряя таким образом образование генотоксичных метаболитов. Следовательно, индукция специфических форм цитохрома P450 может вносить свой вклад в развитие канцерогенных эффектов азосоединений.

Y. Cheung et al. изучали взаимосвязь между индуцибельностью CYP1A различными азобензолами, их мутагенностью и канцерогенностью [68]. Они показали, что *o*-аминоазотолуол и метоксиаминоазобензол в присутствии микросомальной фракции печени крыс, индуцированных арохлором 1254, наиболее мощным индуктором CYP1A1, проявляли ярко выраженный мутагенный эффект в тесте Эймса. Этот факт соответствовал высокой скорости образования генотоксичных N-гидроксиметаболитов этих соединений, являющихся, в свою очередь, канцерогенами для животных. Слабый мутагенный эффект был обнаружен для метилдиметиламиноазобензола, обладающего также слабой канцерогенностью и индуцирующим действием. Таким образом, была доказана тесная взаимосвязь между индуцибельностью цитохрома P4501A1 различными азобензолами, их канцерогенностью и мутагенностью.

Глава 2. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ ДЛЯ КАНЦЕРОГЕНОВ

Активированные в процессах биотрансформации ксенобиотики могут взаимодействовать практически со всеми макромолекулами клетки: белками, липидами, нуклеиновыми кислотами. Патогенез онкозаболеваний связан с генетическими повреждениями, поэтому в настоящем обзоре мы рассматриваем прежде всего повреждение ДНК.

2.1. Аддукты канцерогенов с ДНК

Канцерогены являются, как правило, мутагенами и инициируют мутагенез взаимодействием с ДНК и образованием аддуктов, которые могут вступать в репликацию из-за ошибок ферментов репарации и ДНК-полимеразы. Канцерогены-мутагены могут, как правило, реагировать с разными атомами в молекуле ДНК с образованием различных аддуктов. Однако остается неясным, какой тип аддуктов и почему вызывает мутации [69].

В настоящее время широкое распространение получили исследования так называемого сайт-специфичного мутагенеза с использованием маркерных генов или синтетических олигонуклеотидов. Известно, что определенные последовательности ДНК могут подвергаться мутагенезу, в связи с чем разрабатывается концепция "горячих точек" ("hotspot") мутаций. В ранних исследованиях мутагенного действия афлатоксина В1 показано, что в 90% случаях он вызывает мутацию GC → AT [70]. Позднее было установлено, что этот канцероген связывается, главным образом, с GC-обогащенными областями ДНК. Мутация, вызванная 2-ацетиламинофлуореном, происходит из-за сдвига рамки считывания на два нуклеотида в Nrg1 последовательности 5'-G1G2CG3CC-3', в результате чего образуется аддукт 2-ацетил-аминофлуорен-C8-Gua, причем в процесс вовлечен лишь G3 [71].

Мутация AT → GC является преобладающей в мутационных спектрах оксида азота [72].

Образование аддуктов канцерогенов с ДНК исследовали на животных моделях в тканях-мишенях и немишенях. Было сделано несколько важных выводов.

1. Аддукты находят во многих тканях, в том числе и немишенях, что свидетельствует о том, что этот процесс не определяет тканеспецифичность

возникновения опухолей [73]. И неудивительно, что такие реактивные канцерогены как, например, окись этилена, алкилируют ДНК во многих тканях в равной степени [74].

2. Есть особые виды канцерогенов, которые связываются с ДНК в тканях-мишенях, что коррелирует с их канцерогенностью. К ним относятся Н-нитрозосоединения [75].

3. Связывание канцерогенов с ДНК необязательно вызывает образование опухоли.

4. Канцерогены, взаимодействующие с ДНК, проявляют различную специфичность: О-алкилирование характерно для малых молекул канцерогенов, тогда как канцерогены больших размеров связываются преимущественно с гуанином в положении N-7 [76].

5. От стабильности аддуктов с ДНК зависит вероятность появления опухолей [77].

6. В некоторых, но не во всех случаях органы-мишени чувствительных к возникновению опухолей видов животных имеют более высокий уровень аддуктов, чем те же органы резистентных особей [78].

Все перечисленное выше свидетельствует о том, что не существует простого алгоритма для решения проблемы взаимосвязи количества аддуктов канцерогенов и риска возникновения опухоли в какой-либо ткани. Отсюда следует, что для решения такой сложной биологической проблемы, как рак, простой алгоритм не будет найден никогда. Аддукты лишь пяти соединений были выявлены в экспериментах по хроническому введению канцерогенов. Эти исследования включают определение аддуктов 2-ацетиламинофлюорена в печени и 4-аминобифенила в мочевом пузыре, афлатоксина В1 и диэтилнитрозоамина в печени и содержащегося в табачном дыме нитрозоамина в легких [79]. Во всех случаях наблюдалась линейная зависимость между уровнем аддукта и дозой канцерогена, а также частотой образования опухоли. В экспериментах, выполненных на крысах, получено также прямое доказательство образования аддуктов бенз[а]пирена с ДНК в различных тканях-мишенях [80].

Довольно большое число работ посвящено образованию аддуктов ПАУ у человека. Чаще всего это касалось наиболее реакционноспособных метаболитов бенз[а]пирена - диолэпоксидов. Относительно других производных ПАУ вопрос остается открытым, что связано прежде всего с трудностями их идентификации.

2.2. Раковые супрессорные гены и протоонкогены как мишени для канцерогенов

Канцерогенез, с современной точки зрения, является сложным многостадийным процессом, причиной которого может быть как активация протоонкогенов, так и инактивация раковых супрессорных генов. Различная экспрессия этих критических генов и других генов, контролируемых ими, вносит вклад в злокачественную трансформацию клеток. Идентификация этих

генов необходима для понимания молекулярных механизмов канцерогенеза. М. Kulescz-Martin et al. разработали модель трансформации мышиной эпидермальной клеточной линии *in vitro*, в которой можно проследить множественные этапы трансформации [81]. Клетки были обработаны химическим канцерогеном 7,12-диметилбензоантраценом. Были изолированы несколько клонов клеток на основании их различной реакции на внеклеточный кальций. Дальнейшая обработка клеток ретиноевой кислотой и трансплантация в бестимусных мышей привела к образованию трех типов опухолевых клеток доброкачественной папилломы, дифференцированной сквамозно-клеточной карциномы и слабодифференцированной сквамозно-клеточной карциномы, которая была наиболее злокачественной и давала метастазы. С использованием ПЦР-технологии был проведен дифференциальный дисплей РНК для данных клеточных линий, что позволило идентифицировать как переэкспрессию, так и супрессию генов. Образцы РНК анализировались комбинацией 12 праймеров, что позволило, по мнению авторов, рассмотреть динамический процесс генетических повреждений во время многоэтапного канцерогенеза.

В связи с открытием доминантных онкогенов, таких как *т-мус*, стало очевидным значение нарушения экспрессии генов в генезисе рака. Впервые это было показано для многих лимфом, характеризующихся хромосомными транслокациями, которые, как правило, затрагивают ген иммуноглобулина и *с-т-мус* [82]. Более того, онкоген *с-т-мус* может функционировать как фактор транскрипции, что может приводить к дальнейшим нарушениям клеточного метаболизма. Другие доминантные протоонкогены, такие как *с-газ* и *с-гаф*, могут также повреждаться канцерогенами. Интересные результаты были получены при исследовании мутаций в онкогенах и раковых супрессорных генах. Так, окись стирола взаимодействует с ДНК с образованием N6-Ade-аддукта в 61-м кодоне протоонкогена *H-ras* [83]. В табл. 2.1. приведены некоторые данные о специфичном взаимодействии активированных канцерогенов с ДНК.

Т а б л и ц а 2.1

Взаимодействие химических канцерогенов с ДНК

Показатель	Алкилирующие агенты	ПАУ. Реактивный метаболит	ПАУ. Исходный углеводород	Ароматические амины
Канцероген	N-метил-N-нитрозомочевина	Бенз[а]пирен-7,8-диол-9,10-эпоксид	7,12-диметилбензантрацен	N-гидрокси-2-ацетиламинофлуорен
Промутагенный сайт в ДНК	O-6-Gua	N-2-Gua	N-6-Ade	N-2-(C8)-Gua
Мутация	GC→AT	GC→TA	AT→TA	GC→TA
Экспериментальная система	Грудная карцинома крыс	Плазмида с <i>H-ras</i> онкогеном	Папиллома или карцинома кожи мы-	Гепатома печени мыши

	шей			
Сайт мутации	12-й кодон	61-й кодон	61-й кодон	61-й кодон H-ras
	H-ras	H-ras	H-ras	ras
	GGA→GAA	CAA→AAA	CAA→CTA	CAA→AAA

Известно, что гены *c-ras* кодируют белки, обладающие способностью связывать гуанин и гидролизовать ГТФ, основная функция которых заключается в передаче клеточного сигнала от тирозин-киназного рецептора к ядерным белкам, что является одним из ключевых звеньев в регуляции клеточного деления и дифференцировке [84]. В экспериментальных моделях химического гепатоканцерогенеза у крыс, обработанных различными соединениями, показано нарушение экспрессии как *c-Ha-ras*, так и *c-myc* [85]. Мутации в 12, 13 или 61-м кодонах этих генов найдены в 20% опухолях человека. Активация *ras*-белков может происходить и в отсутствие мутации. Оказалось, что регуляторная область протоонкогена *c-Ha-ras* содержит цис-активный элемент для бенз[а]пирена, индуцирующий взаимодействие комплекса индуктор-Ah-рецептор с геном *ras*, что сопровождалось усилением транскрипции этого гена [86]. Таким образом, прямое взаимодействие канцерогена с протоонкогеном может приводить к усилению его транскрипции и вероятному нарушению клеточной пролиферации.

Другой протоонкоген *c-raf* также является одним из важных звеньев в передаче клеточных сигналов (пути сигнальной трансдукции) при дифференцировке и клеточном делении [87]. Нарушение экспрессии этого гена влечет за собой изменение гомеостаза клетки и, как результат, ее трансформацию, что было показано для некоторых опухолей [88]. Измененная экспрессия протоонкогена *c-raf* была зарегистрирована в неопластических узелках гепатоцеллюлярной карциномы у крыс, обработанных диэтилнитрозоамином [89]. Хроническое кормление крыс полихлорированными бифенилами сопровождалось усилением экспрессии протоонкогенов *c-Ha-ras*, *c-erb A*, *c-erb B* и, особенно, *c-raf* [90], причем экспрессия последнего была в 10 раз выше по сравнению с необработанными животными [91]. Следует заметить, что на сегодняшний день трудно установить причинно-следственную связь между повреждением протоонкогена *c-raf* и возникновением опухоли, хотя ясно, что это повреждение важно в процессе развития опухоли.

2.3. Взаимосвязь химического онкогенеза с вирусным

В последнее время появляется все больше сообщений о том, что вирусная инфекция в сочетании с химическими факторами значительно увеличивает вероятность трансформации клетки в опухолевую. Клинические, эпидемиологические и экспериментальные исследования доказали ведущую роль вируса папилломы человека (ВПЧ) в патогенезе аногенитального рака [92] и карциномы ротовой полости [93]. Идентифицировано более 60 типов ВПЧ, которые инфицируют эпителиальные клетки кожи и поверхность слизистых, реплицируясь во время дифференцировки кератиноцитов. Более того, спе-

цифичные виды этих вирусов могут трансформировать эпителиальные клетки *in vitro* [94]. Однако существование корреляции между присутствием определенного типа ВПЧ и развитием аногенитального рака и рака ротовой полости не предполагает, что вирус сам по себе может вызвать рак. Например, не все женщины, инфицированные ВПЧ-16, имели цервикальную дисплазию [49]. Следовательно, для полного развития онкогенных эффектов вирусов папилломы необходимы дополнительные кофакторы.

F. Farin et al. [95] предполагают, что в этиологии аногенитальных раков существенную роль играет такой фактор, как курение. В пользу этого предположения свидетельствует достаточное количество работ. Табачный дым содержит большое число потенциальных канцерогенов, таких как ПАУ и N-нитрозо-соединения, которые также могут быть причиной многих опухолей ротовой полости [49]. Эти соединения были также обнаружены в слизистой цервикального канала женщин с ее гиперплазией [96]. В связи с этим, авторы постулируют, что в патогенезе аногенитальных заболеваний и болезней ротовой полости важным фактором может быть взаимодействие между химическими канцерогенами и вирусной инфекцией. Подтверждением этому могут быть недавно полученные результаты, показывающие, что ВПЧ-18-иммортиализованные линии клеток при обработке их нитрозоаминами гораздо быстрее трансформировались в злокачественный фенотип [97].

Вполне возможно, что существенное количество опухолей человека вызвано синергическим взаимодействием между вирусами и генотоксичными химическими канцерогенами. Некоторые исследования на животных указывают на такую возможность. Так, обработка химическими канцерогенами доброкачественной папилломы кролика, вызванной вирусом, приводит к ее малигнизации [98]. Однако для человека такой взаимосвязи пока не показано ввиду отсутствия подходящей модели. Неизвестно, имеются ли в клетках-мишенях ферментные системы, необходимые для биоактивации проканцерогенов, особенно таких, как нитрозоамины и ПАУ из табачного дыма. Недавно F. Farin et al. определили активность форм цитохрома P450, активирующих вышеназванные канцерогены, в эпителии слизистой рта и слизистой цервикального канала [95]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что первичные и ВПЧ-иммортиализованные эпителиальные клеточные линии человека экспрессируют мРНК и белки для биоактивации нитрозоаминов и ПАУ. Среди таких ферментов присутствуют CYP2E1, CYP2D6, CYP1A1 и CYP1A2, причем их активность может увеличиваться в клетках, инфицированных вирусом. Авторы предполагают, что это явление может иметь место в жизни, когда курение и потребление алкоголя могут обеспечивать синергический эффект с ВПЧ в развитии цервикальных раков.

Глава 3. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ В ПРОЦЕССЕ ХИМИЧЕСКОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

3.1. Активность и индуцибельность СУР1А в печени мышей, различающихся по чувствительности к ОАТ-индуцируемому гепатоканцерогенезу

Мы исследовали индуцибельность цитохромов Р4501А1 и 1А2 в печени инбредных линий мышей, различающихся по чувствительности к *о*-аминоазотолуол-индуцируемому гепатоканцерогенезу. Ранее сотрудниками Института цитологии и генетики СО РАН В.И. Калединым и др. были выявлены инбредные линии мышей, различающиеся по чувствительности к появлению гепатокарциномы, индуцированной ОАТ [99]. Канцерогенные аминоазокрасители характеризуются выраженной видовой и органной специфичностью действия: при любом способе введения они вызывают опухоли почти исключительно в печени мышей и крыс, не вызывая их в других тканях и органах и у других видов животных [100]. Из множества производных аминоазобензола (АБ) канцерогенным действием, однако, обладают лишь немногие, причем не одни и те же соединения для мышей и крыс. Так, если *N,N*-диметил-4-АБ (ДАБ) и 3'-метил-ДАБ - канцерогены для крыс, то 2',3-диметил-4-АБ (ОАТ) - канцероген для мышей [101]. При этом, мыши разных генотипов неодинаково чувствительны к гепатоканцерогенному действию ОАТ: вызывая опухоли у 100% животных одних линий (DD, SWR, СВА и др.), он практически не действует на других (АКР, самцы СС57BR) [50]. Высокая (до 30%) частота развития спонтанных гепатом у самцов СС57BR и нечувствительность их к индукции опухоли печени свидетельствуют о различных генетических механизмах спонтанного и индуцированного гепатоканцерогенеза. Поскольку канцерогенный эффект оказывают не сами используемые азокрасители, а их активированные метаболиты [62], и наряду с активирующими в организме идут реакции, направленные на их обезвреживание и выведение [102], можно полагать, что чувствительность или резистентность к индукции опухолей ОАТ определяется на уровне его метаболизма, осуществляющегося неодинаково у мышей разных линий (с преобладанием активирующих реакций над инактивирующими у чувствительных и обратным соотношением у резистентных).

Для индукции опухолей печени у взрослых мышей им необходимо вводить ОАТ на протяжении нескольких месяцев. В то же время известно, что

у мышей одних генотипов при действии некоторых химических соединений, являющихся загрязнителями окружающей среды (полициклические ароматические углеводороды, полихлорированные бифенилы) и компонентами пищи (флавоноиды и др.), активность ферментов метаболизма ксенобиотиков резко увеличивается (индуцируется), тогда как у других линий почти не изменяется [103]. Поэтому при длительном применении, что, как было сказано, является условием индукции опухолей у взрослых животных, ОАТ должен ускоренно метаболизироваться у мышей с "индуцибельным" генотипом по сравнению с мышами, имеющими "неиндуцибельный" генотип. В зависимости от того, будут при этом преимущественно ускоряться активирующие или инактивирующие реакции, следует ожидать увеличения или, соответственно, уменьшения канцерогенного эффекта ОАТ у таких животных.

В описываемых экспериментах в печени мышей-самцов четырех инбредных линий, различающихся по чувствительности к гепатоканцерогенному действию ОАТ, изучалась активность и индуцибельность цитохрома P450 подсемейства 1A (CYP1A), осуществляющего первичное окисление аминоазокрасителей, и активность основных конъюгирующих ферментов, участвующих в реакциях 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков. Из литературы известно, что ОАТ, как и некоторые другие производные аминоазобензола, индуцирует в печени крыс ряд изоформ цитохрома P450 по типу полициклических ароматических углеводородов [66]. Используя мышей линии C57Bl, являющихся тестовыми животными при оценке индукторов ПАУ-типа, мы показали, что ОАТ в дозах, применяющихся при индукции опухолей, является индуктором микросомальных монооксигеназ, не уступающим по активности модельному индуктору БП. Были проведены эксперименты по дозо- и времязависимой индукции CYP1A и выбраны оптимальные условия для оценки индукции CYP1A при применении ОАТ в дозе 225 мг/кг через 72 ч после введения индуктора (табл. 3.1).

Данные о базальном и индуцированном уровнях содержания цитохрома P450 и активности 7-этоксирезорифин О-деэтилазы (ЭРОД) и 7-метоксирезорифин О-деметилазы (МРОД) в печени изученных нами линий представлены в табл. 3.2. Мыши линий SWR и AKR имели относительно низкие и не увеличивающиеся при воздействии индукторами уровни содержания цитохрома P450 и активности ЭРОД и МРОД. При значительно более высоком базальном уровне цитохрома P450 (на 30 - 70%) у мышей линий C3HA и CC57BR его содержание после воздействия индукторов увеличивалось в 1,5 - 2 раза. В еще большей степени (в 5 - 10 раз) у них увеличивались активности ЭРОД и МРОД. Линии SWR и AKR, таким образом, неиндуцибельны, а C3HA и CC57BR - индуцибельны по Ah-локусу.

Мы изучили активность основных конъюгирующих ферментов 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков у исследуемых мышей, используя два тестовых соединения: сульфадимезин для определения статуса ацетилирования и парацетамол (он же ацетаминофен - АА), позволяющий одновременно оценивать активность УДФ-глюкуронозил-, сульфо- и глутатион S-трансфераз. Как следует из табл. 3.3, скорость ацетилирования сульфадимезина у исследованных мышей практически не различалась. Не по-

Содержание и активность цитохрома P450 в печени мышей C57Bl,
 обработанных разными дозами ОАТ и в различное время
 после его введения*

Обработка	Доза, мг/кг	Часы	Содержание P450, нмоль/мг	Активности, пкмоль резорфуфина/мин на 1 мг белка	
				ЭРОД	МРОД
Контроль	0	72	0,48 ± 0,09	68 ± 21	89 ± 14
ОАТ	66	72	0,50 ± 0,11	722 ± 134	735 ± 65
ОАТ	112,5	72	0,53 ± 0,07	920 ± 210	1044 ± 335
ОАТ	225	72	0,89 ± 0,08	1467 ± 411	2254 ± 502
Бенз[а]пире н	100	72	0,68 ± 0,10	1100 ± 85	1635 ± 133
ОАТ	225	24	0,50 ± 0,02	309 ± 165	390 ± 298
ОАТ	225	48	0,54 ± 0,10	450 ± 201	487 ± 119
ОАТ	225	72	0,52 ± 0,07	2352 ± 355	2065 ± 349
ОАТ	225	96	0,77 ± 0,05	1436 ± 230	1867 ± 334

* Результаты представлены как среднее значение ± SD. В каждый эксперимент взято 5 мышей.

лучено также различий в активности и других трансфераз. Исключение составила высокая активность УДФ-ГТ у резистентных к возникновению опухолей мышей AKR, в моче которых обнаружено высокое содержание глюкуронида AA. Повышенное содержание меркаптурата AA зарегистрировано также и у другой резистентной линии CC57BR. Никаких различий не выявлено в активности сульфотрансферазы. Заметные различия наблюдались в количестве неметаболизированного AA: у мышей SWR и C3HA неметаболизированный остаток AA составлял 37,7% и 42,4% соответственно, тогда как у CC57BR и AKR этот показатель был равен 22,6% и 15,4%, соответственно.

Одним из факторов, ответственных за межлинейные различия в чувствительности мышей к гепатоканцерогенному действию ОАТ, может быть различная индуцибельность цитохрома P4501A, как это показано для мышей [95]. Среди исследованных линий мышей SWR и AKR были неиндуцибельны по CYP1A, тогда как в печени мышей C3HA и CC57BR зарегистрирована достаточно высокая степень индукции этого P450. При этом, как из двух первых (неиндуцибельных), так и из двух последних (индуцибельных) одна линия резистентна, а другая чувствительна к гепатоканцерогенному действию ОАТ. Следовательно, базального уровня активности цитохрома P450 у неиндуцибельных мышей SWR оказывается достаточно для активации ОАТ в количестве, необходимом для развития опухолей, а значительно большая, да еще и на порядок увеличивающаяся при введении

Т а б л и ц а 3. 2

Содержание и активность цитохрома Р450 в печени инбредных линий мышей, индуцированных БП и ОАТ*

Линия мышей	Обработка	Содержание Р450 (нмоль/мгбелка)**	ЭРОД	МРОД	ЭРОД/МРОД
			пкмоль резорфуфина/мин на 1 нмоль Р450		
СЗНА	Контроль	0,8 ± 0,05	105 ± 30	82 ± 11	1,28
	БП	1,2 ± 0,15 (1,50)**	1060 ± 205 (10,09)*	608 ± 151 (7,41)*	1,74
	ОАТ	1,4 ± 0,22 (1,75)*	716 ± 119 (6,81)*	515 ± 98 (6,28)*	1,39
SWR	Контроль	0.47 ± 0,04	126 ± 25	109 ± 15	1,16
	БП	0,45 ± 0,03 (0,96)*	173 ± 30 (1,37)*	148 ± 22 (1,36)*	1,17
	ОАТ	0,42 ± 0,08 (0,90)*	178 ± 19 (1,41)*	165 ± 30 (1,51)*	1,08
AKR	Контроль	0,6 ± 0,04	89 ± 25	100 ± 19	0,89
	БП	0,58 ± 0,10 (0,98)*	75 ± 28 (0,85)*	115 ± 14 (1,15)*	0,65
	ОАТ	0,55 ± 0,12 (0,92)*	69 ± 15 (0,66)*	125 ± 21 (1,25)*	0,55
CC57BR	Контроль	0,78 ± 0,01	186 ± 82	261 ± 52	0,71
	БП	1,50 ± 0,07 (1,93)*	1178 ± 54 (6,33)*	1419 ± 115 (5,43)*	0,83
	ОАТ	1,36 ± 0,04 (1,74)*	2390 ± 152 (12,84)*	2685 ± 205 (10,28)*	0,89

* Результаты представлены как среднее значение ±SD. В каждый эксперимент взято 8 мышей.

** Индекс индуцибельности.

Т а б л и ц а 3.3

Активность ферментов 2-й фазы метаболизма у мышей, различающихся по чувствительности к ОАТ-индуцируемому гепатоканцерогенезу*

Линия мышей	Чувствительность к раку	Чувствительность к индукции ПАУ	Количество ацетилированного СДМ, %	Метаболиты ацетоаминофена, %					
				Неметаболизированный АА	ААГ	ААМ	ААГ + ААМ	ААС	Отношение ААГ + ААМ к ААС
SWR	+	-	59,1 ± 4,3	37,7 ± 2,8	31,0 ± 5,3	7,6 ± 0,5	38,6	22,4 ± 2,1	1,7
СЗНА	+	+	65,5 ± 1,4	42,4 ± 3,8	41,3 ± 4,5	5,3 ± 2,1	46,6	10,9 ± 1,7	4,3
AKR	-	-	50,6 ± 3,9	15,4 ± 5,2	71,6 ± 9,6	2,9 ± 1,3	74,5	10,2 ± 2,3	7,3
CC57BR	-	+	66,1 ± 2,8	22,6 ± 1,5	42,1 ± 4,4	16,5 ± 3,5	58,6	18,8 ± 3,5	3,1

* Скорости реакций выражены в процентах образования продукта конъюгации АА или СД М. Результаты представлены как среднее значение ± SD. В каждый эксперимент взято 5 мышей.

ОАТ его активность у мышей СС57BR не делает их чувствительными к действию канцерогена. В связи с этим кажется вероятным, что чувствительность или резистентность мышей к гепатоканцерогенному действию ОАТ определяется не на уровне его первичного окисления микросомальными монооксигеназами. Большую роль при этом могут играть ферменты 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков, осуществляющие конъюгацию С- и N-гидроксилированных производных с глутатионом и остатками органических (глюкуроновой, уксусной) и неорганической (серной) кислот [99].

Конъюгаты с глутатионом и глюкурониды неактивны в химическом отношении, легко растворимы в воде и быстро выводятся из организма, что позволяет считать метаболические пути, ведущие к их образованию, безусловно детоксикационными. Ацетилирование может приводить к неоднозначным эффектам, как способствуя инактивации и выведению, так и активируя исходно слабореакционноспособные соединения, как, например, изониазид при первом и втором ацетилировании, соответственно [104].

При этом у человека и животных описаны генетические вариации по статусу ацетилирования - так называемые сильные и слабые ацетилаторы [105]. Сульфоконъюгация, как установлено работой коллектива Е. и Дж. Миллеров, является необходимым этапом в активации многих проканцерогенов, таких как ацетиламинофлуорен, ариламины, эстрадиол и др. [106]. О решающей роли сульфоконъюгатов этих канцерогенов свидетельствует резистентность мутантных "брахиоморфных" мышей, дефицитных по 3-фосфоаденозил-5'-фосфосульфату - донору сульфонильных групп, а также нормальных мышей, получавших перед канцерогеном пентахлорфенол - специфичный ингибитор сульфотрансферазы [107].

Ранее мы показали, что ингибирование сульфотрансферазы этим соединением почти полностью снимало коррелирующее с гепатоканцерогенным раннее влияние ОАТ на глюкокортикоидную индукцию тирозинаминотрансферазы в печени мышей, что свидетельствует, очевидно, об активации сульфоконъюгацией и этого канцерогена [108].

Как видно из табл. 3.3 мыши всех исследованных линий не имеют существенных различий в статусе ацетилирования, поэтому их чувствительность или резистентность к индукции опухолей ОАТ определяется, очевидно, другими процессами. Она также не связана однозначно с высокой или низкой активностью других ферментов конъюгации, будь то сульфотрансфераза (более активная у чувствительных мышей SWR и у резистентных СС57BR) или глутатион S-трансфераза, также более активная у мышей этих линий. Этот факт не является неожиданным, поскольку чувствительность к проканцерогену скорее всего определяется активностью не какого-либо одного фермента, а всех или почти всех ферментов, участвующих в его метаболизме, т. е. соотношением скоростей активирующих и инактивирующих реакций. В этом плане представлялось целесообразным оценить суммарную активность УДФ-глюкуронозил- и глутатион S-трансфераз, осуществляющих выведение канцерогена, и сопоставить ее с активностью сульфотрансферазы, принимающей участие в образовании его реактивных метаболитов. Проведя такое сравнение, мы обнаружили, что только мыши SWR и AKR существенно различаются по этим показателям. Мыши двух других линий - СЗНА и СС57BR, - контрастирующих по чувствительности к

канцерогену, характеризовались сходными промежуточными значениями как суммарной активности детоксифицирующих трансфераз, так и ее отношения к активности сульфотрансферазы. Сульфатируя как N-, так и C-гидроксипроизводные, последняя участвует не только в активации аминокрасителей, но и в их инактивации и выведении. Поэтому, не общая активность этого фермента, а соотношение N- и C-гидроксилированных субстратов может определять долю его участия в активации и инактивации проканцерогена. В этой связи представлялось интересным сопоставить активности цитохромов P450A1 и 1A2, которые могут поставлять трансферазам неодинаковые количества N- и C-гидроксилированных метаболитов ОАТ. Оказалось, что отношение ЭРОД/МРОД активностей, характеризующее соотношение этих изоформ, у чувствительных к канцерогену мышей СВА и СЗНА превышает единицу (1,15 и 1,28, соответственно), а у резистентных мышей АКР и СС57BR - существенно ниже единицы (0,89 и 0,71, соответственно). На крысах показано, что N-гидроксилирование ОАТ в печени крыс осуществляется преимущественно СYP1A2, который преимущественно метаболизирует 7-метоксирезо-руфин. Однако для мышей такие данные отсутствуют. Следует заметить, что сегодня сложно судить о субстратной специфичности цитохромов P450 у разных линий мышей, так как исследования в этой области еще не проведены.

Другим показателем, отличающим мышей обеих чувствительных линий от обеих резистентных, является более низкая суммарная конъюгирующая способность первых, что следует из относительно большого количества выводимого ими неконъюгированного АА (37,7% и 42,4% против 15,4% и 22% у резистентных). При этом, если у мышей АКР усиленное выведение конъюгированного АА осуществляется за счет гиперфункции УДФ-ГТ, то у мышей СС57BR существенный вклад в него вносит сульфотрансфераза, активная почти в такой же степени, как и у мышей линии SWR.

Таким образом, нами не обнаружено взаимосвязи между чувствительностью или резистентностью мышей к ОАТ-индуцируемому гепатоканцерогенезу и активностью и индуцибельностью каких-либо ферментов биотрансформации ксенобиотиков. Казалось бы, эти результаты противоречат вышеприведенным литературным данным о роли цитохрома P450 в активации канцерогенов. Тем не менее, нельзя исключить того факта, что в печени необработанных ОАТ мышей изначально регистрируется базальная активность СYP1A, вполне достаточная для активации канцерогена. В литературе имеются сообщения о том, что совсем незначительных количеств цитохрома P450 (всего лишь нескольких пикомолей) достаточно для активации проканцерогена [109]. Тогда индуцибельность этих ферментов может не отражать степень активации проканцерогена в печени. Учитывая многофакторность процесса трансформации клетки, можно предполагать, что другие, нежели активация проканцерогена, процессы, такие, как репарация ДНК, могут вносить вклад в формирование резистентности или чувствительности к ОАТ-индуцированной гепатокарциноме, т. е. активация канцерогена является необходимым, но недостаточным фактором в развитии канцерогенных процессов. Баланс активностей ферментов, продуцирующих или детоксицирующих реактивный метаболит, также может, по-видимому, вносить свой вклад в механизмы резистентности или чувствительности к

возникновению гепатокарциномы у мышей разных линий. К тому же, проведенное исследование было выполнено с применением модельных субстратов, позволяющих оценивать возможности тех или иных метаболических путей безотносительно к метаболизму конкретного проканцерогена. Не исключено, что субстратные свойства ОАТ и его гидроксипроизводных не полностью совпадают или не совпадают совсем с таковыми алкоксирезорурфинов, АА и сульфадимезина, использованных в наших экспериментах. Поэтому изучение метаболизма ОАТ у мышей различных линий позволит ответить на вопрос, определяется ли их чувствительность или резистентность к индукции опухолей на уровне метаболизма канцерогена. В настоящее время нами предпринимается такое изучение.

3.2. Активность цитохрома Р4501А в печени мышей СВА и СС57ВR при долговременной многократной индукции *o*-аминоазотолуолом

Гепатоканцероген ОАТ индуцирует опухоли у взрослых мышей только при длительном (более месяца) введении в организм животных. При этом у мышей многих линий (А/Не, DD, SWR и др.) со временем наблюдается гибель дифференцированных гепатоцитов и интенсивная овально-клеточная пролиферация, а также активация в печени экстремедуллярного кроветворения. В результате, предшествующая популяция гепатоцитов у них в значительной степени замещается популяцией клеток с иными метаболическими и пролиферативными характеристиками. У мышей других линий (BALB/с, СС57ВR, АКR) гибели гепатоцитов, а, следовательно, и замещения их другими клетками, не происходит. Поэтому, если у первых, чувствительных к гепатотоксическому действию ОАТ мышей, нагрузка на оставшиеся гепатоциты с каждой последующей дозой увеличивается, то у последних, резистентных, она остается неизменной. Этим, по-видимому, объясняется тот факт, что у всех мышей, реагирующих на действие канцерогена по первому типу, развиваются опухоли печени, тогда как у реагирующих по второму типу, этого не происходит.

Исключение составляют мыши линии СВА, характеризующиеся высокой устойчивостью к гепатотоксическому действию ОАТ, но чрезвычайно чувствительные к его гепатоканцерогенному действию. Можно предположить, что столь высокая чувствительность связана с особенностями метаболизма ОАТ, осуществляемого, как было показано, цитохромом Р4501А. В данной работе мы исследовали активность этого цитохрома Р450 в печени мышей СВА при длительном и однократном введении ОАТ. Для сравнения была выбрана линия СС57ВR, резистентная как к гепатотоксическому, так и гепатоканцерогенному действию этого канцерогена. Эти линии мышей, как известно, характеризуются AhbAhb-генотипом чувствительности к индукции полициклическими ароматическими углеводородами [68], но различаются по чувствительности к гепатоканцерогенному действию ОАТ. Введение им канцерогенных соединений, способных связываться с Ah-рецептором и вызывать тем самым индукцию цитохрома Р4501А, спрово-

ждается значительным усилением активностей ЭРОД и МРОД этих цитохромов P450.

Однократное введение ОАТ сопровождается увеличением в печени мышей исследуемых линий как содержания общего количества цитохрома P450, так и его специфических активностей ЭРОД и МРОД (табл. 3.4). Следует заметить, что базальная активность СУР1А для данных линий существенно не различается. Введение канцерогена мышам СС57ВR, независимо от схемы, сопровождалось практически одинаковым увеличением активностей СУР1А ЭРОД и МРОД: в 9,8 и 5,2 раза при однократном и 8 и 5,6 раза при многократном способе введения. В печени мышей СВА, получавших канцероген один раз, регистрируется незначительное увеличение содержания общего цитохрома P450, определенного спектрально, и некоторое увеличение специфических активностей СУР1А - ЭРОД и МРОД - в 3,7 и 1,8 раза, соответственно. Однако многократное длительное введение ОАТ существенно повлияло на эти активности; они увеличились в 22 и 8 раз для ЭРОД и МРОД, соответственно.

Таким образом, введение мышам СВА *o*-аминоазотолуола, не обладающего гепатотоксичным действием, но усиливающего, при его многократном применении, индуцибельность СУР1А, может привести к увеличению скорости N-гидроксилирования данного канцерогена. В результате, в печени может увеличиваться содержание реактивного метаболита N-гидрокси-ОАТ, способного связываться с ДНК, белками и другими макромолекулами клетки, что и может обуславливать появление гепатокарциномы.

Таблица 3.4

Содержание и активность цитохрома P450 в печени мышей СВА и СС57ВR во время одноразовой и длительной индукции ОАТ

Линия	Воздействие	Содержание цитохрома P450 нмоль/мг белка	O-деалкилазная активность (пкмоль резорфуина в 1 мин на 1 мг белка)	
			ЭРОД	МРОД
СВА	К обычно	0,60 ± 0,12	183 ± 40	406 ± 145
	ОАТ 1-кратно	1,11 ± 0,08	677 ± 136	720 ± 65
	К длительно	0,56 ± 0,06	122 ± 10	298 ± 32
	ОАТ многократно	1,30 ± 0,08	2725 ± 295	2466 ± 412
СС57ВR	К обычно	0,50 ± 0,02	222 ± 41	448 ± 32
	ОАТ 1-кратно	1,16 ± 0,15	2177 ± 153	2325 ± 110
	К длительно	0,45 ± 0,13	252 ± 55	434 ± 49
	ОАТ многократно	1,18 ± 0,05	2019 ± 197	2426 ± 453

* Результаты представлены как среднее значение ±SD. В каждый эксперимент взято 5 мышей.

Необходимо заметить, что на процессы трансформации клетки влияют многие факторы, включая активность ферментов 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков, нейтрализующих реактивные метаболиты, а также ферментные системы, репарирующие повреждения ДНК. В данном случае мы выявили различия в чувствительности к ОАТ-индуцированному гепатоканцерогенезу на уровне индуцибельности фермента CYP1A, осуществляющего активацию канцерогена. Для линий CC57BR и CBA индуцибельность цитохрома P4501A может быть одной из важных детерминант, определяющих чувствительность к канцерогену, хотя такую чувствительность могут определять и другие факторы.

3.3. Трансгенные животные в изучении химического канцерогенеза

Трансгенные животные, или животные, полученные путем искусственного переноса чужеродной ДНК в геном (трансгеноза) - являются новым перспективным объектом в изучении канцерогенеза, позволяющим исследовать в условиях *in vivo* эффекты внесения (knock-in) или удаления (knock-out, или gene targeting) генов. Примером использования первого подхода может служить работа J. Lu et al., которые для изучения роли CYP3A7 в канцерогенности афлатоксина В1 использовали переэкспрессию в мышах этого человеческого фетального цитохрома, лигированного с промотором металлотнионеина I (чтобы иметь возможность запускать экспрессию этого гена сульфатом цинка). Авторы получили линии трансгенных мышей, у которых CYP3A7 экспрессировался либо в печени, либо в почках. Введение афлатоксина В1 этим мышам приводило к накоплению в этих органах аддуктов AFB с ДНК [110].

Техника "gene targeting" разработана и описана в работах [111 - 113]. В настоящее время решается задача получения "ассортимента" линий трансгенных мышей и изучение последствий нокаута генов для метаболизма ксенобиотиков и связанной с метаболизмом токсичности. Число работ пока невелико, объясняемое тем, что для устранения выраженных межиндивидуальных различий необходимо проводить как минимум 5 обратных скрещиваний. Работы по "gene targeting" разделяются на две группы:

- 1) воздействия, направленные на гены ферментов биотрансформации;
- 2) манипуляции с генами факторов регуляции транскрипции генов ФБК.

Из доступной литературы нам известно, что удалось получить следующие линии трансгенных мышей: мыши с гомозиготной делецией CYP1A2(CYP1A2-/-) [114, 115], мыши с гомозиготной делецией генов двух цитохромов - CYP1A2 и CYP2E1 [116], и мыши с гомозиготной делецией гена глутатион S-трансферазы P1 [117]. В последней работе авторы показали, что трансгенные мыши с делецией GSTP1 и P2 проявляют более высокую чувствительность к канцерогенному воздействию 7,12-диметилбензантрацена: если у интактных мышей отмечалось в среднем 2,89 опухоли на особь, то у трансгенных - 9,94. В двух работах исследовалась роль CYP1A2 и CYP2E1 в токсичности парацетамола. H. Zahers et al. приходят к

выводу, что утрата этих генов приводит к возрастанию резистентности трансгенных мышей вследствие уменьшения продукции этими цитохромами реактивного метаболита парацетамола - N-ацетил-p-бензохинон-имина [116]. R. Tonge et al., наоборот, считают, что доза CYP1A2 не влияет существенно на гепатотоксичность [115].

Gene targeting генов, участвующих в регуляции экспрессии генов CYP (Ah-рецептор, рецептор, активируемый пролифераторами пероксисом (PPAR), HNF-1, HNF-3, HNF-4, DBP, C/EBP), оказался более трудной задачей. Поскольку все эти факторы выполняют важную роль в эмбриогенезе, их разрушение часто приводит к внутриутробной или ранней постнатальной летальности. Поэтому сейчас разрабатывается технология, позволяющая инактивировать гены в желаемых тканях и в нужные периоды онтогенеза [118]. Успеха в экспериментах такого рода достигли D. Waxman et al., которые получили линию мышей с разрушенным геном STAT5b [119]. Эксперименты с мышами STAT5b^{-/-} подтвердили предположение о том, что этот фактор транскрипции является главным в формировании присущего самцам спектра изоформ подсемейства CYP2C в ответ на секрецию гормона роста.

В этиологии и патогенезе комплексных заболеваний, к числу которых относятся и большая часть онкологических заболеваний, играют роль как средовые, так и генетические факторы. Рабочая гипотеза исследователей генетических факторов комплексных заболеваний состоит в том, что развитие болезни у большинства пациентов является следствием различных комбинаций генетических дефектов, которые, каждый в отдельности, могут иметь небольшое значение. Gene targeting предоставляет возможность проверить эту гипотезу. Модификация индивидуальных генов может дополняться другими генами в различной комбинации, что обеспечивает возможность установить синергизм или антагонизм во взаимоотношении генов.

Однако ряд вопросов будет оставаться даже после изучения заболевания у трансгенных животных. Основным из них является видовая специфичность. Для генов ФБК это проявляется различиями в кинетических параметрах ферментов и композициях экспрессируемых в различных органах форм. Такие же различия возможны и в отношении других генов, которые могут влиять на клинический фенотип заболевания. Так, течение атеросклероза у мышей с разрушенным геном аполипротеина E (ApoE^{-/-}) не сопровождается распадом атеросклеротических бляшек, что типично для человека [120]. Особенности патогенеза, связанные с видоспецифичностью, остаются серьезным ограничением в экстраполяции результатов экспериментов с трансгенными животными на человека. Поэтому актуальной проблемой онкологии является изучение роли ФБК у человека.

Глава 4. ГЕНЫ И ФЕРМЕНТЫ СИСТЕМЫ МЕТАБОЛИЗМА КСЕНОБИОТИКОВ В ОНКОПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА

Выше уже отмечалось, что привлечение даже самых мощных экспериментальных моделей сохраняет необходимость исследований роли ферментов биотрансформации ксенобиотиков в канцерогенезе у человека. В случае использования трансгенных мышей экстраполяции затрудняются видоспецифичными особенностями патогенеза заболевания [102]. Имеет значение также видовая специфика функциональных свойств ферментов, вытекающая из обязательных различий в аминокислотных последовательностях ортологичных форм цитохрома P450 у грызунов и человека. Так, у крыс метаболизм S-мефенитоина осуществляют CYP3A, а у человека - CYP2C19. CYP2A6 человека осуществляет 7-гидроксилирование кумарина с высокой скоростью, а CYP2A1 и 2A2 - с очень низкой скоростью. Однако, последние, в отличие от CYP2A6, способны к образованию 2,3-ку-мариноксида, и с этой активностью ассоциируется гепатотоксичность мефенитоина для грызунов. К тому же, эти цитохромы осуществляют 7 α - и 15 α -гидроксилирование тестостерона.

Получены данные о видовых различиях CYP1A2, CYP4A9/11 [121], о наличии видовых различий механизмов регуляции P450 [122]. Наблюдаются особенности и в спектре изоформ, экспрессируемых в одних и тех же органах у разных видов животных [123]. Онкологическая патология является патологией комплексной, в этиологии и патогенезе которой участвуют множественные средовые и генетические факторы. Изложенная выше информация свидетельствует о том, что в канцерогенезе могут быть важными многие молекулярные события (активация проканцерогенов \rightarrow образование аддуктов с ДНК \rightarrow возникновение мутаций в критических генах регуляторов клеточного цикла). Поэтому необходимыми становились доказательства наличия взаимосвязи (ассоциации) ФБК с онкологическими заболеваниями человека. Эта задача могла быть решена только после того, как были изучены основные биохимические свойства этих ферментов, а именно: множественность форм, тканеспецифичность экспрессии, индуцибельность и генетический полиморфизм.

4.1. Краткая характеристика основных свойств ферментов биотрансформации ксенобиотиков

4.1.1. Множественные формы ферментов биотрансформации ксенобиотиков. Субстратная специфичность

Открытие множественности форм позволило вписать в представления классической энзимологии труднообъяснимый до конца 70-х годов феномен цитохрома P450, как уникального белка, способного метаболизировать тысячи чужеродных соединений, и среди них даже такие, которые не встречались в эволюции живого на земле. Результаты работ по расшифровке нуклеотидных последовательностей генома человека позволяют предположить, что число индивидуальных форм цитохрома P450 составит 50 - 60. Уже открыты более 30 индивидуальных белков цитохрома P450 [124]. Для многих из них найдены высокоспецифичные субстраты, но способность к метаболизму большого количества субстратов сохраняется как особенность и у индивидуальных форм P450. Ее следствием является то, что изоформы P450 практически всегда перекрываются в своей субстратной специфичности: даже высокоспецифичные субстраты могут метаболизироваться несколькими изоформами P450. Однако кинетические характеристики в области низких концентраций (что имеет место *in vivo*) таковы, что скорость реакции без большой ошибки можно отнести к высокоспецифичному метаболизму. Это обеспечило возможность фармакокинетических оценок активности индивидуальных форм P450 у человека. В табл. 4.1 мы приводим данные о высокоспецифичных субстратах, используемых для оценки активностей изоформ цитохрома P450 *in vitro* и маркерных лекарствах, используемых с этой целью в условиях *in vivo*.

4.1.2. Тканеспецифичная экспрессия

Первоначально открытый в печени, цитохром P450 затем был обнаружен и в других органах. Работы по изучению внепеченочной экспрессии индивидуальных форм P450 позволили сделать вывод о ее тканеспецифичности. Это же справедливо и для ферментов 2-й фазы. Печени принадлежит первое место по спектру экспрессируемых форм P450. Все открытые P450, за исключением только CYP1A1, CYP1B1, CYP2B7 и 2F1, экспрессируются главным образом в печени, некоторые полиморфно: CYP2B6 обнаруживается в печени только у 15% людей, CYP3A5 у 25% людей, а CYP3A7 - только во внутриутробном периоде [127]. В печени представлен также максимально широкий спектр ферментов 2-й фазы биотрансформации ксенобиотиков. Далее по убыванию следуют почки, легкие, кишечник, головной мозг, лимфоциты и другие органы.

Почка представляет большой интерес как орган, обогащенный изоформами, участвующими в метаболизме арахидоновой кислоты и синтезе простогландинов [128]. Показано, что главным метаболитом арахидоновой

кислоты в микросомах печени и почек является 20-гидрокси-5,8,11,14-эйкозатетраеновая кислота (20-НЕТЕ). Кинетика процесса ω -окисления имеет

Т а б л и ц а 4.1

Высокоспецифичные субстраты и лекарства изоформ цитохрома P450

Изоформы P450	Субстраты	Маркерные лекарства
CYP1A1	7-этоксирезорурфин	
CYP1A2	Метоксирезорурфин	Кофеин, теофиллин
CYP1B1	Диметилбензантрацен	
CYP2A6	Кумарин	Кумарин
CYP2B6	Пентоксирезорурфин	
CYP2C8	Таксол	Таксол
CYP2C9	Толбутамид	Толбутамид, фенитоин
CYP2C18	Толбутамид, фенитоин	Толбутамид, фенитоин
CYP2C19	S-мефенитоин	S-мефенитоин
CYP2D6	Дебризохин	Дебризохин, спартеин
CYP2E1	4-нитрофенол	Хлорзоксазон
CYP3A4 и 3A5	Эритромицин	Кортизол, мидазолам

Примечание. Таблица составлена на основе работ [125, 126].

бифазный характер, что указывает на участие по крайней мере двух энзимов. В экспериментах с индивидуальными формами P450 установлено, что 20-НЕТЕ образует CYP4A11 и CYP4F2. В области низких концентраций более 90% активности микросом принадлежит CYP4F2. Иммуноблотом выявлено присутствие обеих изоформ в микросомах почек [129].

Недавно были получены данные об экспрессии в почках мышей mPНК CYP2C29 (продуцирует 14,15-cis-эпоксэйкозатриеновую кислоту (ЕЕТ), CYP2C38 (продуцирует 11,12-ЕЕТ) и CYP2C40 (метаболит не идентифицирован). Существует вероятность, что ортологи этих форм экспрессируются и в почках человека [130]. ω -1 окисление лауриновой и арахидоновой кислот осуществляет CYP2E1, однако выявить этот белок в почках иммуноблотом не удается [131]. У больных с карциномой почки определяется специфическая активность CYP1A1 в прилегающей к опухоли клеточной зоне, и она выше, чем в более удаленной клеточной зоне [132]. В митохондриях почек локализован P450c1 α , осуществляющий превращение витамина D в его биологически активную форму путем 1 α -гидроксилирования [133]. Начата работа по изучению экспрессии в почках CYP1B1- вероятно, главной 4-гидроксилазы 17 β -эстрадиола [134]. В почках экспрессируются mPНК CYP3A3, CYP3A4, CYP3A5 и CYP3A7, но иммунохимически детектируются только белки CYP3A4 и 3A5. Их специфическая активность регистрируется

в микросомах почек по 1'-гидрокси-лированию мидазолама [135]. Из ферментов 2-й фазы определили активность GST θ [136]. Использование иммуноблота и иммуногистохимического подхода показало, что GST α является основной изоформой в корковой зоне почки, а GST π и GST μ присутствуют в меньшем количестве. Класс GST μ представлен, главным образом, GSTM3 [137]. С использованием иммуногистохимической техники показана широкая распространенность мЭГ в почке с преимущественной её локализацией в эпителии проксимальных и дистальных канальцев. Кроме этого мЭГ выявляется в эпителии коллекторных протоков, эндотелии сосудов (в том числе выступающих капилляры гломерул) [138].

Для органов дыхания показана экспрессия следующих ФБК. В микросомах эпителии слизистой носовой полости определяется низкое количество цитохрома P450 (25 pmol/ mg белка) и регистрируются активности, специфичные для CYP1A1 (7-этоксирезорурфин-О-деэтилазная), CYP2E1 (диметилнитрозамин N-деметилазная) и неспецифичные - анилингидроксилазная, аминопирин- и гексаметилфосфорамида N-деметилазная, 7-эток-сикумарин О-деэтилазная активности. Из ферментов 2-й фазы определяются активности GST, эпоксидгидролазы, но не УДФ-ГТ [139]. CYP2A6 детектирован по мРНК и метаболизму гексаметилфосфамида (назальный канцероген крыс) [140]. Иммуноцитохимическая оценка GST показала, что преимущественными изоформами для носовой полости являются GST α и GST π , GST μ не обнаруживается. С возрастом количество GST α снижается, а GST π остается постоянным [141]. Не обнаружена GST μ и в работе [142].

В легких, без разграничения на бронхи и периферию, детектированы CYP1A1, CYP2B7, CYP2E1, CYP3A4, CYP3A5, CYP2F1 и CYP4B1 [143, 144]. В слизистой бронхов экспрессируется мРНК CYP1A1, CYP2C8, CYP2C18 в 100% образцов, CYP2A6 и CYP2B6 (85%), CYP2E1 (50%), CYP3A5 (90%) [145], а также CYP2F1 и CYP4B1 [146]. В периферическом отделе легких в дополнение к вышеуказанным экспрессируются CYP1A2 и CYP3A4. В этом отделе детектируются белки CYP1A1, CYP1A2, CYP2B6, CYP2E1, CYP3A4/5 [147, 148]. Из ферментов 2-й фазы показана экспрессия в бронхах мРНК NAT1, GSTM1и GSTM3, а в периферическом отделе в дополнение к ним еще и NAT2 [135].

Экспрессия ФБК в желудочно-кишечном тракте, как и в дыхательном, исследуется на всем его протяжении. В ротовой полости обнаружены CYP1A1, CYP1A2, CYP2C9, CYP2E1 и CYP3A4 [149], в пищеводе - CYP1A1 и 1A2, CYP2B6, CYP2C11, CYP2E1, CYP3A3 и 3A4, GST π (представлена более других), GST μ и GST α [150, 151]. В кишечнике T. Prueksaritanont et al. иммунохимически выявили CYP1A1, CYP1A2, CYP2D6, CYP3A и зарегистрировали специфические активности двух последних цитохромов, а также УДФ-ГТ-, GST-, СТ- и NAT-активности [123]. I. de Waziers et al. показали иммунохимически экспрессию следующих форм: в пищеводе и желудке - CYP3A4, в двенадцатиперстной кишке - CYP3A4, CYP2C8-10, CYP2D6 и эпоксидгидролазы, в тощей кишке - CYP3A4, CYP2C8-10, CYP2D6, эпоксидгидролазу, следы CYP2E1, в тонкой кишке - CYP3A4, CYP2C8-10, эпоксидгидролазу, следы CYP2E1, в толстом кишечнике - CYP3A4. CYP1A2 не выявлен на всем протяжении желудочно-кишечного тракта. Более высокой, чем в печени, оказалась концентрация GST π в тонком и толстом кишечнике

(в 10 и в 6 раз, соответственно). Концентрация ГСТ_μ в этих отделах достигала 50 и 30% от таковой в печени [152]. Активность СYP1A1 в микросомах из двенадцатиперстной кишки детектировали I. Leclercq et al. [153]. Экспрессию мРНК СYP3A4 и СYP3A5, но не СYP3A7, в этом участке желудочно-кишечного тракта показали в работе [154]. D. Hickman et al. определили в образцах от 4 человек, что количество NAT2 и ее специфическая активность (скорость ацетилирования сульфадимезина) снижаются в направлении от проксимального к дистальному отделу кишечника примерно в 2 раза. Количество и активность NAT1 (ацетилирование парааминобензойной кислоты) были максимальной либо на границе тонкого и толстого кишечника, либо в толстом кишечнике. Активность NAT1 превышала NAT2 в 2 - 70 раз [155].

В головном мозге детектированы мРНК, белок и специфическая активность нескольких изоформ P450, участвующих в метаболизме как ксенобиотиков, так и физиологически активных эндогенных соединений. Экспрессию мРНК СYP1A1 первыми недавно показали С. Yun et al. [156]. Имеющиеся данные позволяют сделать вывод о том, что различные структуры головного мозга и типы клеток отличаются по спектру экспрессируемых изоформ. Так, удалось показать экспрессию мРНК изоформ СYP1A-, СYP2C- и СYP3A-подсемейств во фронтальной и височной областях коры, среднем мозге, мозжечке, *pons & medulla*. СYP1A1 и СYP2C8 характеризовались распространенной экспрессией, другим формам P450 присуща локальная экспрессия [157]. Кроме того, отличительной особенностью является экспрессия ферментов, участвующих в биотрансформации соединений, выполняющих регуляторные функции. Так, астроциты и нейроны коры экспрессируют P450c17 (17 α -гидроксилазу), осуществляющую синтез дегидроэпиандростерона из прегненолона. В астроцитах также возможен дальнейший метаболизм дегидроэпиандростерона в половые гормоны (эстрадиол) [158]. СYP2D6 оказался единственным из 11 изоформ P450, способным катализировать синтез допамина из р- и m-тирамина. Тирамин является эндогенным амином, присутствующим в головном мозге. Кроме того, он содержится в таких продуктах, как сыр и вино [159]. Эта находка стимулировала исследования роли других изоформ P450 в метаболизме нейромодуляторов. J. Agundez et al. проверили участие СYP1A2, который экспрессируется в головном мозге, в метаболизме 17 таких соединений. Авторы не получили убедительных данных об участии СYP1A2 в их метаболизме, но обнаружили интригующий факт, что серотонин и тирамин могут полностью ингибировать активность этого цитохрома. Это первое сообщение о регуляторных эффектах нейротрансмиттеров в отношении P450 [160].

В различных районах головного мозга, и более всего в *putamen*, экспрессируется СYP1B1 [161]. Исследователи полагают, что знания о региональной специфичности экспрессии ФБК позволят объяснить фокальные повреждения при некоторых нейродегенеративных заболеваниях и улучшить психофармакологическую коррекцию [162]. Клетки миндалевидной железы и в меньшем количестве клетки гипофиза и других районов мозга экспрессируют серотонин-N-ацетилтрансферазу - скоростьюлимитирующий фермент в синтезе мелатонина [163, 164].

Глутатион S-трансфераза является распространенным ферментом в структурах головного мозга. Количество белка и активность снижены в амигдале, гиппокампе, парагиппокампальной извилине, нижней париетальной доле, базальном ядре Мейнерта у больных болезнью Альцгеймера [165, 166].

GST α и GST π иммунохимически детектируются в *tela chorioidea* и в *telencephalon* уже на 8-й неделе эмбрионального развития. GSTM2-2 экспрессируется в *substantia nigra* [167].

В ткани молочной железы определяется экспрессия мРНК CYP1B1, CYP2C и CYP2D6 во всех образцах, CYP3A4 и CYP3A5 - в 75 - 80% образцов [168]. Базальную экспрессию мРНК CYP1A1 и CYP1B1, но не CYP1A2, в эпителиальных клетках молочной железы зарегистрировали также в [169]. H. Hellmold et al. детектировали в ткани молочной железы широкую панель мРНК: CYP1A1, CYP1B1, CYP2A6, CYP2B6, CYP2E1, CYP2C, CYP3A, и CYP19 (ароматаза) [170]. С экспрессией этих мРНК совпали результаты иммунохимического определения белков. В нормальной ткани молочной железы выявляются GST α (в эпителии, выстилающем протоки) и GST μ (в миоэпителиальных клетках) [171]. Экспрессию мРНК NAT1, NAT2 и соответствующих белков в ткани молочной железы показали в работе [172]. В то же время, этим авторам не удалось зарегистрировать специфичную для NAT2 активность, в отличие от NAT1.

В мочевом пузыре регистрируются активности всех ферментов 2-й фазы, за исключением NAT [56]. В слизистой мочевого пузыря обнаруживаются преимущественно ферменты 2-й фазы биотрансформации. В первых работах регистрировалась общая активность ферментов по неспецифичному субстрату, например, активности эпоксидгидролазы, сульфотрансферазы, УДФ-ГТ и GST [56], активность GST в работе A. Lafuente et al. [173]. Однако уже в этот период была показана экспрессия мРНК GST π [174, 175]. C. Verendsen et al. обнаружили у здоровых людей активности GST μ и GST π , а активность GST α была ниже уровня детекции в 92% образцов [176].

В нативных лимфоцитах периферической крови некурящих людей J. Hukkanen et al. выявили экспрессию мРНК CYP2E1, CYP1B1, CYP3A5, CYP4B1 [146]. Эти авторы не подтвердили экспрессию мРНК CYP1A1, в отличие от опубликованных ранее данных [177 - 179]. Возможными причинами этих различий в результатах является стимуляция лимфоцитов митогенами и индукторами CYP1A1 и экспрессия в лимфоцитах CYP1B1, сходного по своей субстратной специфичности с CYP1A1 [180, 181].

Различные профили экспрессии ферментов биотрансформации в органах и тканях, в сочетании с высокой субстратной специфичностью и различиях в регуляции индивидуальных генов позволяют объяснить тканеспецифичную токсичность ксенобиотиков. Внедрение молекулярно-биологической техники (детекция мРНК с помощью обратной полимеразной цепной реакции) облегчает поиск изоформ с низким уровнем экспрессии в клетках. Однако в конечном итоге сохраняется необходимость оценок содержания и специфических активностей белков. Особое значение

имеют такие оценки у человека в условиях *in vivo*. С этой целью необходимо развитие двух основных подходов: оценок фармакокинетики фермент-специфичных лекарств (фенотипирование) и генотипирования полиморфных генов [182].

4.1.3. Индуцибельность

Индуцибельность обозначает способность к увеличению активности ферментов биотрансформации ксенобиотиков в ответ на внешнее воздействие в результате их дополнительного синтеза *de novo*. В пионерских работах, в которых был описан феномен индукции, предполагалось, что ксенобиотики сами являются факторами регуляции собственного метаболизма [183]. Позднее было показано участие генетических факторов в процессе индукции [184].

Связанные с индуцибельностью изменения активности в количественном выражении достигают десятков раз. Генетические механизмы индуцибельности генов P450 различны. В рамках данного обзора нет возможности подробного их рассмотрения, поэтому мы рекомендуем ознакомиться со статьей J. Whitlock et al., посвященной этой проблеме [185], и введением в проблему [186]. Сам феномен индукции подробно рассмотрен нами в предыдущем обзоре [187]. Для удобства читателей здесь мы в табличном виде представим информацию об индуцибельных формах цитохрома P450 и типичных ксенобиотиках, оказывающих на них индуцирующий эффект (табл. 4.2).

Т а б л и ц а 4.2

Ксенобиотики-индукторы индивидуальных форм цитохрома P450

Изоформы P450	Индукторы-загрязнители окружающей среды	Индукторы - лекарственные препараты
CYP1A1 и CYP1A2	Полиароматические углеводороды, полиалогенированные бифенилы, полихлорированные дибензо- <i>p</i> -диоксины, дибензофураны [188, 189]	Теофиллин, омепразол [190, 191]
CYP1B1	Индукторы те же	
CYP2B6	ДДТ, α -гексахлорциклогексан, гексабромбифенил, арохлор 1254 [146]	Фенобарбитал [192]
CYP2C		Рифампицин [193]
CYP2E1*		
CYP3A	Полигалогенированные бифенилы [194]	Фенобарбитал, рифампицин, глюкокортикоиды [179, 195, 196]
CYP4A		Гипохолестеринемические (клофибрат)

* Для CYP2E1 показаны механизмы увеличения активности под влиянием пиридина, ацетона и изониазида, обусловленные стабилизацией белка.

4.1.4. Генетический полиморфизм ферментов биотрансформации ксенобиотиков

Полиморфизм - существование двух или более аллелей для данного гена или, в более общем виде, существование различных последовательностей данного локуса у различных индивидуумов [198]. Генетический полиморфизм ферментов биотрансформации является еще одним фактором, вызывающим значительную межиндивидуальную вариабельность (до сотен раз) в метаболизме ксенобиотиков.

Показаны следующие варианты генетического полиморфизма ферментов биотрансформации ксенобиотиков:

1) точечные мутации, обуславливающие снижение или увеличение изменения активности функционального белка, изменение его субстратной специфичности или стабильности; иногда такие мутации не вызывают функциональных изменений белка;

2) делеции генов или мутации, результатом которых является отсутствие белка;

3) увеличение числа копий генов, и, как следствие, концентрации функционального белка.

Полиморфизм активностей может быть следствием полиморфизма регуляторных участков гена, повлекшим усиление экспрессии. Примером такого полиморфизма может служить сообщение T. Rebeck et al. о транзакции A - G в нифедипин-специфичном регуляторном элементе гена CYP3A4 [199]. В отличие от CYP3A4, ни один из двух полиморфных сайтов (C₋₄₅₉T и G₋₄₆₉A) промотора гена CYP1A1 не влиял на индуцибельность этого фермента [200]. Эти же авторы сообщают о трех полиморфных сайтах в промоторе гена CYP2E1: A₋₃₁₆G, T₋₂₉₇A, G₋₃₅T. Комбинация двух последних замен проявляется усилением транскрипционной активности в 1,8 раза в сравнении с диким типом. Msp 1-полиморфизм интрона ассоциирован с индуцибельностью CYP1A1 [201]. Этот эффект проявляется в сочетании с Ile/Val полиморфизмом гена CYP1A1 у представителей монголоидной расы и пока не получил объяснения.

Генетический полиморфизм факторов транскрипции также стал предметом исследований последних лет. Два варианта полиморфизма гена Ah-рецептора уже описаны в литературе: замена G₁₇₆₈A (Val₅₇₀Ile в белке) и замена G₁₇₂₁A, которой соответствует и Arg₅₅₄Lys [202]. K. Daly et al. показали (в отличие от первооткрывателей), что Val₅₇₀ → Ile ассоциирован с высокой индуцибельностью [200].

Все же в современной научной литературе накоплено больше данных о генетическом полиморфизме именно структурной части генов ФБК. Известные виды полиморфизма генов ФБК и их функциональные проявления представлены в табл. 4.3, 4.4.

Следует отметить, что в эпидемиологических работах по изучению взаимосвязи ФБК с онкозаболеваниями оцениваются любые из перечисленных видов генетического полиморфизма, несмотря на то, что не для каждого из них показаны фенотипические проявления.

Т а б л и ц а 4.3

Аллели полиморфных генов CYP

Ген	Локализация мутации	Эффект	Метаболические следствия
1	2	3	4
CYP1A*1 (дикий аллель)			
CYP1A1*2 (Msp1) [188]	T → C, интрон		Увеличение индуцибельности в сочетании с Ile/Val-поли-морфизмом
CYP1A1*3 [188]	A ₄₈₈₉ G, 7 экзон	Ile → Val	Увеличение активности in vitro
CYP1A*4 [203] (афро-американский)	Транзиция АТ → GC в 3'-некодирующем регионе		
[187] (еще не введен в номенлатуру)	C ₄₁₅₁ T		Без изменений
CYP1B1 [204]			
m1	экзон 3	Val ₄₃₂ Leu	
m2	Там же	Asn ₄₅₃ Ser	
CYP2A6 [117]		Leu ₁₆₀ → His	Дефектный белок
CYP2C9 [205]	экзон 3	Arg ₁₄₄ → Cys	Белок с измененной субстратной специфичностью
	экзон 7	Ile ₃₅₉ → Leu	
CYP2C19			
2C19*1 (дикий аллель)			
2C19*2A (m ₁) [206]	G → A, экзон 5	Arg ₁₃₂ → Gln	Дефектный белок без гемсвязывающего участка
		Нарушение сплайсинга	
2C19*2B [207]	G ₂₇₆ C, экзон 2	Glu ₉₂ → Asp	Снижение активности
2C19*3 (m ₂) [208]	G ₆₃₆ → A, экзон 4		Дефектный усеченный белок
2C19*4			
2C19*5A [209]	C ₉₉ , A ₉₉ 1 C ₁₂₉₇ T	Ile ₃₃₁ Arg ₄₃₃ → Trp	Дефектный белок в гемсвязывающем участке

2C19*5B [193]	C ₉₉ T; A ₉₉₁ G C ₁₂₉₇ T	Ile ₃₃₁ → Val Arg ₄₃₃ → Trp	То же
2C19*6 [117]	экзон 3		Снижение активности
CYP2D6*1 (дикий аллель)			

Продолжение табл. 4.3

1	2	3	4
CYP2D6*3 [210] (A)	Делеция экзон 5	A ₂₆₃₇ , Смещение рамки считывания	Активность отсутствует
CYP2D6*4 (B)	G ₁₉₃₄ A; C ₁₈₈ T; C ₁₀₆₂ A; A ₁₀₇₂ G; C ₁₀₈₅ G; G ₁₇₄₉ C; G ₁₉₃₄ A; G ₄₂₆₈ C	Дефект сплайсинга/смещение рамки считывания	То же
CYP2D6*5 (D)	Делеция гена	Нет белка	"-
CYP2D6*7 (E)	A ₃₀₂₃ C	His ₃₂₄ → Pro	"-
CYP2D6*9 (C)	Делеция A ₂₇₀₃ , G ₂₇₀₄ , A ₂₇₀₅	Делеция Lys ₂₈₁	Снижение активности
CYP2D6*10 (Ch1)	C ₁₈₈ T; C ₁₁₂₇ T; G ₁₇₄₉ C	Pro ₃₄ M Ser	То же
CYP2D6*10 (Ch2)	C ₁₈₈ T + посл-ть CYP2D7 в экзоне 9		Нестабильный белок
CYP2D6*11 (F)	G ₉₇₁ C; C ₁₀₆₂ A; A ₁₀₇₂ G; C ₁₀₈₅ G	Дефект сплайсинга	Активность отсутствует
CYP2D6*8 (G)	G ₁₈₄₆ T; G ₁₇₄₉ C; C ₂₉₃₈ T	Преждевременная терминация	То же
CYP2D6*10 (J)	C ₁₈₈ T; C ₁₇₄₉ G; G ₄₂₆₈ C	Pro ₃₄ → Ser	Снижение активности
CYP2D6*2 (L)	G ₁₇₄₉ C; C ₂₉₃₈ T; G ₄₂₆₈ C		То же
Аллель Lx2	2 гена		Увеличение активности
Аллель Lx3	3 гена		То же
Аллель Lx13	13 генов		"-
CYP2D6*13 (M)	C ₁₈₈ T; C ₂₉₃₈ T; G ₄₂₆₈ C	Pro ₃₄ → Ser	Снижение активности
CYP2D6*12 (N)	G ₄₂₆₈ C		Увеличение активности
CYP2D6*6 (T)	Делеция T ₁₇₉₅ ; G ₂₀₆₄ A	Преждевременная терминация	Снижение активности

CYP2E1 [189]	A ₋₃₁₆ G; T ₋₂₉₇ A + G ₋₃₅		Без изменений Увеличение транскрипционной активности
[187] (еще не введен в номенклатуру)	G ₄₈₀₄ A	Val ₁₇₉ → Ile	Без изменений
Аллели С и D [211]	DraI-полиморфизм в 5'-области		

Окончание табл. 4.3

1	2	3	4
Аллель c2 [212]	RsaI-полиморфизм в 5'-области. Мутация в участке связывания с фактором транскрипции HNF1		Усиление экспрессии, увеличение активности
PstI-полиморфизм [213]	Мутации в 5'-области гена		

Примечания: В тех случаях, когда номенклатура аллелей генов приведена в соответствии с "Руководством..." [214], обозначения аллелей, введенные авторами оригинальных работ, даются в скобках. Для аллелей с несколькими измененными основаниями жирным шрифтом отмечены ключевые мутации.

Т а б л и ц а 4.4

Аллели полиморфных генов ферментов 2-й фазы биотрансформации ксенобиотиков

Ген	Локализация мутации	Эффект	Метаболические следствия
1	2	3	4
NAT1*4 (дикий аллель) [215]			
NAT1*3	C ₁₀₉₅ A		Активность не изменена
NAT1*10	T ₁₀₈₈ A, C ₁₀₉₅ A		Увеличение активности
NAT1*11	Делеция 9 пар оснований		То же
NAT1*14 [216]	G ₅₆₀ A + T ₁₀₈₈ A + C ₁₀₉₅ A	Arg ₁₈₇ Gln	Снижение активности
NAT1*15	C ₅₅₉ T		То же
NAT1*17 [217]	C ₁₉₀ T	Замена Arg ₆₄	"-"
[218] NAT2*4 (дикий тип)			
NAT2*5A	341; 481	Ile ₁₁₄ → Thr	Снижение активности

NAT2*5B	341; 481; 803	Ile ₁₁₄ → Thr	Снижение активности и V _{max}
NAT2*C	341; 803	Lys ₂₆₈ → Arg	Снижение активности, V _{max} и стабильности белка
NAT2*6A	282; 590	Arg ₁₉₇ → Gln	Снижение активности и стабильности белка
NAT2*6B	590	Arg ₁₉₇ → Gln	То же
NAT2*7A	857	Gly ₂₈₆ → Glu	"-

Окончание табл. 4.4

1	2	3	4
NAT2*7B	282; 857	Gly ₂₈₆ → Glu	Снижение активности и стабильности белка
NAT2*12A	803	Lys ₂₆₈ → Arg	Без изменений
NAT2*12B	282; 803	Lys ₂₆₈ → Arg	То же
NAT2*13	282	Lys ₂₆₈ → Arg	"-
NAT2*14A	191	Arg ₆₄ → Gln	Снижение активности и стабильности белка
NAT2*14B	191; 282	Arg ₆₄ → Gln	
GSTM1*A (дикий тип) [219]		Lys ₁₇₃	
GSTM1*B [220]		Arg ₁₇₃	
GSTM1*0 (нуль-аллель)	Делеция гена	Нет белка	Нет активности
GSTM3*A (дикий тип) [221]			
GSTM3*B	Делеция 3 нуклеотидов в 6-м интроне с образованием посадочного места для фактора транскрипции YY1		
GSTT1			
GSTT1*0 [222]	Делеция гена	Нет белка	Нет активности
GSTP1*A (дикий тип) [223, 224]	A ₃₁₃		
GSTP1*B	A ₃₁₃ → G	Ile ₁₀₄ → Val	Изменение кинетических параметров
GSTP1*C	A ₃₁₃ → G + C ₃₄₁ → T инсерция G ₅₁ в IRE 1 интер-рона; инсерция 6 тандемных повторов и 1 консенсусного участка	Ile ₁₀₄ → Val + Ala ₁₁₃ → Val	Изменение кинетических параметров, увеличение ретинол-зависимой индукции in vitro

RARE

мЭГ [225]

T → C, экзон 3

Tyr₁₁₃ → His Снижение активности

A → G, экзон 4

His₁₃₉ → Arg Увеличение активности

ST1A3 [226]

Arg₂₁₃ → His; Не определено

Met₂₂₃ → Val

STD [227]

T₁₇₀C, экзон 2

Met₅₇ → Thr Снижение экспрессии

A₅₅₇T, экзон 4

Glu₁₈₆ → Val in vitro

Примечания: IRE-insulin response element; RARE- retinoic acid response element.

4.2. Ассоциация ферментов биотрансформации ксенобиотиков с онкологической патологией

Приведенные данные об основных свойствах ФБК дают представление о том, что их активность является результатом сложного баланса генетических и средовых факторов. Тем не менее, эти знания позволили организовать эпидемиологические исследования по изучению роли ФБК в онкозаболеваемости у человека, соотношению процессов продукции генотоксичных канцерогенов с конкретными ферментами, генами, которые их кодируют и осуществляют регуляцию, биологическими эффектами и их клиническими последствиями. Ферменты биотрансформации ксенобиотиков стали индивидуальными молекулярными признаками, для исследования которых можно было применить подходы, используемые в изучении генов-кандидатов. Использование этих признаков в качестве молекулярных маркеров и делает возможной оценку взаимосвязи между ними и наличием какого-либо онкологического заболевания, понимание механизмов, обуславливающих развитие заболевания. Эпидемиология, которая использует такие признаки - молекулярная эпидемиология, - этим существенно отличается от классической эпидемиологии, показывающей взаимосвязь между признаками без описания молекулярных механизмов, лежащих в ее основе.

Однако классическая эпидемиология внесла неоценимый вклад, во-первых, тем, что определила комплексные конститутивные (возраст, пол, раса) и средовые (курение для рака легкого, высокожировая диета для рака толстого кишечника, бензол для лейкемии и др.) факторы риска развития рака [228]. Во-вторых, было показано, что генетические факторы вносят вклад в предрасположенность к раку. Незначительная часть онкозаболеваний обусловлена доминантными высокопенетрантными мутациями, обуславливающими высокий индивидуальный риск. Примерами таких заболеваний являются ретинобластома, опухоль Вильмса, пигментная ксеро-дерма, синдром Ли-Фраумени и др. По данным [229, 230] такие случаи рака составляют около 5%. Все остальные являются результатом воздействия среды на нормальную в генетическом отношении часть популяции и на лиц с генетической предрасположенностью, связанной с полиморфными генами ферментов метаболизма химических факторов окружающей среды. Последние обуславливают не такой сильный индивидуальный риск, как в

первом случае, но неизмеримо больший популяционный риск в силу своей распространенности в популяции.

Во введении мы отмечали, что по оценкам IARC, 80 - 90% всех случаев рака связано с воздействием химических факторов [1]. В связи с этим большое значение в инициации канцерогенеза придают ферментативной системе биотрансформации ксенобиотиков. Канцерогенность многих соединений связана с их генотоксичностью, причем более 75% всех известных канцерогенов приобретают генотоксичность в результате ферментативной активации. Две функционально сопряженные фазы системы биотрансформации: цитохром Р450-зависимые реакции окисления (1-я фаза) и реакции конъюгации (2-я фаза) с участием глутатион S-транс-фераз, N-ацетилтрансфераз, эпоксидгидролазы и других могут и детоксифицировать, и токсифицировать исходные ксенобиотики. Соотношение этих процессов зависит от активностей изоформ ферментов биотрансформации, для которых конкретный ксенобиотик является субстратом.

Концептуально химический канцерогенез связывают с образованием реактивных метаболитов в реакциях биотрансформации ксенобиотиков и повреждением ими "критических генов", к которым относят гены, участвующие в регуляции клеточного роста - онкогены [2]. Баланс активностей реакций активации и детоксификации ксенобиотиков, процессов репарации ДНК и элиминации клеток с поврежденным геномом определяет вероятность возникновения рака. Исходя из этой концепции, принципиальная задача исследований, посвященных участию ФБК в химическом канцерогенезе, заключалась в доказательстве причинной связи между активностью процессов токсификации ксенобиотиков-проканцерогенов и повреждением ДНК онкогенов и/или онкосупрессоров, выявлении взаимосвязи этих событий с полиморфными ФБК. Значительная часть этих работ выполнена с такими заболеваниями, как рак легкого и мочевого пузыря. Для каждого из них подходами классической эпидемиологии удалось достоверно установить взаимосвязь между воздействием канцерогена (ПАУ и нитрозамины табачного дыма для рака легкого, ариламины для рака мочевого пузыря) и развитием заболевания. Имела значение и социальная значимость этих заболеваний.

Молекулярная эпидемиология для оценки того или иного этапа канцерогенеза использует молекулярные маркеры, имеющие количественное выражение. Маркер воздействия, или внутренняя доза - это концентрация ксенобиотика или его токсичного метаболита, измеряемая в биологических средах организма, как правило в крови. В качестве маркера воздействия табачного дыма используют котинин или тиоцианат. Маркер эффекта, или биологически эффективная доза, или молекулярная доза - это количество аддуктов белка или ДНК с ксенобиотиком, эффекты которого исследуются.

Оценка такого маркера эффекта, как бензпирендиолэпоксид-ДНК-аддукт в ткани легких у курильщиков, больных раком легкого, выявила 15-кратную межиндивидуальную вариабельность в его количестве [231]. Было показано, что курение увеличивает активность CYP1A в легких. Среди курящих количество ПАУ-ДНК-аддуктов в периферических лейкоцитах выше у носителей валинового аллеля CYP1 [232]. H. Bartsch и E. Nietanen разви-

ли идею о том, что в случае воздействия комплексного внешнего фактора, набор генетических и метаболических маркеров может оказаться недостаточным для оценки предрасположенности к онкопатологии. Роль универсального индикатора могут выполнять ДНК-аддукты. У больных раком легкого, частота встречаемости мутаций в гене p53 была выше среди курящих больных, а тип мутаций соответствовал тому, который вызывает бензпирендиолэпоксид (трансверсия GC → AT). Эта мутация положительно коррелировала с нуль-генотипом GSTM1. Авторы делают вывод о том, что сочетание метаболического и генетического типирования с определением ДНК-аддуктов в органе-мишени или суррогатной ткани и мутаций в гене p53 позволит надежно выявлять индивидов с высоким риском [233]. У K. Kawajiri et al. носители комбинации генотипов GSTM1(-) и CYP1A1Вал/Вал имели высокий риск aberrаций в гене p53 (OP = 8,17) а комбинации GSTM1(-) и CYP1A1m2/m2 - риск мутаций в гене Ki-ras (OP = 11,4) [237].

M. Landi et al. исследовали взаимосвязь метаболического полиморфизма CYP1A и NAT2 с уровнем аддуктов бифенилов с гемоглобином. После курения табака наивысшие уровни аддуктов наблюдались у лиц, комбинирующих фенотип быстрого окислителя с медленным ацетилятором. Это особенно проявлялось при низких дозах курения. При больших дозах курения различия стирались [235]. Таким образом, в тех случаях, когда можно было вычленить доминирующий загрязнитель окружающей среды (например, в случае профессионального контакта), результаты, как правило, совпадали с теоретическими представлениями.

Конечно, были и несоответствия. Так, используя такие маркеры, как уровень афлатоксина В1 в моче, количество его аддуктов с альбумином и распространенность специфичной для AFB1 мутации в 249-м кодоне p53, удалось показать лишь ограниченное значение этого микотоксина в развитии карциномы печени в Таиланде, где отмечается высокая степень загрязнения пищи этим токсином. Авторы высказали предположение о возможной роли других гепатоканцерогенов [236]. По-видимому, в реальных условиях поликомпонентного загрязнения окружающей среды, идентификация биохимических и генетических признаков является более надежным подходом в изучении роли ФБК в онкопатологии, регистрируемой в этих условиях.

Кроме того, судьба ксенобиотика в организме (disposition) не сводится только к метаболизму, но включает еще и всасывание, распределение и элиминацию. Поэтому вполне вероятны канцерогенные эффекты не в месте метаболизма, но и в других органах. То есть возникает сложная, но во многих случаях объяснимая на основе уже полученных знаний цепь событий на этапе инициации. Молекулярно-эпидемиологические исследования, в которых оценивалась эта взаимосвязь, учитывали биологические особенности ФБК. Например, знания о роли индивидуальных форм в метаболизме конкретных ксенобиотиков делали возможным прицельную оценку взаимосвязи между этими формами и раком (ариламин-индуцированный рак у медленных ацетиляторов в производстве красителей [237]). Знания об органной специфичности экспрессии ФБК сделали возможным выбор генов, с большей вероятностью, чем другие, ассоциированных с локализованными в

этом органе раковыми заболеваниями. Знания об индуцибельности индивидуальных ФБК позволяли трактовать механизмы взаимосвязи признака и заболевания по фенотипу в тех случаях, когда не было возможности использовать генетический маркер. К таким работам относится изучение индуцибельности арилгидрокарбонгидроксилазы в лимфоцитах в качестве маркера предрасположенности к раку легкого [238]. Более того, фенотипическая оценка для индуцибельных генов является необходимой, даже в случае идентификации полиморфизма в их структурной части [239].

Свойства ферментов биотрансформации ксенобиотиков делают возможным их использование в качестве маркеров предрасположенности. В качестве критерия, определяющего, является ли изучаемый признак фактором риска заболевания, используют отношение шансов (OR) (odds ratio):

$$OR = \frac{A/B}{C/D},$$

где А и В - процент носителей аллельного варианта признака и "дикого" аллеля признака в опытной группе, соответственно, а С и D - процент носителей аллельного варианта и дикого аллеля признака в группе сравнения [240].

В том случае, если анализируемый признак не имеет рискованной значимости, не будет различий между опытной и контрольной группой, отношение равно 1. Значения выше единицы указывают на то, что признак может являться фактором риска. Если величина отношения ниже единицы, признак выполняет роль фактора устойчивости.

В табл. 4.3 и 4.4 представлена информация о большом количестве аллельных вариантов генов ФБК, причем много новых знаний получено в последние два года. Роль этих новых видов полиморфизма сейчас активно исследуется. Исторически, однако, ранее других был выявлен полиморфизм немногих генов цитохромов P450 и ферментов конъюгации: CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1, GSTM1 и NAT2 [206, 241 - 243]. С них началось (и продолжается) выяснение роли ФБК в предрасположенности к раку.

Большое число работ посвящено полиморфизму цитохрома P4501A1. Точечная мутация (A → G) в 7-м экзоне гена, в результате которой происходит замена в гем-связывающей области фермента Иле на Вал, приводит к увеличению активности фермента, кодируемого аллелем CYP1A1Вал по сравнению с Иле-формой цитохрома P4501A1 [244]. Изучение Иле/Вал-полиморфизма в японской и ряде европейских популяций показало, что частота встречаемости аллеля CYP1A1Вал выше у больных раком легкого по сравнению с группой здоровых людей [2, 245 - 247].

Индивидуальный риск развития онкозаболеваний связывают также с полиморфизмом ферментов конъюгации - глутатион S-трансферазы M1 (GSTM1) и N-ацетилтрансферазы 2 (NAT2). Активность GSTM1 отсутствует у 50% индивидов [231, 248], что обусловлено наследуемой гомозиготной делецией гена GSTM1 - генотипом GSTM1(-) (или GSTM1*0/0) [206]. Показано, что в японской популяции число носителей генотипа GSTM1(-) существенно выше в группе больных раком легкого, особенно плоскоклеточной

карциномой, чем в контрольной группе [233, 249]. При этом риск еще более увеличивается для людей, одновременно несущих аллель CYP1A1Val и делецию гена GSTM1. Что касается европейских популяций, одни исследователи показали увеличение риска рака легкого для носителей генотипа GSTM1(-) [231, 250, 251], в то время как другие получили одинаковое распределение генотипов GSTM1 в контроле и у больных [252]. Противоречивые результаты получены также по распределению генотипов GSTM1 у больных раком других локализаций [253 - 256].

Полиморфизм N-ацетилтрансферазы 2 проявляется наличием в человеческой популяции быстрых и медленных ацетиляторов. Найден ряд мутаций гена NAT2, носители которых обладают фенотипом медленных ацетиляторов [215, 217]. Известны данные об увеличении числа медленных ацетиляторов у больных раком мочевого пузыря [240] и быстрых ацетиляторов у больных колоректальным раком [230].

Результатом генотоксичного эффекта реактивных метаболитов во многих случаях являются соматические мутации белка-онкосупрессора p53, которые с высокой частотой обнаруживаются у онкобольных. Многие из этих мутаций приводят к нарушению способности белка p53 блокировать рост и деление клеток, несущих поврежденную ДНК, что может являться пусковым фактором в развитии онкопатологии. Некоторые типы соматических мутаций p53 исследователи связывают с действием определенных химических соединений и рассматривают их в качестве маркеров патогенного воздействия этих канцерогенов [214]. С другой стороны, известны генетически наследуемые мутации p53, которые могут быть одной из причин генетических различий в предрасположенности индивидуумов к онкозаболеваниям. Так, K. Kawajiri et al. обнаружили, что замена G на C в 72-м кодоне гена p53, результатом которой является замена в белке Arg на Pro, приводит к увеличению в 1,7 раза риска рака легкого у носителей генотипа Про/Про [257].

В целом, состояние проблемы сейчас таково, что, безусловно, можно говорить о ее большой научно-практической значимости и необходимости дальнейших исследований. Они необходимы и на территории Западной Сибири, многие области которой характеризуются высоким уровнем онкологической заболеваемости. Так, первичная заболеваемость злокачественными заболеваниями населения Алтайского края в период 1989 - 1990 гг. составляла 285,47 человека на 100000 населения. В этот период две первые позиции занимали злокачественные новообразования органов дыхания и пищеварения [258]. Для сравнения, в США в 1996 г. этот показатель в абсолютном выражении составил 1,4 млн человек [259]. Такое исследование было проведено Институтом молекулярной патологии и экологической биохимии СО РАМН (ныне Институт молекулярной биологии и биофизики СО РАМН) при поддержке государственной научно-технической программы "Здоровье населения России".

В настоящей работе исследовалось распределение генотипов CYP1A1 (Иле-Val-полиморфизм), GSTM1(+) и GSTM1(-), и фенотипов быстрых и медленных ацетиляторов (полиморфизм NAT2) у больных раком легкого, раком желудка и раком кишечника с целью оценки взаимосвязи исследуемых гено- или фенотипов с риском развития рака различной локализации.

Группу обследуемых составили пациенты Новосибирского онкодиспансера. Во все исследуемые группы больных и в контрольную группу здоровых входили индивидуумы только европеоидного происхождения, поскольку существуют значительные межрасовые различия в распределении исследуемых генотипов. Распределение генотипов и частоты встречаемости аллелей у обследованных приведены в табл. 4.5.

Полученная нами частота встречаемости мутантного аллеля CYP1A1Val в контрольной группе (0,027) была столь же низкой, как и в

Таблица 4.5

Полиморфизм ферментов биотрансформации ксенобиотиков
у онкологических больных

Признаки	Контроль	Рак легкого					Рак желудка	Рак кишечника	
		Всего	< 50 лет	> 50 лет	курящие	некурящие			
CYP1A1	Ile/Ile	54 (94,7%)	71 (87,7%)	17 (77,3%)	54 (91,5%)	36 (92,3%)	35 (83,3%)	55 (87,3%)	18 (75%)
	Ile/Val	3(5,3%)	8(9,9%)	4(18,2%)	4(6,7%)	3(7,7%)	5(11,9%)	7(11,1%)	6(25%)
	Val/Val	0	2(2,5%)	1(4,5%)	1(1,7%)	0	2(4,8%)	1(0,8%)	0
	OR	1	2,94	5,78	1,93	1,49	4,85	2,81	5,25
GSTM1	"+"	32 (60,4%)	40 (49,4%)	11 (52,4%)	29 (48,3%)	20 (54,1%)	20 (45,4%)	28 (57,1%)	14 (60,9%)
	- "	21 (39,6%)	41 (50,6%)	10 (47,6%)	31 (51,7%)	17 (45,9%)	24 (54,6%)	21 (42,9%)	9(39,1%)
	OR	1	1,56	1,39	1,63	1,3	1,83	1,14	0,98
Статус ацетили- рования	БА	27 (54,0%)	9 (22,5%)	0	9 (25,7%)	7 (33,3%)	2 (11,8%)	8 (21,6%)	н.о.
	МА	23 (46%)	31 (77,5%)	5 (100%)	26 (74,3%)	14 (66,7%)	17 (88,2%)	29 (78,4%)	н.о.
	OR	1	4,04	-	3,39	2,35	9,98	4,26	-

Примечание: БА - быстрый ацетилатор, МА - медленный ацетилатор; н.о. - не определялся.

других европейских популяциях (0,035 у шведов, 0,032 у немцев) [231, 232]. Для сравнения, у японцев этот аллель встречается с частотой 0,25 [260]. Частота Вал-аллеля у больных раком легкого (0,074) втрое превышала соответствующую величину в контрольной группе. Отношение разниц (OR), отражающее степень риска рака легкого для носителей Вал-аллеля, равно 2,94. Существенно, что "рисковая значимость" Вал-аллеля зависит от возраста и фактора курения. Результаты показывают (см. табл. 4.5), что у больных раком легкого в возрасте до 50 лет наблюдается более высокая частота этого аллеля, и в 3 раза более высокое отношение разниц, чем в старшей возрастной группе. Возрастной анализ всей группы больных показал, что средний возраст пациентов, имеющих аллель CYP1A1Вал (45,9 лет), был почти на 12 лет ниже, чем в группе пациентов, гомозиготных по Иле-аллелю (57,7 лет), и на 10 лет ниже среднего возраста всех обследованных больных (56,4 года). Высокая частота Вал-аллеля (0,117) наблюдалась также в группе некурящих больных (OR = 4,85).

Хотя во всех группах больных раком легкого повышенная частота встречаемости Вал-аллеля, достоверность отличий от контрольной группы была получена только для некурящих больных и больных не старше 50 лет. Мы считаем, что это является результатом недостаточного размера выборки контрольной группы. Поскольку распространенность Вал-аллеля в нашей контрольной выборке не отличалась от литературных данных по европейским популяциям ($\chi^2 = 0,018 \leq 2,71$), мы провели дополнительные расчеты достоверности результатов с использованием литературных данных N. Drakoulis et al. [246]. Оказалось, что риск, связанный с Вал-аллелем, становится достоверным для всей группы больных раком легкого. Полученные данные позволяют считать наличие аллеля CYP1A1Вал фактором риска возникновения рака легкого, причем заболевание у носителей мутантного аллеля развивается примерно на 10 лет раньше, чем у носителей нормального генотипа. Этот вывод согласуется с данными других авторов, полученными как для европейских, так и для японской популяции [2, 231 - 233].

Надо отметить, что внимание исследователей сосредоточено в значительной мере на изучении полиморфизма гена CYP1A1 у больных раком легкого. Это связано со значительной загрязненностью воздушной среды ПАУ и экспрессией этого цитохрома в легких. Однако канцерогенное действие реактивных метаболитов, образующихся с участием цитохрома P4501A1, может проявляться и в других органах и тканях, являющихся "входными воротами" для ксенобиотиков, и в которых есть экспрессия этого цитохрома. Реактивные метаболиты могут мигрировать из тканей, в которых они образовались, например, клеток печени, где происходит основной метаболизм ксенобиотиков, и оказывать генотоксичный эффект на другие органы и ткани [134].

Желудок и кишечник являются органами, подвергающимися контакту с поступающими водой и пищей. Кроме того, они также интенсивно перфузируемые органы. Поэтому эпидемиологическое значение исследуемых генотипов для рака этих локализаций может быть весьма существенным. Полученные нами результаты исследования полиморфизма CYP1A1 в группах больных раком желудка и раком кишечника (см. табл. 4.5) указывают

на увеличение частоты аллеля CYP1A1Val по сравнению со здоровыми людьми. Так, OR в группе больных раком желудка и раком кишечника составляет 2,81 и 5,25, соответственно, причем в группе больных раком кишечника эти различия статистически достоверные ($p < 0,05$). Таким образом, исследования свидетельствуют, что наличие мутантного Val-аллеля является фактором риска рака всех изученных нами локализаций.

В связи с тем, что в наших исследованиях для CYP1A1 были получены высокие показатели риска, большой интерес представляла оценка активности этого индуцибельного цитохрома. Мы использовали с этой целью теofilлин. Данное тестовое лекарство "делят" в качестве субстрата CYP1A1 и CYP1A2, причем основная доля продуктов метаболизма образуется с участием последней изоформы. Однако, поскольку зависимые от Ah-рецептора механизмы индуцибельности генов этих ферментов совпадают, скорость элиминации этого тестового лекарства адекватно отражает влияние среды на активность обеих изоформ. Обследованная группа из 44 жителей Маслянинского района (возраст от 47 до 79 лет, средний возраст 63 года, некурящие) характеризовалась высокой скоростью элиминации теofilлина: период полувыведения ($t_{1/2}$) = $7,8 \pm 8,6$ ч, общий клиренс (Cl_t) = $86,1 \pm 48,1$ мл/ч на 1 кг, пропорции быстрых ($t_{1/2} \leq 8$ ч), промежуточных ($8 < t_{1/2} \leq 12$ ч) и медленных метаболизеров ($t_{1/2} > 12$ ч) составляли 61,5, 12,8 и 25,6%. Согласно данным M. Butler et al., в европейских популяциях эти пропорции составляют 20 - 37, 51 - 67 и 12 - 13% [261]. Этот факт свидетельствует об индукции подсемейства CYP1A у жителей Маслянинского района. Высокое отношение у обследованных продуктов 1- и 3-N-деметилирования теofilлина (эти реакции осуществляют CYP1A1 и CYP1A2) к продукту C8-окисления, равное 1,4, подтверждает этот вывод. По данным литературы оно колеблется у некурящих от 0,66 до 1,14, составляя в среднем 0,85 [262, 263]. Таким образом, обследованное население по частоте встречаемости генетического маркера полиморфизма не отличается от европейских популяций, и в то же время отличается от них по метаболическому полиморфизму. Причиной этого различия является, наиболее вероятно, воздействие среды (ниже мы увидим, что и по полиморфизму GST, и по NAT2 различий с европейскими популяциями нет). И хотя мы не знаем конкретно, что это за фактор, мы видим, что его воздействие увеличивает долю лиц с риском развития онкопатологии, а это должно способствовать высокой заболеваемости.

В исследуемых группах методом полимеразной цепной реакции были выявлены и носители "нулевого" генотипа GSTM1. Наблюдаемая нами частота генотипа GSTM1(-) в группе пациентов с диагнозом рак легкого (50,6%) была выше, чем в контрольной группе (39,6%). Сравнение частот встречаемости генотипа GSTM1(-) у больных не старше 50 лет и старше 50, а также у курящих и некурящих показало, что значимость генотипа GSTM1(-) для развития рака легкого выше для некурящих больных, чем для курящих (OR равно 1,83 и 1,30, соответственно) и для больных старше 50 лет по сравнению с больными не старше 50 лет (OR равно 1,63 и 1,39, соответственно). У больных раком желудка и раком кишечника не было вы-

явлено существенных различий в распределении генотипов GSTM1 по сравнению с контролем.

Результаты нашей работы свидетельствуют, что носители делеции гена GSTM1 больше подвержены риску рака легкого, чем носители нормального генотипа GSTM1(+). Напротив, риск рака желудка и рака кишечника не связан, по нашим данным, с делецией гена GSTM1. Нам не удалось показать, что распределение генотипов GSTM1 у больных достоверно отличается от контрольного. В развитии онкопатологии, скорее всего, имеет значение баланс активностей различных глутатион S-трансфераз, поскольку они имеют перекрывающуюся субстратную специфичность, и некоторые из них полиморфны [230]. Поэтому, риск онкопатологии, связанный с нулевым генотипом GSTM1, может снижаться за счет активности других GST. Таким образом, исследование полиморфизма GST у больных требует комплексного подхода с привлечением фармакокинетической оценки глутатион S-трансферазной активности и генотипирования по разным локусам GST.

Как уже отмечалось выше, данные по распределению генотипов GSTM1 у онкобольных, полученные разными авторами, противоречивы. Шведские исследователи [231] показали, что частота "нулевого" генотипа существенно выше у пациентов с аденокарциномой (63%) и мелкоклеточной карциномой (72,6%) по сравнению со здоровыми людьми (52,9%), хотя, в целом, в группе больных раком легкого распределение генотипов не отличалось от контрольного. Несколько ниже, чем в контроле, частота GSTM1(-) была в группе больных плоскоклеточной карциномой (47,2%), тогда как японские исследователи связывают "нулевой" генотип с риском этого типа рака легкого [233, 235]. Отсутствие различий в распределении генотипов GSTM1 у больных раком легкого и здоровых людей обнаружил J. Brockmoller et al. [252].

Что касается рака других локализаций, частота GSTM1(-) была выше у пациентов с диагнозами карцинома печени [264], рак кишечника, желудка, [234, 242], мочевого пузыря [239]. Однако в работе T. Kato et al. не было получено различий в распределении генотипов GSTM1 у здоровых и больных раком желудка [256]. Не было также превышения частоты GSTM1(-) среди пациентов с диагнозом рак мочевого пузыря в работе S. Zhong et al. [248], в то время как M. Anwar et al. регистрировали почти 7-кратное увеличение риска рака мочевого пузыря для носителей этого генотипа [253].

Причина противоречий неясна. Очевидно, для оценки того или иного генотипа как фактора риска, необходимы также знания о спектре канцерогенов, воздействию которых подвергается население той или иной территории, а также условий жизни отдельных людей, входящих в исследуемые группы (вредность на производстве, курение, диета). В зависимости от природы химических соединений, входящих в состав загрязнителей конкретной территории, может меняться степень риска, связанная с геном и его продуктом. Более того, то, что являлось фактором риска в одних условиях, может стать фактором устойчивости в других.

История изучения взаимосвязи полиморфизма N-ацетилтрансферазы 2 с предрасположенностью к раку подтверждает это соображение. Так, медленные ацетиляторы, подвергающиеся воздействию ариламинов на производстве, имеют повышенный риск рака мочевого пузыря. Без такого воз-

действия связь фенотипа медленных ацетиляторов с раком мочевого пузыря не обнаруживается [224]. Высокий риск индуцируемого ариламинами рака мочевого пузыря у медленных ацетиляторов связывают с накоплением в моче неконъюгированных N-гидроксиметаболитов, образующихся с участием цитохрома P450, в то время как у быстрых ацетиляторов происходит их инактивация и выведение из организма. Однако фенотип быстрых ацетиляторов также может играть роль фактора риска развития рака. Так, у больных колоректальным раком частота встречаемости фенотипа быстрых ацетиляторов была существенно выше, по сравнению с контрольной группой, что связывают с участием NAT2 в активации некоторых компонентов пищи - гетероциклических аминов [220].

Мы провели фенотипирование по NAT2 больных с диагнозами рак легкого и рак желудка (см. табл. 4.5). Частота фенотипа медленных ацетиляторов в этих группах больных значительно выше (77,5 и 78,4%, соответственно), по сравнению с контрольной группой здоровых людей (46%). Отношение разниц составляет 4,04 для больных раком легкого и 4,26 для больных раком желудка. Иными словами, для людей с фенотипом медленных ацетиляторов риск этих онкозаболеваний выше, чем для быстрых ацетиляторов. Наибольшее значение (OR = 9,98) для развития рака легкого имеет фенотип медленного ацетилятора для некурящих больных.

Обращает на себя внимание тот факт, что некурящие носители мутаций исследуемых генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков подвергаются большему риску развития рака легкого по сравнению с некурящими носителями аллелей дикого типа. Для курящих больных значение мутантной аллели в развитии рака легкого не столь велико. Наши данные совпадают с результатами N. Drakoulis et al., который получил наибольшую частоту Вал-аллеля в группе некурящих больных бронхогенными карциномами [246]. Авторы предполагают, что некурящие носители Вал-аллеля подвергаются риску при низких дозах проканцерогенов, что может быть, например, результатом пассивного курения.

В целом, полученные нами результаты исследования полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков у онкобольных свидетельствуют о том, что свойства факторов риска проявляют: Вал-аллель CYP1A1 для рака всех изученных нами локализаций, статус медленного ацетилятора для рака легкого и рака желудка, а GSTM1(-) для рака легкого. Степень риска, связанная с изученными генами, зависит от возраста, фактора курения и, возможно, от комбинаций генотипов. Кроме ферментов биотрансформации, мы исследовали аргинин-пролиновый-полиморфизм белка онкосупрессора p53 [235] и выявили рисковую значимость аргининового аллеля для больных раком легкого до 50 лет. В этой группе больных наблюдалась наибольшая частота встречаемости Арг-аллеля (0,92, OR = 5,0, $p < 0,01$) [265]. Расчет риска, обусловленного комбинацией всех выявленных нами факторов предрасположенности (CYP1A1Вал/Вал, p53Арг/Арг, GSTM1(-) и "медленный" ацетилятор) показал, что у больных раком легкого она может встречаться почти в 100 раз чаще, чем среди здоровых людей. Это убеждает нас в том, что гено- и фенотипирование ферментов биотрансформации ксенобиотиков и онкосупрессора p53 пер-

спективно для оценки индивидуального риска возникновения рака. Существует необходимость исследования в качестве маркеров предрасположенности к раку других форм этих ферментов и онкогенов.

Содержание текущих работ по проблеме свидетельствует о том, что основными задачами исследований являются изучение рисковости открываемых новых вариантов полиморфизма генов, анализ взаимодействия генов в формировании индивидуальной предрасположенности к раку и эффекты индивидуальных генов в этом взаимодействии в разных условиях окружающей среды: значительно увеличилось число работ в последние 4 года, в сравнении с началом 90-х гг., посвященных поиску вариантов генетического полиморфизма ФБК и анализу взаимодействия генов в формировании предрасположенности к онкопатологии (аддитивность, синергизм, антагонизм).

Кроме тех видов полиморфных ФБК, которым мы выше уделили основное внимание, в зарубежной литературе, в связи с предрасположенностью к различным видам рака, анализируются еще и другие. К их числу, в частности, относится CYP2E1. Полиморфизм цитохрома P4502E1 также может быть важным в канцерогенезе человека, так как этот фермент активирует различные N-нитрозоамины и низкомолекулярные органические растворители и его активность значительно увеличивается под действием этанола, бензина и курения. Показана взаимосвязь между генотипом CYP2E1 (PstI и RsaI полиморфизм длины рестрикционных фрагментов), чувствительностью к мутагенам, курению и чувствительностью к возникновению рака легкого [266]. С Rsa 1-полиморфизмом CYP2E1 ассоциирован риск развития назофарингеальной карциномы у жителей Тайваня, причем он значительно выше у некурящих. Авторы объясняют этот факт тем, что основной вклад в метаболизм табак-специфичных нитрозаминов вносят CYP3A4 и CYP2A6 печени и предполагают, что для развития назофарингеальной карциномы большое значение имеют содержащиеся в пище нитрозамины и их предшественники [267].

Начаты исследования взаимосвязи с онкозаболеваниями недавно открытого полиморфизма гена CYP3A4. Показано, что аллельный вариант CYP3A4-V реже, чем дикий аллель, встречается в группе больных с лейкемией, обусловленной цитостатической терапией различных видов рака [268]. У больных с раком простаты этот аллель, наоборот, накапливается [186].

Глутатион S-трансферазы играют важную роль в защите ДНК от повреждений и образования аддуктов через конъюгацию глутатиона с электрофильными группами, особенно с липофильными соединениями. К настоящему времени известно 5 генных семейств GST [269], причем каждое семейство представлено несколькими генами. Показаны существенные межиндивидуальные различия в активности GST, которые могут быть связаны с риском заболевания раком. Одним из наиболее изученных в этом отношении ферментов является GSTM1. Около 50% популяции людей белой расы гомозиготы по гену, несущему делецию, что делает данный фермент неактивным (так называемый нулевой генотип) [270]; 10 - 20% людей белой расы имеют гомозиготную делецию гена GSTT1 [208]. "Нулевой генотип" как для GSTM1, так и GSTT1 связан с увеличением риска заболевания

различными формами рака. Делеция гена GSTT1 сопровождалась усилением обмена сестринских хроматид в лимфоцитах человека, индуцированного генотоксичным соединением 1,2-эпокси-3-бутеном [271]. Связь наличия у людей "нулевого генотипа" GSTM1 с повышенным риском заболевания раком легкого является предметом разногласий, так как более ранние работы по фенотипированию этого фермента показали такую взаимосвязь [272], а более поздние с анализом генного дефекта не подтвердили этого [273]. Делается предположение о том, что данные различия могут быть связаны с другими генами, кодирующими различные ферменты биотрансформации.

Глютатион S-трансфераза класса π у человека представлена одним ферментом, обозначенным как GST P1-1 [209]. Многочисленные исследования этого фермента показали, что он экспрессируется во многих тканях человека, включая эпителиальные ткани, легкие, пищевод. Более того, его переэкспрессия регистрируется в некоторых опухолевых и резистентных к лекарствам клетках [254]. Активность этого фермента может варьировать в пределах одного порядка. Полиморфные сайты были найдены в 5-м (I105-Val) и в 6-м экзоне (Ala114-Val) гена GSTP1 [274].

Варианты ферментов, различающихся по одной аминокислоте, обладают неодинаковой способностью метаболизировать различные химические соединения, включая канцерогены и фармакологические агенты. На этом основании было предположено, что GST π может определять индивидуальную степень риска онкологических заболеваний или же индивидуальную чувствительность к лекарствам. Однако обследование 131 пациента с колоректальным раком и 184 больных раком легкого не выявило какой-либо связи с полиморфизмом GSTP1 [275]. Наличие такой связи проверили для онкозаболеваний других органов. Z. Harris et al., обследуя больных раком мочевого пузыря и яичек, показали существенное увеличение частоты Val105 гомозигот у таких больных [276]. Авторы этих работ отмечают, что детальное исследование активности данного фермента позволит найти его взаимосвязь с риском возникновения онкологических заболеваний.

Позднее были проведены исследования по установлению взаимосвязи между активностью GST, измеренной по образованию конъюгата глютатиона с 1-хлоро-2,4-динитробензолом, и полиморфизмом 5-го и 6-го экзона гена GSTP1 у 34 хирургических больных [277]. Показано, что активность GST была существенно снижена у индивидуумов, имеющих аллель Val105, тогда как для другого полиморфного сайта Val114 активность не изменялась. Кроме этого, частота данных аллелей различалась для евроамериканцев, афро-американцев и тайваньцев. C. Mattias et al. проверили гипотезу о том, что полиморфный ген GSTP1 имеет отношение к возникновению сквамозно-клеточного рака гортани [278]. Был описан генотип GSTP1 для 380 больных и 180 здоровых пациентов. Было показано, что AA аллель (Val105 гомозигота) у раковых больных встречается с высокой частотой.

Описание полиморфизма NAT1 повлекло за собой серию работ по изучению взаимосвязи этого гена с онкозаболеваниями, причем зачастую в этих работах уточнялась роль гена NAT2. Так, C. Bouchardy et al. показали, что минимальный риск рака легкого наблюдается у гомозиготных носителей аллелей ускоренного метаболизма (NAT1*10 и *11). В сравнении с ни-

ми, для гетерозиготных носителей этих аллелей OR составило 4,0, для гомозиготных носителей аллелей нормального метаболизма (NAT1*4 и *3) - 6,4, а для гетерозиготных медленных ацетиляторов (аллели NAT1*14 и 15) - 11,7. Авторы не выявили достоверной ассоциации рака легкого и NAT2 [279]. Эти же гены исследовались в качестве факторов предрасположенности к сквамозно-клеточной карциноме ротовой полости у японцев. Результаты показали важную роль гена NAT1, но в отличие от предыдущего исследования, риск этого заболевания был связан с аллелем ускоренного метаболизма (NAT1*10) без существенных различий между курящими и некурящими [202]. Изучение взаимосвязи полиморфизма NAT1 и колоректального рака показало, что частоты встречаемости аллелей 4 и 15 не отличаются между контролем и группой больных. NAT1*14 встречается только в группе больных с частотой 0,006 [280]. Однако это только первые данные, которые требуют подтверждения дополнительными исследованиями.

Очень важную работу для понимания рисковости гена в зависимости от условий окружающей среды опубликовали F. Nyberg et al. [281]. Эта группа изучала взаимосвязь рака легкого и полиморфизма GSTM1 и NAT2 у курящих и некурящих и показала, что у некурящих риск заболевания связан, скорее, с GSTM1(+) (OR = 1,66), чем с нуль-генотипом GSTM1 (OR = 0,6) и повышен для медленных ацетиляторов (OR = 1,8). Комбинация этих признаков увеличивает риск: OR = 3,1. В группе курящих риск несколько возрастает для носителей нуль-генотипа GSTM1 (OR = 1,0), рисковую значимость приобретает генотип быстрого ацетилирования (OR = 1,66), связанный с ним риск растет с увеличением годовой дозы табака. Напомним, что эти данные совпадают с нашими результатами (см. табл. 4.5).

Микросомальная эпоксидгидролаза (мЭГ), обладая широкой субстратной специфичностью, катализирует превращение высокорепактивных и цитотоксичных ареноксидов и алифатических эпоксидов в менее токсичные *транс*-дигидродиолы [282]. Субстратами для этих ферментов являются эпоксиметаболиты, образующиеся в результате окислительных реакций 1-й фазы метаболизма ксенобиотиков. Эпоксидгидролаза участвует также в метаболизме стероидов. Биотрансформация, катализируемая мЭГ, является детоксификационной стадией в метаболизме многих ксенобиотиков. Однако в некоторых случаях этот фермент может включаться в процессы, ведущие, в конечном счете, к образованию реактивных метаболитов, как это показано для бенз[а]пирена. Микросомальная эпоксидгидролаза экспрессируется во многих тканях, в том числе печени, почках, семенниках и, в меньшей степени, в легких и лимфоцитах.

К настоящему времени показано существование генетического полиморфизма мЭГ у людей. Межиндивидуальные различия в активности фермента варьируют в 40-кратных пределах [283]. Клинические исследования продемонстрировали связь между низкой активностью мЭГ и различными патологиями, связанными с потреблением лекарств, а также с онкологическими заболеваниями. Так, ацетаминофен и фенитоин оказывают выраженный гепатотоксичный эффект у людей, обладающих низкой активностью

мЭГ [284]. Два варианта генетического полиморфизма микросомальной эпоксидгидролазы обнаружены у белой расы, один из них - замена Tyr113 → His в 3-м экзоне, другой - замена His139 → Arg в 4-м экзоне. Первый вариант связан с почти 40%-м уменьшением активности фермента, тогда как вторая замена сопровождается 20%-м увеличением активности. Индивидуумы, гомозиготные по 113His, широко представлены среди заболевших гепатоцеллюлярной карциномой китайцев [285]. Недавно были выявлены 7 полиморфных сайтов в промоторной области гена мЭГ и показано *in vitro*, что некоторые из них могут изменять активность транскрипции в пределах 30%. Это делает вероятным их вклад в различную активность этого фермента у людей [286].

Работы последних лет сосредоточены на изучении взаимосвязи комплекса ферментов биотрансформации ксенобиотиков с риском заболевания онкологическими патологиями. Так, комбинация варианта CYP1A1Val и гомозиготного варианта GST1*0 генотипа увеличивает риск заболевания раком легкого [233] и гепатоцеллюлярной карциномой у китайцев [266]. Недавно был оценен полиморфный статус CYP1A1, GSTM1, GSTM2 и микросомальной эпоксидгидролазы у народностей Зимбабве и Венды Южной Африки. Оказалось, что частота мутантных аллелей у черной расы отличается от белой, что интерпретируется авторами как основа различий в чувствительности к возникновению различных форм рака [287].

В целом, сумма работ по изучению связанной с полиморфными ФБК предрасположенности убеждает в существовании таковой в отношении онкологических заболеваний, для которых окружающая среда (включая антропогенное загрязнение, курение и пищу) является фактором риска. В зависимости от комбинаций полиморфных генетических признаков, предрасположенность меняется в большую или меньшую сторону. Наибольший риск развития заболеваний у предрасположенных индивидов (относительно тех, кто неотягощен такой предрасположенностью) отмечается в условиях слабого и умеренного патогенного воздействия среды. Усиление этого давления снижает значение генетической предрасположенности, и рост заболеваемости происходит за счет всех членов популяции.

Глава 5. ИНГИБИРОВАНИЕ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Хемопревенция - быстро развивающаяся область онкологии, связанная с ингибированием или замедлением канцерогенного процесса. К настоящему времени идентифицировано около 500 соединений, обладающих потенциальным хемопревентивным эффектом, состоящим либо в ингибировании инициации возникновения опухоли, либо ингибировании трансформации клетки. Многофакторная природа канцерогенного процесса дает возможность манипулировать им на определенных стадиях с применением различных агентов для его предотвращения или замедления. Этот процесс включает в себя метаболическую активацию проканцерогена в его ультимативную канцерогенную форму, детоксикацию мутагенных соединений.

Хорошо известно, что различные факторы, например, привычка к определенной диете, влияют на появление определенных типов рака. Так, потребление в пищу овощей из семейства крестоцветных заметно изменяет активность как цитохрома P450, так и ферментов 2-й фазы.

В экспериментах на мышах было показано, что такие соединения, как 7,8-бензофлавоон, 1-этинилпирен и полифенолы из зеленого чая ингибировали образование аддуктов бенз[а]пирена и 7,12-диметилбензантрацена с ДНК, снижая таким образом канцерогенный эффект этих соединений на кожу [288].

Существует комплекс взаимодействий между множественными факторами риска гепатоцеллюлярной карциномы на разных стадиях гепатоканцерогенеза. Было показано, что возраст и курение связаны с уровнем аддуктов афлатоксина В1 с ДНК. Синтетические антиоксиданты ингибировали образование таких аддуктов и, таким образом, снижали канцерогенное действие этого соединения [289]. Экспериментальные исследования показывают, что антиоксиданты, содержащиеся в пище, такие как витамины С и Е и некоторые каротиноиды, могут ингибировать химически индуцированный канцерогенез [290].

Результаты эпидемиологических исследований показывают, что 10 - 70% опухолей человека связаны с диетой. Пища, потребляемая человеком, может содержать такие канцерогены, как афлатоксин В1, нитрозоамины, ПАУ, гидразины и гетероциклические амины. В пище могут быть соединения, обладающие антираковой и антимуtagenной активностью: клетчатка, витамины, кумарины, алифатические сульфиды, ароматические изотиоцианаты, индолы и селен. В настоящее время в научной литературе ведется активная дискуссия о неоднозначности результатов, демонстрирующих хемопревентивный эффект этих соединений.

Так, в работе S. Barselo et al. показано, что сульфорапан - соединение, содержащееся в брокколи, - ингибирует активность цитохрома P4502E1, благодаря чему снижается генотоксичность соединений, активируемых этим ферментом [291]. Однако другие авторы показали, что это же соединение индуцирует другой цитохром P450 - CYP1A2, который, как известно, активирует полициклические углеводороды и гетероциклические амины [292]. Кроме этого, показано, что у крыс, кормленных брокколи, индуцируются такие P450, как 1A1, 1A2, 2B1, 2B2 и 2E1 [293]. И, наконец, в брокколи и других овощах семейства Brassica в больших количествах содержится индол-3-карбинол, промотор химического канцерогенеза и индуктор цитохрома P4501A2 [294].

Эксперименты с чистыми соединениями, изолированными из фруктов и овощей, показали уменьшение риска заболеть некоторыми формами рака, но мы не знаем точный механизм этого явления при экспозиции более, чем одним соединением. Так, индолы диеты, например, индол-3-карбинол, ингибировали образование спонтанных опухолей молочной железы и матки, но увеличивали частоту появления химически индуцированных опухолей печени, желудка. Этот факт указывает на то, что хемопревенция вызывается не одним фактором, а представляет результат влияния комбинации различных факторов, которые могут действовать синергически, аддитивно или антагонистически [295]. Для того, чтобы решить окончательно вопрос о возможности хемопревенции рака овощами и фруктами, необходимо, во-первых, описать все биологические активности вероятных антиканцерогенов, и, во-вторых, проанализировать эффекты смесей такого рода соединений.

Работы из лаборатории канцерогенеза Техасского университета (США) показали, что натуральные кумарины, включая императорин, изоримпеллин и фуранокумарин бергамотин из цитрусового масла, а также фууроизокумарин из листьев кориандра ингибировали этокси- и метокси-резорурфиндеэтилазные активности печени мышей [296] и цитохром P4501A в печени человека [297]. Их же более поздние исследования, выполненные на мышах, также подтвердили ингибирующее действие природных кумаринов как на образование аддуктов ПАУ с ДНК эпидермиса, так и возникновение опухолей кожи [269]. Авторами был сделан вывод о том, что в основе механизма снижения количества аддуктов и опухолей лежит ингибирование форм цитохрома P450, активирующих канцерогены.

Другими примерами соединений, обладающих противораковым эффектом, являются полифенолы, аскорбиновая кислота, каротиноиды и, особенно, токоферол. Все эти соединения антиоксиданты. К настоящему времени идентифицировано несколько сотен различных каротиноидов, около 50 соединений которых обладают активностью витамина А [298]. Молекулярно-биологические подходы с использованием биомаркеров на повреждение ДНК позволили внести ясность в понимание механизмов антираковой активности природных соединений. Факторы диеты могут уменьшать поток электрофильных интермедиатов или свободных радикалов, что, вероятно, и обеспечивает антиопухолевые эффекты природных соединений. Ежедневное потребление пищи, богатой каротиноидами, привело к снижению окси-

данных повреждений лимфоцитарной ДНК у взрослых некурящих мужчин [299].

Эксперименты, выполненные на лабораторных животных, показали защитный эффект каротиноидов в предотвращении рака. Согласно гипотезе R. Peto et al. [300] β -каротин может уменьшать степень риска заболеть раком, что следует из эпидемиологических исследований, показавших уменьшение этого риска для людей с высоким уровнем β -каротина в крови или потребляющих пищу, богатую этим каротиноидом. В то же время, многочисленные исследования, выполненные на экспериментальных животных, показали, что β -каротин, как и кантаксантин - каротиноид, не обладающий активностью провитамина А - могут ингибировать возникновение в разных тканях злокачественных опухолей, индуцированных химически или ультрафиолетовым излучением [301]. Более того, применение больших доз β -каротина не сопровождается какими-либо токсическими эффектами, что делает возможным его применение в качестве пищевой добавки [302]. Исходя из вышеизложенного, β -каротин рассматривается как реальный претендент для предотвращения рака, особенно рака легких. Несмотря на некоторые исключения, когда этот эффект не был выявлен, не остается сомнений о значительной роли этого каротиноида в хемопревенции рака. Несмотря на то, что каротиноиды являются антиоксидантами, обладающими активностью провитамина А, что, как полагают, обеспечивает их хемопревентивные свойства, точный механизм явления остается до конца неизвестным.

Известно, что каротиноиды усиливают межклеточные контакты [303], что может объяснить их действие в фазе промоции и прогрессии рака. Что касается стадии инициации рака, то показано антигенотоксичное действие каротиноидов как *in vitro*, так и *in vivo* [301]. Тем не менее, указанные выше факты полностью не раскрывают механизм действия этих соединений. Несмотря на тот факт, что модуляция путей метаболизма канцерогена является одним из наиболее важных путей, на которые можно воздействовать ингибиторами, действие каротиноидов на ферменты биотрансформации ксенобиотиков практически не исследовано. Только недавно было показано, что два апокаротиноида кантаксатин и астаксантин, не обладающие активностью провитамина А, а также провитамин А активный апо-8'-каротинал являются индукторами цитохрома P4501A1 и 1A2, а также 4-нитрофенолуридиндифосфоглюкуронозилтрансферазы в печени крыс [304]. В противоположность указанным каротиноидам β -каротин не оказывал эффекта на ферменты данной системы. Был исследован механизм действия данных соединений на появление индуцированных афлатоксином В1 фокусов в печени крыс. Было показано, что ингибирующее действие каротиноидов заключается в изменении путей метаболизма этого токсина через индукцию цитохрома P4501A, что сопровождалось сдвигом метаболизма в сторону детоксификационного пути [305].

Одним из претендентов на ингибирование канцерогенеза является чай. Хотя эпидемиологические исследования, касающиеся взаимосвязи потребления чая и возникновения рака, не были достаточно убедительными [306], ингибирующее действие чая было показано во многих экспериментах, вы-

полненных на животных и различных экспериментальных моделях, включая исследование рака легких, кожи, пищевода, печени и желудка [307].

Население США и стран Запада потребляют главным образом черный чай, который содержит теафлавины. Эти полифенолы образуются в результате окисления флавонолов чая, таких, как катехины и галлокатехины, в процессе приготовления чая для продажи (ферментация). При этом происходит значительное уменьшение (в несколько раз) характерных для зеленого чая флавонов: (-)-эпигаллокатехин галлат, (-)-эпигаллокатехин, (-)-эпикатехин галлат и (-)-эпикатехин. Обычно теафлавины чая составляют 1,5% водного экстракта из черного чая, 10 - 20% - рубигены, которые плохо изучены. Теафлавины обеспечивают характерный красноватый цвет и терпкость чая. Смесь чаевых флавонов, содержащая флавин-3-галлат, флавин-3'-галлат и флавин-3''-дигаллат, обладает антиоксидантной активностью, обеспечивая, таким образом, противоопухолевые эффекты [308].

Показано, что теафлавины ингибируют возникновение опухолей легких мышей, индуцированных 4-(метилнитрозо)-1-(3-пиридил)-1-бутанолом, канцерогенным компонентом сигаретного дыма [309]. Недавно G. Yang et al. показали, что черный чай ингибировал пролиферацию клеток кожи мышей, усиливал апоптоз как в доброкачественных, так и злокачественных опухолях кожи мышей [310]. Этими же авторами был проверен ингибирующий эффект полифенолов чая на пролиферацию раковых клеток человека. Предполагаемым механизмом действия этих соединений является продукция перекиси, что сопровождается индукцией апоптоза и, как следствие, гибелью раковых клеток [311]. Полифенольная фракция зеленого чая или ее компонент (-)-эпигаллокатехин-3-галлат ингибировали рост папилломы кожи у мышей, индуцированной ДМБА [312].

В настоящее время в качестве перспективных хемопреventивных агентов рассматриваются изотиоцианаты (ИТЦ), как синтетические, так и природного происхождения. Накапливающиеся экспериментальные данные выявили, что органические ИТЦ играют важную роль в модуляции активации и детоксикации канцерогенов. Арилалкильные ИТЦ - сильные ингибиторы активности цитохрома P450 мышей и крыс, а именно той формы фермента, которая ответственна за метаболическую активацию нитрозоаминов в алкилирующие метаболиты [313]. Ингибирование энзиматической активации нитрозоаминов табачного дыма уменьшает уровень метилирования ДНК и число неоплазм в легких и пищеводе мышей. Сульфوران, обнаруженный в брокколи, индуцирует такие ферменты 2-й фазы, как глутатион S-трансферазу и хинонредуктазу, усиливая, таким образом, детоксикацию канцерогенов [314]. Аналогичные эффекты обнаружены и для человека. Недавние исследования показали, что потребление в пищу овощей, богатых глюкозинолатами, предшественниками ИТЦ, приводит к увеличению активности GST [315], а потребление водного кресса, главного источника фенилтиоцианатов, подавляет развитие некоторых видов рака человека [316]. Эти данные хорошо согласуются с эпидемиологическими исследованиями, показавшими связь между потреблением овощей из семейства крестоцветных и уменьшением риска заболевания некоторыми формами рака [317]. В модельных экспериментах на мышах показано, что тиоловые конъюгаты ИТЦ ингибируют развитие опухоли легкого.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном обзоре обобщены литературные и собственные данные о роли ферментов биотрансформации ксенобиотиков в процессах химического канцерогенеза. Несмотря на то, что многоступенчатый процесс биотрансформации клетки от нормального фенотипа к злокачественному, остается до конца не изученным, не вызывает сомнения тот факт, что именно активированные формы многих генотоксичных канцерогенов повреждают гены-мишени. В пользу этого свидетельствуют многочисленные экспериментальные данные по ингибированию активирующих канцерогены ферментов, что сопровождается угнетением процессов канцерогенеза. Усиление детоксицирующей функции ферментов биотрансформации может также уменьшать канцерогенный эффект многих химических соединений. Важность этих фактов состоит в том, что возникает возможность разработки профилактических мер экологически обусловленных онкологических заболеваний, основанных на знании молекулярных механизмов метаболизма ксенобиотиков и инициации канцерогенеза. Усилия исследователей индивидуальной предрасположенности к раку, связанной с генетическим полиморфизмом ферментов биотрансформации ксенобиотиков, делают возможным выделение среди всего населения наиболее уязвимых групп. Профилактические воздействия в этих группах повышенного риска неизбежно приведут к снижению заболеваемости.

ЛИТЕРАТУРА

1. IARC. Cancer Causes. Occurrence and Control // Tomatis I. (Ed.) IARC Scientific Publications 100. - Lion, 1990.
2. Raunio H., Husgafvel-Pursiainen K., Anttila S. et al. Diagnosis of polymorphisms in carcinogens-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility - a review // *Gene*. - 1995. - Vol. 159. - P. 113-121.
3. Cook J.W., Hewitt C.L., Hieger I. The isolation of a cancer producing hydrocarbon from coal tar // *J. Chem. Soc.* - 1933. - P. 395-405.
4. Culp S.J., Gaylor D.W., Sheldon W.G. et al. A comparison of the tumors induced by coal tar and benzopyrene in a 2-year bioassay // *Carcinogenesis*. - 1998. - Vol. 19. - P. 117-124.
5. Clayton D.B. Chemical carcinogenesis. - Little Brown and Co, Boston, Massachusetts. - 1962.
6. Thakker D.R., Yagi H., Lehr R.E. et al. Metabolism of trans-9,10-dihydroxy-9,10-dihydrobenzopyrene occurs primarily by arylhydroxylation rather than formation of diol epoxide // *Mol. Pharmacol.* - 1978. - Vol. 14. - P. 502-513.
7. Boyland E. The biological significance of metabolism of polycyclic compounds // *Biochem. Soc. Symp.* - 1950. - Vol. 5. - P. 40-54.
8. Baird W.M., Dipple A., Grover P.L. et al. Studies on the formation of hydrocarbon-deoxyribonucleoside products by the binding of derivatives of 7-methylbenzanthracene to DNA in aqueous solution and in mouse embryo cells in culture // *Cancer Res.* - 1973. - Vol. 33. - P. 2386-2392.
9. Borgen A., Darvey H., Castagnoli N. et al. Metabolic conversion of benzopyrene by Syrian hamster liver microsomes and binding of metabolites to deoxyribonucleic acid // *J. Med. Chem.* - 1973. - Vol. 16. - P. 502-506.
10. Pelkonen O., Nebert D.W. Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: ethiological role in carcinogenesis // *Pharmacol. Rev.* - 1982. - Vol. 34. - P. 189-222.
11. Slaga T.J., Gleason G.L., Mills G. et al. Comparison of the skin tumor-initiating activities of dihydrodiols and diol-epoxides of various polycyclic aromatic hydrocarbons // *Cancer Res.* - 1980. - Vol. 40. - P. 1081-1084.
12. Okey A.B., Riddick D.S., Harper P.A. Molecular biology of the aromatic hydrocarbon (dioxin) receptor // *Trends Pharmacol. Sci.* - 1994. - Vol. 15. - P. 226-232.
13. Nebert D.W., Jensen N.W. The Ah locus: genetic regulation of the metabolism of carcinogens, drugs and other environmental chemicals by cytochrome P450 mediated monooxygenases // *CRC Crit. Rev. Biochem.* - 1979. - Vol. 6. - P. 401-437.
14. Brauze D., Wielgosz S.M., Pawlak A.L. et al. Effect of the route of benzopyrene administration on sister chromatid exchange and DNA binding in bone marrow of mice differing with respect to cytochrome P450 1A1 induction // *Toxicol. Lett.* - 1997. - Vol. 91. - P. 211-217.

15. Kim J.H., Stansbury K.H., Walker N.J. et al. Metabolism of benzo[a]pyrene-7,8-diol by human cytochrome P450 1B1 // *Carcinogenesis*. - 1998. - Vol. 19. - P. 1847-1853.
16. Phillips D.H., Hewer A., Seidel A. et al. Relationship between mutagenicity and DNA adduct formation in mammalian cells for fjord- and bay-region diol-epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons // *Chem.-Biol. Interact.* - 1991. - Vol. 80. - P. 177-186.
17. Prahald A.K., Ross J.A., Nelson G.B. et al. Dibenzo, lpyrene-induced DNA adduction, tumorigenicity, and Ki-ras oncogene mutations in strain A/J mouse lung // *Carcinogenesis*. - 1997. - Vol. 18. - P. 1955-1963.
18. Ioannides C., Parker D.V. The cytochrome P450 1 gene family of microsomal hemoproteins and their role in the metabolic activation of chemicals // *Drug Metab. Rev.* - 1990. - Vol. 22. - P. 1-85.
19. Gautier J.C., Lecoeur S., Cosme J. et al. Contribution of human cytochrome P450 to benzo[a]pyrene and benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol metabolism, as predicted from heterologous expression in yeast // *Pharmacogenetics*. - 1996. - Vol. 6. - P. 489-499.
20. Doll R., Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today // *J. Natl. Cancer Inst.* - 1989. - Vol. 66. - P. 1191-1308.
21. Wakabayaashi K., Nagao M., Esumi H. et al. Food-derived mutagens and carcinogens // *Cancer Res.* - 1992. - Vol. 52. (Suppl. 7). - P. 2092-2098.
22. Ito N.R., Hasegawa R., Sano S. et al. A new colon and mammary carcinogen in cooked food 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo-4,5-bpyridine (PhIP) // *Carcinogenesis*. - 1991. - Vol. 12. - P. 1503-1506.
23. Esumi H., Ohgaki H., Kohzen E. et al. Induction of CDF1 mice by the food mutagen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo-4,5-b-pyridine // *Jpn. J. Cancer Res.* - 1989. - Vol. 80. - P. 1176-1178.
24. Thompson G.H., Wu R.W., Felton J.S. Introduction of cytochrome P4501A2 metabolic capability into cell lines genetically matched for DNA repair proficiency/deficiency // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1991. - Vol. 88. - P. 3827-3831.
25. Minchin F.F. N- and O-acetylation of aromatic and heterocyclic amine carcinogens by human monomorphic and polymorphic acetyltransferases expressed in COS-1 cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1992. - Vol. 185. - P. 839-844.
26. Welfare M.R., Cooper J., Bassendine M.F. et al. Relationship between acetylator status, smoking, diet and colorectal cancer risk in the north-east of England // *Carcinogenesis*. - 1997. - Vol. 18. - P. 1351-1354.
27. Crofts F.G., Strickland P.T., Hayes C.L. et al. Metabolism of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo-4,5-bpyridine (PhIP) by human cytochrome P4501B1 // *Ibid.* - P. 1793-1798.
28. Wu R.W., Wu E.M., Thompson L.H. et al. Identification of a point mutation induced in repair-deficient and P450-expressing CHO cells by the food-related mutagen/carcinogen, PhIP // *Ibid.* - 1995. - Vol. 16. - P. 1207-1213.
29. Chen C.-J., Wu H.-Y., Chuang Y.-C. Epidemiologic characteristics and multiple risk factors of lung cancer in Taiwan // *Anticancer Res.* - 1990. - Vol. 10. - P. 971-976.
30. Yang C.-C., Jenq S.N., Lee H. Characterization of the carcinogen 2-amino-3,8-dimethylimidazo-4,5-fquinoxaline in cooking aerosols under domestic conditions // *Carcinogenesis*. - 1998. - Vol. 19. - P. 359-363.
31. Harris C.C. Hepatocellular carcinogenesis: recent advances and speculation // *Cancer Cells*. - 1990. - Vol. 2. - P. 148-156.
32. Ross R.K., Yuan J.-M., Yu M.C. et al. Urinary aflatoxin biomarkers and risk of hepatocellular carcinoma // *Lancet*. - 1992. - Vol. 339. - P. 943-946.

33. Aguilar F., Hussain S.P., Cerutti P. Aflatoxin B1 induces the transversion of GT in codon 249 of the p53 tumor suppressor gene // *Cancer Res.* - 1994. - Vol. 54. - P. 1934-1938.

34. Crespi C.L., Penman B.W., Steimel D.T. et al. The development of human cell line stably expressing human CYP3A4: role in the metabolic activation of aflatoxin B1 and comparison to CYP1A2 and CYP2A3 // *Carcinogenesis.* - 1991. - Vol. 12. - P. 355-359.

35. Essigmann J.M., Croy R.J., Nadzan A.M. et al. Structural identification of the major DNA adduct formed by aflatoxin B1 in vitro // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1977. - Vol. 74. - P. 1870-1874.

36. Yin H., Licad-Coles E., He K. et al. Structure activity relationship studies of aflatoxin B1 metabolism by human hepatic CYP3A4 // *FASEB J.* - 1997. - Vol. 11. - A796. - P. 146.

37. Gallagher E.P., Kunze K.L., Stapleton P.L. et al. The kinetics of aflatoxin B1 oxidation by human cDNA-expressed and human liver microsomal cytochromes P4501A2 and 3F4 // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1996. - Vol. 141. - P. 595-606.

38. Mace K., Aguilar F., Wang J.-S. et al. Aflatoxin B1-induced DNA adduct formation and p53 mutations in CYP450-expressing human liver cell lines // *Carcinogenesis.* - 1997. - Vol. 18. - P. 1291-1297.

39. Porter T.D., Coon M.J. Cytochromes P450 // *J. Biol. Chem.* - 1991. - Vol. 266. - P. 13469-13472.

40. Guengerich F.P. Roles of cytochrome P450 enzymes in chemical carcinogenesis and cancer chemotherapy // *Cancer Res.* - 1988. - Vol. 48. - P. 2946-2954.

41. Parke D.V., Ioannides C., Lewis D.F.V. The role of cytochromes P450 in the detoxication and activation of drugs and other chemicals // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* - 1991. - Vol. 69. - P. 537-549.

42. Magee P.N., Barnes J.M. The production of malignant primary hepatic tumours in the rat by feeding dimethylnitrosoamine // *Br. J. Cancer.* - 1958. - Vol. 10. - P. 114-122.

43. Lijinsky W., Loo J., Ross A.E. Mechanism of alkylation of nucleic acids by nitrosomethylamine // *Nature.* - 1968. - Vol. 218. - P. 1174-1175.

44. Wrighton S.A., Thomas P.E., Molowa D.T. et al. Characterization of ethanol-inducible human liver N-nitrosodimethylamine demethylase // *Biochemistry.* - 1986. - Vol. 25. - P. 6731-6735.

45. Shu L., Hollenberg P.E. Role of cytochrome P450 in DNA damage induced by N-nitrosodialkylamines in cultured rat hepatocytes // *Carcinogenesis.* - 1996. - Vol. 17. - P. 569-576.

46. Smith T.J., Guo Z., Guengerich F.P. et al. Metabolism of 4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) by human CYP1A2 and its inhibition by phenethyl isothiocyanate // *Ibid.* - P. 809-813.

47. Crespi C.L., Penman B.W., Gelboin H.V. et al. A tobacco smoke-derived nitrosamine, 4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, is activated by multiple human cytochromes P450s including the polymorphic human cytochrome P4502D6 // *Ibid.* - 1991. - Vol. 7. - P. 1197-1201.

48. Kato S., Bowman E.Z., Guengerich F.P. et al. Metabolism of 4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) by human CYP1A2 and its inhibition by phenethyl isothiocyanate // *Ibid.* - 1996. - Vol. 17. - P. 809-813.

49. Caporaso N., Hayes R.B., Dosemeci M. et al. Lung cancer risk, occupational exposure and debrisoquine metabolic phenotype // *Cancer Res.* - 1989. - Vol. 49. - P. 3675-3679.

50. Hecht S.S., Hoffmann D. Tobacco-specific nitrosoamines, an important group of carcinogens in tobacco and tobacco smoke // *Carcinogenesis.* - 1988. - Vol. 9. - P. 875-884.

51. Murphy S.E., Heiblum R., Trushin N. Comparative metabolism of N'-nitrosornornicotine and 4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone by cultured rat oral tissue and esophagus // *Cancer Res.* - 1990. - Vol. 50. - P. 4685-4691.
52. Patten C.J., Smith T.J., Friesen M.J. et al. Evidence for cytochrome P450 2A6 and 3A4 as major catalysts for N'-nitrosornornicotine -hydroxylation by human liver microsomes // *Carcinogenesis.* - 1997. - Vol. 18. - P. 1623-1630.
53. Radomski J.L. The primary aromatic amines: their biological properties and structure-activity relationships // *Annu. Rev. Pharmacol.* - 1979. - Vol. 19. - P. 129-157.
54. Kadlubar F.F., Hammons G.J. The role of cytochrome P450 in the metabolism of chemical carcinogens // Guengerich F.P. (ed.), *Mammalian Cytochromes P450.* CRC Press. Boca Raton, Fl. - 1987. - Vol. 2. - P. 81-130.
55. Bryant M.S., Skipper P.S., Tannenbaum S.R. et al. Hemoglobin adducts of 4-aminobiphenyl in smokers // *Cancer Res.* - 1987. - Vol. 47. - P. 602-608.
56. Chou H.C., Lang N.P., Kadlubar F.F. Metabolic activation of the N-hydroxy derivative of the carcinogen 4-aminobiphenyl by human tissue sulfotransferases // *Carcinogenesis.* - 1995. - Vol. 16. - P. 413-417.
57. Kadlubar F.F., Dooley K.L., Teitel C.H. et al. Frequency of urination and its effects on metabolism, pharmacokinetics, blood hemoglobin adduct formation, and liver and urinary bladder DNA adduct levels in beagle dogs given the carcinogen 4-aminobiphenyl // *Cancer Res.* - 1991. - Vol. 51. - P. 4371-4377.
58. Pacifici G.M., Franchi M., Bencini C. et al. Tissue distribution of drug-metabolizing enzymes in humans // *Xenobiotica.* - 1988. - Vol. 18. - P. 849-856.
59. Anderson R.J., Jackson B.L., Liebentritt D.K. Human platelet thermostable phenol sulfotransferase from blacks and whites: biochemical properties and variations in thermal stability // *J. Lab. Clin. Med.* - 1988. - Vol. 112. - P. 773-783.
60. Chou H.-C., Lang N.H., Liebentritt D.K. Metabolic activation of N-hydroxyarylamines and N-hydroxyheterocyclic amines by human liver sulfotransferase // *Proc. An. Assoc. Cancer Res.* - 1991. - Vol. 32. - P. 773-783.
61. Miller E.C., Miller J.A., Hartmann H. N-hydroxy-2-acetylaminofluorene with increased carcinogenic activity in the rat // *Cancer Res.* - 1961. - Vol. 21. - P. 815-824.
62. Beland F.A., Kadlubar F.F. Metabolic activation and DNA adducts of aromatic amines and nitroaromatic hydrocarbons // Cooper C.S. and Glover P.L. (eds), *Handbook of Experimental Pharmacology, Carcinogenesis and Mutagenesis.* - 1990. - P. 267-325.
63. Anderson K.E., Hammons G.J., Kadlubar F.F. et al. Metabolic activation of aromatic amines by human pancreas // *Carcinogenesis.* - 1997. - Vol. 18. - P. 1085-1092.
64. Degawa M., Kanazawa C., Hashimoto Y. In vitro metabolism of o-aminoazotoluene and mutagenesis of Salmonella by the metabolites // *Ibid.* - 1982. - Vol. 3. - P. 1113-1117.
65. Levine W.G. Metabolism of azo dyes: Implication for detoxication and activation // *Drug Metab. Rev.* - 1991. - Vol. 23. - P. 253-309.
66. Walker R. The metabolism of azo compounds, a review of the literature // *Food Cosmet. Toxicol.* - 1970. - Vol. 8. - P. 659-676.
67. Kimura T., Kodawa M., Nagata C. et al. Comparative study on the metabolism of N-methyl-4-aminoazobenzene by two forms of cytochrome P448 // *Biochem. Pharmacol.* - 1985. - Vol. 34. - P. 3375-3377.
68. Cheung Y.-L., Puddicombe S.M., Gray T.J.B. et al. Mutagenicity and CYP1A induction by azobenzenes correlates with their carcinogenicity // *Carcinogenesis.* - 1994. - Vol. 15. - P. 1257-1263.
69. Singer B., Essigmann J.M. Site-specific mutagenesis: retrospective and prospective // *Ibid.* - 1991. - Vol. 12. - P. 949-955.

70. Foster P.L., Eisenstadt E., Miller J.H. Base substitution mutations induced by metabolically activated AFB1 // Proc. Natl. Acad. USA. - 1983. - Vol. 80. - P. 2695-2698.
71. Burnouf D., Koehl P., Fuchs R.P.P. Single adduct mutagenesis: strong effect of the position of a single acetylaminofluorene adduct within a mutation hot spot // Proc. Natl. Acad. USA. - 1989. - Vol. 86. - P. 4147-4151.
72. Routledge M.N., Wink D.A., Keefer L.K. et al. DNA sequence changes induced by two nitric oxide donor drugs in the supF assay // Chem. Res. Toxicol. - 1994. - Vol. 7. - P. 628-632.
73. Perera F.P. The significance of DNA and protein adducts in human biomonitoring studies // Mutat. Res. - 1988. - Vol. 205. - P. 255-269.
74. Segerback D. Alkylation of DNA and haemoglobin in the mouse following exposure to ethene and ethene oxide // Chem.-Biol. Interact. - 1983. - Vol. 45. - P. 139-151.
75. Lutz W.K. In vivo covalent binding of organic chemicals to DNA as a quantitative indicator in the process of chemical carcinogenesis // Mutat. Res. - 1979. - Vol. 65. - P. 289-356.
76. Hemminki K., Forsti A., Mustonen R. et al. DNA adducts in experimental cancer research // J. Cancer. Res. Clin. Oncol. - 1985. - Vol. 112. - P. 181-188.
77. Swenberg J.A., Richardson F.C., Boucheron J.A. et al. Relationships between DNA adduct formation and carcinogenesis // Environ. Health Perspect. - 1985. - Vol. 62. - P. 177-183.
78. Wogan G.N., Gorelick N.J. Chemical and biochemical dosimetry of exposure to genotoxic chemicals // Ibid. - P. 5-18.
79. Poirier M., Beland F.A. DNA adduct measurements in tumour incidence during chronic carcinogen exposure in animal models: implications for DNA adduct-based human cancer risk assessment // Chem. Res. Toxicol. - 1992. - Vol. 5. - P. 749-755.
80. Shu-Xin Qu, Neil H.S. Formation and persistence of DNA adducts in different target tissues of rats after multiple administration of benzopyrene // Carcinogenesis. - 1996. - Vol. 17. - P. 53-59.
81. Kulescz-Martin M.F., Penetrante R., East C.J. Benign and malignant tumor stages in a mouse keratinocyte line treated with 7,12-dimethylbenzoanthracene *in vitro* // Ibid. - 1988. - Vol. 9. - P. 171-174.
82. Davis M., Malcolm S., Rabbits T.H. Chromosome translocation can occur on either side of the c-myc oncogene in Burkitt lymphoma cells // Nature. - 1984. - Vol. 308. - P. 286-288.
83. Latham G.J., Zhou L. et al. The replication fate of R- and S-styrene oxide adducts on adenine N6 is dependent on both chirality of the lesion and the local sequence context // J. Biol. Chem. - 1993. - Vol. 268. - P. 23427-23434.
84. Lowy D.R., Willumsen B.M. Function and regulation of ras // Annu. Rev. Biochem. - 1993. - Vol. 62. - P. 851-891.
85. Beer D.G., Schwarz M., Pitot H.C. Expression of H-ras and c-myc protooncogenes in isolated γ -glutamyltranspeptidase-positive rat hepatocytes and in hepatocellular carcinomas induced by diethylnitrosamine // Cancer Res. - 1986. - Vol. 46. - P. 2435-2441.
86. Bral C.M., Ramos K.S. Identification of benzopyrene-inducible Cis-acting elements within c-Ha-ras transcriptional regulatory sequences // Am. Soc. Pharmacol. Exp. Ther. - 1997. - Vol. 52. - P. 974-982.
87. Weinstein I.B. Growth factors, oncogenes and multistage carcinogenesis // J. Cell. Biochem. - 1987. - Vol. 33. - P. 213-224.
88. Land H., Parada L.F., Weinberg R.A. Cellular oncogenes and multistep carcinogenesis // Science. - 1983. - Vol. 222. - P. 771-778.
89. Beer D.G., Neveau M.J., Paul D.L. et al. Expression of the c-raf protooncogene, γ -glutamyltranspeptidase, and gap junction protein in rat liver neoplasms // Cancer Res. - 1988. - Vol. 48. - P. 1610-1617.

90. Jenke H.-S., Michel G., Hornhard S et al. Protooncogene expression in rat liver by polychlorinated biphenyls (PCB) // *Xenobiotica*. - 1991. - Vol. 21. - P. 945-960.
91. Jenke H.-S., Deml E., Oesterle D. C-raf expression in early rat liver tumorigenesis after promotion with polychlorinated biphenyls of phenobarbital // *Ibid.* - 1994. - Vol. 24. - P. 569-580.
92. Galloway D.A., McDougal J.K. Human papillomaviruses and carcinomas // *Adv. Virus Res.* - 1989. - Vol. 37. - P. 125-171.
93. Maden C., Beckman A.M., Thomas D.V. et al. Human papillomaviruses, herpes simplex viruses, and the risk of oral cancer in men // *Am. J. Epidemiol.* - 1992. - Vol. 135. - P. 1093-1102.
94. Hurlin P.J., Kaur P., Perez-Reyes N. et al. Progression of human papillomavirus type 18-immortalized human keratinocytes to a malignant phenotype // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1991. - Vol. 8. - P. 570-574.
95. Farin F.M., Bigler L.C., Oda D. et al. Expression of cytochrome P450 and microsomal epoxide hydrolase in cervical and oral epithelial cells immortalized by human papillomavirus type 16 E6/E7 genes // *Carcinogenesis*. - 1995. - Vol. 16. - P. 1391-1401.
96. Sasson I.M., Haley M.J., Hoffman D. Cigarette smoking and neoplasia of the uterine cervix: smoke constituents in cervical mucous // *New Eng. J. Med.* - 1985. - Vol. 312. - P. 315-319.
97. Garret L.R., Perez-Reyes N., Smith P.P. et al. Interaction of HPV-18 and nitromethylurea in the induction of squamous cell carcinoma // *Carcinogenesis*. - 1993. - Vol. 14. - P. 329-332.
98. Rous P., Friedewald W.F. The effect of chemical carcinogens of virus induced rabbit papillomas // *J. Exp. Med.* - 1994. - Vol. 79. - P. 511-516.
99. Каледин В.И., Серова И.А., Семенова Л.А. Неодинаковая предрасположенность к развитию спонтанных и индуцированных опухолей печени у мышей разных линий и их гибридов // *Эксперим. онкология*. - 1990. - Т. 12. - С. 28-30.
100. Miller J.A., Miller E.C. Carcinogenic aminoazodyes // *Adv. Cancer Res.* - 1953. - Vol. 1. - P. 339-353.
101. Miller J.A. Carcinogenesis by chemicals. An overview - CHA Glowes memorial lecture // *Cancer Res.* - 1970. - Vol. 60. - P. 559-576.
102. Bock K.V., Lilienblum W., Gosta F. et al. The role of conjugation reactions in detoxication // *Arch. Toxicol.* - 1987. - Vol. 60. - P. 22-29.
103. Nebert D.W. The Ah locus: genetic differences in toxicity, cancer, mutation and birth defects // *CRC Crit. Rev. Toxicol.* - 1989. - Vol. 20. - P. 153-174.
104. Weber W.W., Hein D.W. N-acetylation pharmacogenetics // *Pharmacol. Rev.* - 1985. - Vol. 37. - P. 25-79.
105. Weber W.W. Acetylation pharmacogenetics: experimental models for human toxicity // *Fed. Proc.* - 1984. - Vol. 43. - P. 2332-2337.
106. Fennel T.R., Wiseman R.W., Miller J.A. et al. Major role of hepatic sulfotransferase activity in metabolic activation, DNA adduct formation, and carcinogenicity of 1'-hydroxy-2',3'-dehydroestragole in infant male C57Bl/6Jx C3H/HeJ F1 mice // *Cancer Res.* - 1985. - Vol. 45. - P. 5310-5320.
107. Boberg E.W., Miller E.C., Miller J.A. et al. Strong evidence from studies with brachymorphic mice and pentachlorophenol that 1'-sulfooxysafrole is the major ultimate electrophilic and carcinogenic metabolite of 1'-hydroxysafrole in mouse liver // *Ibid.* - 1983. - Vol. 43. - P. 5163-5173.
108. Каледин В.И., Гуляева Л.Ф., Ильницкая Н.А. и др. За нарушение глюкокортикоидной индукции тирозинаминотрансферазы в печени ответственны активированные метаболиты гепатокарциногенов // *Докл. АН.* - 1997. - Т. 357. - С. 126-129.
109. Shimada T., Gillam M.J., Sandhu P. et al. Activation of procarcinogens by human cytochrome P450 enzymes expressed in *Escherichia coli*. Simplified bacterial systems for genotoxicity assays // *Carcinogenesis*. - 1994. - Vol. 15. - P. 2523-2529.

110. Ly J., Yokoi T., Kamataki T. Evaluation of human fetus-specific cytochrome P450A7 expressed in transgenic mice: its role in carcinogenesis and drug metabolism // 12th Symposium on Microsomes and Drug Oxidations. Montpellier 20-24 July 1998. - S. 1-3.
111. Travis J. Scoring a technical knockout in mice // *Science*. - 1992. - Vol. 256. - P. 1392-1394.
112. Smithies O. Animal models of human genetic diseases // *Trends Genet.* - 1993. - Vol. 9. - P. 112-116.
113. Fernandez-Salguero P.M., Gonzalez F.J. Targeted disruption of specific cytochromes P450 and xenobiotic receptor genes // *Methods Enzymol.* - 1996. - Vol. 272. - P. 412-430.
114. Liang H.C., Li H., McKinnon R.A. et al. CYP1A2(-/-) null mutant mice develop normally but show deficient drug metabolism // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1996. - Vol. 93. - P. 1671-1676.
115. Tonge R.P., Kelly E.J., Bruschi S.A. et al. Role of CYP1A2 in the hepatotoxicity of acetaminophen: investigations using Cyp1a2 null mice // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1998. - Vol. 153. - P. 102-108.
116. Zahers H., Buters J.T., Ward J.M. et al. Protection against acetaminophen toxicity in CYP1A2 and CYP2E1 double-null mice // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1998. - Vol. 152. - P. 193 - 199.
117. Henderson A.K., Smith A.G., Ure J. et al. Increased skin tumorigenesis in mice lacking pi class glutathione S-transferases // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1998. - Vol. 95. - P. 5275-5280.
118. Gonzalez F., Lee Y.-H., Sauer B. Conditional gene targeting to study transcription factors and xenobiotic-metabolizing enzymes // 12th Symposium on Microsomes and Drug Oxidations. Montpellier 20-24 July 1998. - P. L1-1.
119. Waxman D.J., Park S.J., Ram P.A. JAK kinase, STAT transcription factors, and growth hormone (GH) regulation of sex-dependent liver P450 gene expression // 17th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology. San Francisco. August 24-29, 1997. - A779. - P. 50.
120. Smithies O., Maeda N. Gene targeting approaches to complex genetic diseases. Atherosclerosis and essential hypertension // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1995. - Vol. 92. - P. 5266-5272.
121. Parkinson A. Species differences in Cytochrome P450 function // *ISSX Proc.* - 1993. - Vol. 4. - P. 23.
122. Kocarek T.A. Species differences in cytochrome P450 regulation // *Ibid.* - P. 25.
123. Prueksaritanont T., Gorham L.M., Hochman J.H. et al. Comparative studies of drug-metabolizing enzymes in dog, monkey, and human small intestines, and in Caco-2 cells // *Drug Metab. Dispos.* - 1996. - Vol. 24. - P.634-642.
124. Guengerich F.P. Catalytic selectivity of human cytochrome P450 enzymes: relevance to drug metabolism and toxicity // *Toxicol. Lett.* - 1994. - Vol. 70. - P. 133-138.
125. Pelkonen O., Rautio A., Raunio H. Specificity and applicability of probes for drug metabolizing enzymes / Ed. by G. Alvan et al. // *European Commission. COST B1 conference on variability and specificity in drug metabolism.* - Brussels, 1995. - P. 147-157.
126. Shepard D.L., Krecic M.E., Chang T.-H. Metabolism of phenytoin by human cytochrome P450s and 2C18 expressed in yeast // *ISSX Proc.* - 1995. - Vol. 8. - P. 95.
127. Ingelman-Sundberg M., Oscarson M., Persson I. et al. Genetic polymorphism of human drug metabolizing enzymes. Recent aspects on polymorphic forms of cytochromes P450 / Ed. by G. Alvan // *European Commission. European cooperation in the field of scientific and technical research. COST B1 conference on variability and specificity in drug metabolism.* - Brussels, 1995. - P. 93-110.

128. Rahman M., Wright J.T., Douglas J.G. The role of the cytochrome P450-dependent metabolites of arachidonic acid in blood pressure regulation and renal function: a review // *Am. J. Hypertens.* - 1997. - Vol. 10. - P. 356-365.
129. Powell P.K., Wolf I., Jin R. et al. Metabolism of arachidonic acid to 20-hydroxy-5,8,11, 14-eicosatetraenoic acid by P450 enzymes in human liver: involvement of CYP4F2 and CYP4A11 // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 1998. - Vol. 285. - P. 1327-1336.
130. Luo G., Zeldin D.C., Blaisdell J.A. Cloning and expression of murine CYP2C_s and their ability to metabolize arachidonic acid // *Arch. Biochem. Biophys.* - 1998. - Vol. 357. - P. 45-57.
131. Amet Y., Berthou F., Fournier G. et al. Cytochrome P4504A and 2E1 expression in human kidney microsomes // *Biochem. Pharmacol.* - 1997. - Vol. 53. - P. 765-771.
132. Rintala S., Tammela T.L., Tuimala R. CYP1A1 activity in renal cell carcinoma and in adjacent normal renal tissue // *Urol. Res.* - 1998. - Vol. 26. - P. 117-121.
133. Fu G.K., Portale A.A., Miller W.L. Complete structure of the human gene for the vitamin D 1 α -hydroxylase, P450c1 α // *DNA Cell Biol.* - 1997. - Vol. 16. - P. 1499-1507.
134. Spink D.C., Spink B.C., Cao J.Q. et al. Induction of cytochrome P4501B1 and catechol estrogen metabolism in ACHN human renal adenocarcinoma cells // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* - 1997. - Vol. 62. - P. 223-232.
135. Haehner B.D., Gorski J.C., Vandenbranden M. et al. Bimodal distribution of renal cytochrome P4503A activity in humans // *Mol. Pharmacol.* - 1996. - Vol. 50. - P. 52-59.
136. Thier R., Wiebel F.A., Hinkel A. et al. Species differences in the glutathione transferase GSTT1-1 activity towards the model substrates methyl chloride and dichloromethane in liver and kidney // *Arch. Toxicol.* - 1998. - Vol. 72. - P. 622-629.
137. Rodilla V., Benzie A.A., Veitch J.M. et al. Glutathione S-transferases in human renal cortex and neoplastic tissue: enzymatic activity, isoenzyme profile and immunohistochemical localization // *Xenobiotica.* - 1998. - Vol. 28. - P. 443-456.
138. McKay J.A., Weaver R.J., Murray G.I. et al. Localization of microsomal epoxide hydrolase in normal and neoplastic human kidney // *J. Histochem. Cytochem.* - 1995. - Vol. 43. - P. 615-620.
139. Gervasi P.G., Longo V., Naldi F. et al. Xenobiotic-metabolizing enzymes in human respiratory nasal mucosa // *Biochem. Pharmacol.* - 1991. - Vol. 41. - P. 177-184.
140. Thornton-Manning J.R., Nikula K.J., Hotchkiss J.A. et al. Nasal cytochrome P4502A: identification, regional localization, and metabolic activity toward hexamethylphosphoramide, a known nasal carcinogen // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1997. - Vol. 142. - P. 22-30.
141. Krishna N.S., Getchell T.V., Dhooper N. Age- and gender-related trends in the expression of glutathione S-transferases in human nasal mucosa // *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* - 1995. - Vol. 104. - P. 812-822.
142. Tsuchida T., Hruban R.H., Carson B.S. et al. Colloid cysts of the third ventricle: immunohistochemical evidence for nonneuroepithelial differentiation // *Hum. Pathol.* - 1992. - Vol. 23. - P. 811-816.
143. Wheeler C.W., Guenther T.M. Cytochrome P450-dependent metabolism of xenobiotic in human lung // *J. Biochem. Toxicol.* - 1991. - Vol. 6. - P. 163-169.
144. Raunio H., Pasanen M., Maenpaa J. et al. Expression of extrahepatic cytochrome P450 in humans // Pacifici G.M., Fracchia G.N. (eds.) *Advances in drug metabolism in man.* European Commission. Office for official publications of European Communities. Luxembourg, 1995. - P. 234-287.

145. Mace K., Bowman E.D., Vautravers P. et al. Characterisation of xenobiotic-metabolising enzyme expression in human bronchial mucosa and peripheral lung tissues // *Europ. J. Cancer.* - 1998. - Vol. 34. - P. 914-920.
146. Hukkanen J., Hakkola J., Anttila S. et al. Detection of mRNA encoding xenobiotic-metabolizing cytochromes P450s in human bronchoalveolar macrophages and peripheral blood lymphocytes // *Molecular Carcinogenesis.* - 1997. - Vol. 20. - P. 224-230.
147. Shimada T., Yamazaki H., Mimura M. Characterization of microsomal cytochromes P450 enzymes involved in the oxidation of xenobiotic chemicals in human fetal livers and adult lungs // *Drug Metab. Dispos.* - 1996. - Vol. 25. - P. 515-522.
148. Anttila S., Hukkanen J., Hakkola J. Expression and localization of CYP3A4 and CYP3A5 in human lung // *Amer. J. Respir. Cell Mol. Biol.* - 1997. - Vol. 16. - P. 242-249.
149. Zhou L.H., Filstrom B., Hardwick J.P. et al. Metabolism of phenytoin by gingiva of normal human: the possible role of reactive metabolites of phenytoin in the initiation of gingival hyperplasia // *Clin. Pharmacol. Ther.* - 1996. - Vol. 60. - P. 191-198.
150. Nakajima T., Wang R.S., Nimura Y. et al. Expression of cytochrome P450s and glutathione S-transferases in human esophagus with squamous-cell carcinomas // *Carcinogenesis.* - 1996. - Vol. 17. - P. 1477-1481.
151. Peters W.H., Wobbes T., Roelofs H.M. et al. Glutathione S-transferases in esophageal cancer // *Ibid.* - 1993. - Vol. 14. - P. 1377-1380.
152. Waziers de I., Cugnenc P.H., Yang C.S. et al. Cytochrome P450 isoenzymes, epoxide hydrolase and glutathione transferases in rat and human hepatic and extrahepatic tissues // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 1990. - Vol. 253. - P. 387-394.
153. Leclercq I., Desager J.P., Vandenplas C. et al. Fast determination of low-level cytochrome P4501A1 activity by high-performance liquid chromatography with fluorescence or visible absorbance detection // *J. Chromatography.* - 1996. - Vol. 681. - P. 227-232.
154. Kivisto K.T., Bookjans G., Fromm R.F. et al. Expression of CYP3A4, CYP3A5 and CYP3A7 in human duodenal tissue // *Br. J. Clin. Pharmacol.* - 1996. - Vol. 42. - P. 387-389.
155. Hickman D., Pope J., Patil S.D. et al. Expression of arylamine N-acetyltransferase in human intestine // *Gut.* - 1998. - Vol. 42. - P. 402-409.
156. Yun C.H., Park H.J., Kim S.J. et al. Identification of cytochrome P4501A1 in human brain // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1998. - Vol. 24. - P. 808-810.
157. McFayden M.C., Melvin W.T., Murray G.I. Regional distribution of individual forms of cytochrome P450 mRNA in normal adult human brain // *Biochem. Pharmacol.* - 1998. - Vol. 55. - P. 825-830.
158. Zwain I.H., Yen S.S. Dehydroepiandrosterone: biosynthesis and metabolism in the brain // *Endocrinology.* - 1999. - Vol. 140. - P. 880-887.
159. Hiroi T., Imaoka S., Funae Y. Dopamine formation from tyramine by CYP2D6 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1998. - Vol. 249. - P. 838-843.
160. Agundez J.A., Gallardo L., Martinez C. et al. Modulation of CYP1A2 enzyme activity by indoleamines: inhibition by serotonin and tryptamine // *Pharmacogenetics.* - 1998. - Vol. 8. - P. 251-258.
161. Rieder C.R., Ramsden D.B., Williams A.C. Cytochrome P4501B1 mRNA in the human central nervous system // *Mol. Pathol.* - 1998. - Vol. 51. - P. 138-142.
162. Ravindranath V. Metabolism of xenobiotics in the central nervous system: implications and challenges // *Biochem. Pharmacol.* - 1998. - Vol. 56. - P. 547-551.
163. Coon S.L., Mazuruk K., Bernard M. et al. The human serotonin N-acetyltransferase (EC 2.3.1.87) gene (AANAT): structure, chromosomal localization, and tissue expression // *Genomics.* - 1996. - Vol. 34. - P. 76-84.

164. Li X., Borjigin J., Snyder S.H. Molecular rhythms in the pineal gland // *Curr. Opin. Neurobiol.* - 1998. - Vol. 8. - P. 648-651.
165. Lovell M.A., Xie C., Markesbery W.R. Decreased glutathione transferase activity in brain and ventricular fluid in Alzheimer's disease // *Neurology.* - 1998. - Vol. 51. - P. 1562-1566
166. Lieshout van E.M., Knapen M.F., Lange W.P. et al. Localization of glutathione S-transferases alpha and pi in human embryonic tissues at 8 weeks gestational age // *Hum. Reprod.* - 1998. - Vol. 13. - P. 1380-1386.
167. Baez S., Segura-Aguilar J., Widersten M. et al. Glutathione transferases catalyse the detoxication of oxidized metabolites (o-quinones) of catecholamines and may serve as an antioxidant system preventing degenerative cellular processes // *Biochem. J.* - 1997. - Vol. 324. - P. 25-28.
168. Huan Z., Fasco M.J., Figge H.L. Expression of cytochromes P450 in human breast tissue and tumors // *Drug Metab. Dispos.* - 1996. - Vol. 24. - P. 899-905.
169. Williams J.A., Stone E.M., Millar B.C. et al. Determination of the enzymes responsible for activation of the heterocyclic amine 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in the human breast // *Pharmacogenetics.* - 1998. - Vol. 8. - P. 519-528.
170. Hellmold H., Rylander T., Magnusson M. et al. Characterization of cytochrome P450 enzymes in human breast tissue from reduction mammoplasties // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* - 1998. - Vol. 83. - P. 886-895.
171. Alpert L.C., Schecter R.L., Berry D.A. Relation of glutathione S-transferase alpha and mu isoforms to response to therapy in human breast cancer // *Clin. Cancer Res.* - 1997. - Vol. 3. - P. 661-667.
172. Sadrieh N., Davis C.D., Snyderwine E.G. N-acetyltransferase expression and metabolic activation of the food-derived heterocyclic amines in the human mammary gland // *Cancer Res.* - 1996. - Vol. 56. - P. 2683-2687.
173. Lafuente A., Giralt M., Cervello I., et al. Glutathione-S-transferase activity in human superficial transitional cell carcinoma of the bladder. Comparison with healthy controls // *Cancer.* - 1990. - Vol. 65. - P. 2064-2068.
174. McQuaid S., O'Brien A., Butler M.R. et al. Transcriptional activation of the glutathione S-transferase pi gene in human ureteric and bladder carcinomas // *Cancer Lett.* - 1988. - Vol. 39. - P. 209-216.
175. Moscow J.A., Fairchild C.R., Madden M.J. et al. Expression of anionic glutathione-S-transferase and P-glycoprotein genes in human tissues and tumors // *Cancer Res.* - 1989. - Vol. 49. - P. 1422-1428.
176. Berendsen C.L., Peters W.H., Scheffer P.G. et al. Glutathione S-transferase activity and subunit composition in transitional cell cancer and mucosa of the human bladder // *Urology.* - 1997. - Vol. 49. - P. 644-651.
177. Cosma G.N., Toniolo P., Currie D. et al. Expression of CYP1A1 gene in peripheral lymphocytes as a marker of exposure in railroad workers // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* - 1992. - Vol. 1. - P. 137-142.
178. Heuvel Vanden J.P., Clark J.C., Thompson C.I. et al. CYP1A1 mRNA levels as a human exposure marker: use of quantitative polymerase chain reaction to measure CYP1A1 expression in human peripheral blood lymphocytes // *Carcinogenesis.* - 1993. - Vol. 14. - P. 2003-2006.
179. Rumsby P.C., Yardly-Jones A., Anderson D. et al. Detection of CYP1A1 mRNA levels and CYP1A1 Msp 1 polymorphisms as possible biomarkers of exposure and susceptibility in smokers and non-smokers // *Teratog. Carcinog. Mutagen.* - 1996. - Vol. 16. - P. 65-74.
180. Hakkala J., Pasanen M., Pelkonen O. et al. Expression of CYP1B1 in human adult and fetal tissues and differential inducibility of CYP1B1 and CYP1A1 by Ah receptor ligands in human placenta and cultured cells // *Carcinogenesis.* - 1997. - Vol. 18. - P. 391-397.

181. Shimada T., Hayes C.L., Yamazaki H. et al. Activation of chemically diverse carcinogens by human cytochrome P4501B1 // *Cancer Res.* - 1996. - Vol. 56. - P. 2979-2984.
182. Pelkonen O., Raunio H. Metabolic activation of toxins: tissue-specific expression and metabolism in target organs // *Environ. Health Perspect.* - 1997. - Vol. 105. - Suppl. 4. - P. 767-774.
183. Conney A.H., Miller E.C., Miller J.A. Substituted-induced synthesis and others properties of benzpyrene hydroxylase in rat liver // *J. Biol. Chem.* - 1957. - Vol. 228. - P. 753-766.
184. Poland A.P., Glover E., Robinson J.R., Nebert D.W. Genetic expression of aryl hydrocarbon hydroxylase activity, induction of monooxygenase activities and cytochrome P450 formation by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in mice genetically "non-responsive" to others aromatic hydrocarbons // *Ibid.* - 1973. - Vol. 249. - P. 5599-5606.
185. Whitlock J.P.Jr., Okino S.T., Dong Z. et al. Induction of cytochrome P4501A1 a model for analyzing mammalian gene transcription // *FASEB J.* - 1996. - Vol. 10. - P. 809-818.
186. Prough R.A. Introduction: Bazal and inducible expression of cytochromes P450 and related enzymes // *Ibid.* - P. 819.
187. Гуляева Л.Ф., Гришанова А.Ю., Громова О.А. и др. Микросомная монооксигеназная система живых организмов в биомониторинге окружающей среды / ГПНТБ СО РАН. - Новосибирск, 1994. - 100 с. (Сер. Экология. Вып. 32).
188. Safe S. Polychlorinated biphenils (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs): Biochemistry, toxicology and mechanisms of action // *CRC Crit. Rev. Toxicol.* - 1984. - Vol. 13. - P. 319-395.
189. Lubet R.A., Nims R.W., Beebe L.E. et al. Induction of hepatic CYP1A1 activity as a biomarker for environmental exposure to Aroclor-1254 in feral rodents // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* - 1992. - Vol. 22. - P. 339-344.
190. Denlinger C.L., Stryker K.K., Slusher B. S., Vesell E.S. Studies on theophylline metabolism: Autoinduction and inhibition by antipyrine // *Clin. Pharmacol. Ther.* - 1987. - Vol. 41. - P. 522-530.
191. McDonnell W.M., Scheiman J.M., Traber P.G. Induction of cytochrome P4501A genes (CYP1A) by omeprazole in the human alimentary tract // *Gastroenterology.* - 1992. - Vol. 103. - P. 1509-1516.
192. Ohnhaus E.E., Park B.K. Measurement of urinary 6-beta-hydroxycortisol excretion as an vivo parameter in the clinical assessment of microosomal enzyme-inducing capacity of antipyrine, phenobarbitone and rifampicin // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* - 1979. - Vol. 15. - P. 139-145.
193. Zhou H.H., Anthony L.B., Wood J.J., Wilkinson G.R. Induction of polymorphic 4'-hydroxylation of S-mephenytoin by rifampicin // *Br. J. Clin. Pharmacol.* - 1990. - Vol. 30. - P. 471-478.
194. Dannan G.A., Guengerich F.P., Kaminsky L.S., Aust S.D. Regulation of cytochrome P450. Immunochemical quantitation of eight isozymes in liver microsomes of rats treated with polybrominated biphenyl congeners // *J. Biol. Chem.* - 1983. - Vol. 258. - P. 1282-1288.
195. Pichard L., Fabre I., Domergue J. et al. Cyclosporin A drug interactions: Screening for inducers and inhibitors of cytochrome P450 (Cyclosporin A oxidase) in primary culture of human hepatocytes and in liver microsomes // *Drug Metab. Dispos.* - 1990. - Vol. 18. - P. 595-606.
196. Pichet L., Fabre I., Daujat M. et al. Effect of corticosteroids on expression of cytochromes P450 and on cyclosporin A oxidase activity in primary culture of human hepatocytes // *Mol. Pharmacol.* - 1992. - Vol. 41. - P. 1047-1055.

197. Isseman I., Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators // *Nature*. - London, 1990. - Vol. 347. - P. 645-650.
198. Свeрдлов Е.Д. Очерки современной молекулярной генетики // Молекуляр. генетика, микробиология и вирусология. - 1995. - № 2. - С. 3-15.
199. Rebbeck T.R., Jaffe J.M., Walker A.H. et al. Modification of clinical presentation of prostate tumors by a novel genetic variant in CYP3A4 // *J. Natl. Cancer Inst.* - 1998. - Vol. 90. - P. 1225-1229.
200. Daly K., Fairbrother K.S., Smart J. Recent advances in understanding the molecular basis of polymorphisms in genes encoding cytochrome P450 enzymes // *Toxicol. Lett.* - 1998. - Vol. 102-103. - P. 143-147.
201. Kawajiri K., Nakachi K., Imai K. et al. Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P4501A1 gene // *FEBS Lett.* - 1990. - Vol. 263. - P. 131-133.
202. Kawajiri K., Watanabe J., Eguchi H. et al. Polymorphism of human Ah receptor gene are not involved in lung cancer // *Pharmacogenetics*. - 1995. - Vol. 5. - P. 151-158.
203. Crofts F., Cosma G.N., Currie D. et al. A novel CYP1A1 gene polymorphism in African-Americans // *Carcinogenesis*. - 1993. - Vol. 14. - P. 1729-1731.
204. Bailey J.R., Rudi N., Parl F.F. Association of cytochrome P4501B1 (CYP1B1) polymorphism with steroid receptor status in breast cancer // *Cancer Res.* - 1998. - Vol. 58. - P. 5038-5041.
205. Goldstein J.A. et al. Evidence that CYP2C19 is the major (S)-mephenytoin 4'-hydroxylase in humans // *Biochemistry*. - 1994. - Vol. 33, N 7. - P. 1743-1752.
206. De Morais S.M.F., Wilkinson G.R., Blaisdell J. et al. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans // *J. Biol. Chem.* - 1994. - Vol. 269. - P. 15419-15422.
207. Blaisdell J., Meyer U., Benhamou S. et al. Identification of new human CYP2C19 alleles in a caucasian poor metaboliser of mephenytoin // *ISSX Proc.* - 1997. - Vol. 12. - P. 62.
208. De Morais S.M.F., Wilkinson G.R., Blaisdell J. et al. Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin hydroxylase in Japanese // *Mol. Pharmacol.* - 1994. - Vol 46. - P. 594-598.
209. Ibeanu G.C., Blaisdell J., Ghanayem B.I. et al. An additional defective allele, CYP2C19*5, contributes to the S-mephenytoin poor metabolizer phenotype in Caucasians // *Pharmacogenetics*. - 1998. - Vol. 8. - P. 129-135.
210. Daly A.K., Eichelbaum M., Idle J.R. et al. Progress on CYP2D6 allele nomenclature / Ed. by G. Alvan et al. // *European Commission. COST B1 conference on variability and specificity in drug metabolism*. - Brussels, 1995. - P. 137-144.
211. Uematsu F., Kikuchi H., Motomiya M. et al. Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P4501E1 gene and susceptibility to lung cancer // *Jpn. J. Cancer. Res.* - 1991. - Vol. 82. - P. 254-256.
212. Hayashi S.I., Watanabe J., Kawajiri K. Genetic polymorphism in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P4501E1 gene // *J. Biochem.* - 1991. - Vol. 110. - P. 559-565.
213. Kato S., Shields P.G., Caporaso N.E. et al. Cytochrome P4501E1 genetic polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk // *Cancer Res.* - 1992. - Vol. 52. - P. 6712-6715.
214. Shows T.B. et al. Guidelines for human gene nomenclature // *Cytogenet. Cell Genet.* - 1987. - Vol. 46. - P. 11-28.
215. Katoh T., Kaneko S., Boissy R. et al. A pilot study testing the association between N-acetyltransferases 1 and 2 and risk of oral squamous cell carcinoma in Japanese people // *Carcinogenesis*. - 1998. - Vol. 19. - P. 1803-1807.

216. Payton M.A., Sim E. Genotyping human arylamine N-acetyltransferase type 1 (NAT1): the identification of two novel allelic variants // *Biochem. Pharmacol.* - 1998. - Vol. 55. - P. 361-366.
217. Butcher N.J., Ilett K.F., Minchin R.F. Functional polymorphism of the human arylamine N-acetyltransferase type 1 gene caused by C190T and G560A mutations // *Pharmacogenetics.* - 1998. - Vol. 8. - P. 67-72.
218. Крынецкий Е.Ю. Полиморфизм ферментов, участвующих в метаболизме лекарственных средств: структура генов и ферментативная активность // *Молекуляр. биология.* - 1996. - Т. 30. - С. 33-42.
219. De Jong J.L., Chang C.M., Whang-Peng J. et al. The human liver glutathione S-transferase gene superfamily: Expression and chromosome mapping of an H_b subunit cDNA // *Nucleic Acids Res.* - 1988. - Vol. 16. - P. 8541-8554.
220. Seidegard J., Vorachek W.R., Pero R.W., Person W.R. Hereditary differences in the expression of human glutathione transferase on *trans*-stilbene activity are to a due gene deletion // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1988. - Vol. 85. - P. 7293-7297.
221. Inskip A., Elexperu-Camiruaga J., Buxton N. et al. Identification of polymorphism at the glutathione S-transferase, GSTM3 locus: evidence for linkage with GSTM1*A // *Biochem. J.* - 1995. - Vol. 312 (Pt 3). - P. 713-716.
222. Pemble S., Schroeder K.R., Spencer S.R. et al. Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of genetic polymorphism // *Ibid.* - 1994. - Vol. 300 (Pt. 1). - P. 271-276.
223. Ali-Osman F., Akande O., Antoun G. et al. Molecular cloning, characterization and expression in *Escherichia coli* of full length cDNAs of three human glutathione S-transferase pi gene variants // *J. Biol. Chem.* - 1997. - Vol. 272. - P. 10004-10012.
224. Lo H.W., Ali-Osman F. Genomic cloning of hGSTP1*C, an allelic human Pi class glutathione S-transferase gene variant and functional characterization of its retinoic acid response elements // *Ibid.* - P. 32743-32749.
225. Hassett C., Aicher L., Sidhu L.A., Omiecinski C.J. Human microsomal epoxide hydrolase: genetic polymorphism and functional expression in vitro of amino acids variants // *Human Mol. Genet.* - 1994. - Vol. 3. - P. 421-428.
226. Ozawa S., Tang Y.M., Yamazoe Y. et al. Genetic polymorphisms in human liver phenol sulfotransferases involved in the bioactivation of N-hydroxy derivatives of carcinogenic arylamines and heterocyclic amines // *Chem. Biol. Interact.* - 1998. - Vol. 109. - P. 237-248.
227. Wood T.C., Her C., Aksoy I. et al. Human dehydroepiandrosterone sulfotransferase pharmacogenetics: quantitative Western analysis and gene sequence polymorphisms // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* - 1996. - Vol. 59. - P. 467-478.
228. Perera F.P. Uncovering new clues to cancer risk // *Scientific American.* - 1996. - May. - P. 54-62.
229. Venitt S. Mechanisms of carcinogenesis and individual susceptibility to cancer // *Clin. Chem.* - 1994. - Vol. 40. - P. 1421-1425.
230. Knudson A.G., Jr. Hereditary cancer, oncogenes, and antioncogenes // *Cancer Res.* - 1985. - Vol. 45. - P. 1437-1443.
231. Alexandrov K., Rojas M., Geneste O. et al. An improved fluorometric assay for dosimetry of benzo(a)pyrene diol-epoxide-DNA adducts in smokers' lung: comparisons with total bulky adducts and aryl hydrocarbon hydroxylase activity // *Ibid.* - 1992. - Vol. 52. - P. 6248-6253.
232. Mooney L.A., Bell D.A., Santella R.M. et al. Contribution of genetic and nutritional factors to DNA damage in heavy smokers // *Carcinogenesis.* - 1997. - Vol. 18. - P. 503-509.
233. Bartsch H., Hietanen E. The role of individual susceptibility in cancer burden related to environmental exposure // *Environ. Health. Perspect.* - 1996. - Vol. 104. Suppl. 3. - P. 569-577.

234. Kawajiri K., Eguchi H., Nakachi K. et al. Association of CYP1A1 germ line polymorphisms with mutations of the p53 gene // *Cancer Res.* - 1996. - Vol. 56. - P. 72-76.
235. Landi M.T., Zocchetti C., Bernucci I. et al. Cytochrome P4501A2: enzyme induction and genetic control in determining 4-aminobiphenyl-hemoglobin adduct levels. // *Cancer. Epidemiol. Biomarkers Prev.* - 1996. - Vol. 5. - P. 693-698.
236. Makarananda K., Pengpan U., Srisakulthong M. et al. Monitoring of aflatoxin exposure by biomarkers // *J. Toxicol. Sci.* - 1998. - Vol. 23. - Suppl. 2. - P. 155-1599.
237. Hein D.W. Acetylator genotype and arylamine induced carcinogenesis // *Biochim. Biophys. Acta.* - 1988. - Vol. 948. - P. 37-66.
238. Kellerman G., Shaw C.R., Luyten-Kellerman M. Aryl hydrocarbon hydroxylase inducibility and bronchogenic carcinoma // *N. Eng. J. Med.* - 1973. - Vol. 289. - P. 934-937.
239. Watkins P.B. Noninvasive tests of CYP3A enzymes // *Pharmacogenetics.* - 1994. - Vol. 4. - P. 171-184.
240. Pearce N. What does the odds ratio estimate in a case-control study? // *Int. J. Epidemiol.* - 1993. - Vol. 22. - P. 1189-1192.
241. Broly F., Gaedigk A., Heim M. et al. Debrisoquine/sparteine hydroxylation genotype and phenotype: analysis of common mutations and alleles of CYP2D6 in a European population // *DNA Cell Biol.* - 1991. - Vol. 10. - P. 545-558.
242. Hayashi S., Watanabe J., Nakachi K., Kawajiri K. Genetic linkage of lung cancer-associated MspI-polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P4501A1 gene // *J. Biochem.* - 1991. - Vol. 110. - P. 407-411.
243. Raunio H., Pelkonen O. // Ioannides C. (Ed.) *Drugs, Diet and Disease.* - Ellis Horwood Ltd, N.Y., 1995. - P. 229-258.
244. Kawajiri K., Nakachi K., Imai K. et al. The CYP1A1 gene and cancer susceptibility // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* - 1993. - Vol. 14. - P. 77-87.
245. Alexandria A.-K., Ingelman Sundberg M., Seidegard J. et al. Genetic susceptibility to lung cancer with special emphasis on CYP1A1 and GSTM1: a study of host factors in relation to age at onset, gender and histological cancer types // *Carcinogenesis.* - 1994. - N. 9. - P. 1785-1790.
246. Drakoulis N., Cascorbi I., Brockmoller J. et al. Polymorphisms in the human CYP1A1 gene as susceptibility factors for lung cancer: exon-7 mutation (4889 A to G), and a T to C mutatuion in the 3'-flanking region // *Clin. Investig.* - 1994. - Vol. 72. - P. 240-248.
247. Hayashi S., Watanabe J., Kawajiri K. High susceptibility to lung cancer analysed in terms of combined genotypes of P4501A1 and Mu-class glutathione S-transferase genes // *Jpn. J. Cancer Res.* - 1992. - Vol. 83. - P. 866-870.
248. Zhong S., Wyllie A.H., Barnes D. et al. Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer // *Carcinogenesis.* - 1993. - Vol. 14. - P. 1821-1824.
249. Nakachi K., Imai K., Hayashi S., Kawajiri K. Polymorphisms of CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population // *Cancer Res.* - 1993. - Vol. 53. - P. 2994-2999.
250. Hirvonen A., Husgafvel-Pursiainen K., Anttila S., Vainio H. The GSTM1 null genotype as a potential risk modifier for squamous cell carcinoma of the lung // *Carcinogenesis.* - 1993. - Vol. 14. - P. 1479-1481.
251. Nazar-Stewart V., Motulsky A.G., Eaton D.L. et al. The glutathione S-transferase class μ polymorphism as a marker for susceptibility to lung carcinoma // *Cancer Res.* - 1993. - Vol. 53. - P. 2313-2318.

252. Brockmoller J., Kerb R., Drakoulis N. et al. Genotype and phenotype of glutathione S-transferase class μ and ψ in lung cancer patient and controls // *Ibid.* - P. 1004-1011.

253. Anwar M., Abdel-Rahman S.Z., El-Zein R.A. et al. Genetic polymorphism of GSTM1, CYP2E1 and CYP2D6 in Egyptian bladder cancer patients // *Carcinogenesis.* - 1996. - Vol. 17. - P. 1923-1929.

254. Brockmoller J., Cascorbi I., Kerb R., Roots I. Combined analysis of inherited polymorphisms in arylamine N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferases M1 and T1, microsomal epoxide hydrolase, and cytochrome P450 enzymes as modulators of bladder cancer risk // *Cancer Res.* - 1996. - Vol. 56. - P. 3915-3925.

255. Kato S., Onda M., Matsukura N. et al. Genetic polymorphisms of the cancer related gene and Helicobacter pylori infections in Japanese gastric cancer patients. An age and gender matched case-control study // *Cancer.* - 1996. - Vol. 77. - P. 1654-1661.

256. Kato T., Nagata N., Kuroda Y. et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) genetic polymorphism and susceptibility to gastric and colorectal carcinoma // *Carcinogenesis.* - 1996. - Vol. 17. - P. 1855-1859.

257. Kawajiri K., Nakachi K., Imai K. et al. Germ line polymorphisms of p53 and CYP1A1 genes involved in human lung cancer // *Ibid.* - 1993. - Vol. 14. - P. 1085-1089.

258. Колядо В.Б., Уланов А.Н., Лотош Е.А. и др. Анализ динамики состояния здоровья населения Алтайского края и пяти модельных сельских районов (Тальменского, Третьяковского, Угловского, Локтевского, Алтайского) в связи с ростом экологической нагрузки на территории: Препринт № 8 / СО РАМН, Ин-т комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний. - Новосибирск, 1991. - 132 с.

259. Perera F.P. Environment and cancer: Who are susceptible? // *Science.* - 1997. - Vol. 278. - P. 1068-1073.

260. Nakachi K., Imai K., Hayashi S. et al. Genetic susceptibility to squamous cell carcinoma in relation to cigarette smoking dose // *Cancer Res.* - 1991. - Vol. 51. - P. 5177-5180.

261. Butler M.A., Lang N.P., Young J.F. et al. Determination of CYP1A2 and NAT2 phenotypes in human populations by analysis of caffeine urinary metabolites // *Pharmacogenetics.* - 1992. - Vol. 2. - P. 116-127.

262. St-Pierre M.V. et al. Temporal variation in the disposition of theophylline and its metabolites // *Clin. Pharmacol. Ther.* - 1985. - Vol. 38. - P. 89-95.

263. Gardner W.J., Jusko M.J. Effects of oral contraceptives and tobacco use on metabolic pathways of theophylline // *Int. J. Pharmaceutics.* - 1986. - Vol. 33. - P. 55-64.

264. Harada S., Abei M., Tanaka N. et al. Liver glutathione S-transferase polymorphism in Japanese and its pharmacogenetic importance // *Hum. Genet.* - 1987. - Vol. 75. - P. 322-325.

265. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Гуткина Н.И. и др. Гены и ферменты метаболизма ксенобиотиков в онкопатологии // *Вопр. мед. химии.* - 1997. - Вып. 5. - С. 330-338.

266. Wu X., Shi H., Jiang H. et al. Association between cytochrome P450E1 genotype, mutagen sensitivity, cigarette smoking and susceptibility to lung cancer // *Carcinogenesis.* - 1997. - Vol. 18. - P. 967-973.

267. Hildesheim A., Anderson L.M., Chen C.-J. et al. CYP2E1 polymorphisms and risk of nasopharyngeal carcinoma in Taiwan // *J. Natl. Cancer Inst.* - 1997. - Vol. 89. - P. 1207-1212.

268. Felix C.A., Walker A.H., Lange B.J. et al. Association of CYP3A4 genotype with treatment-related leukemia // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1998. - Vol. 95. - P. 13176-13181.

269. Hayes J.D., Pulford D.J. The glutathione S-transferase supergene family: Regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* - 1995. - Vol. 30. - P. 445-500.
270. Zhong S., Forbes Howie A., Ketterer B. et al. Glutathione S-transferase mu locus: use of genotyping and phenotyping assays to assess association with lung cancer susceptibility // *Carcinogenesis.* - 1991. - Vol. 12. - P. 1533-1537.
271. Bernardini S., Hirvonen A., Pelin K., Norppa H. Induction of sister chromatid exchange by 1,2-epoxy-3-butene in cultured human lymphocytes: influence of GSTT1 genotype // *Ibid.* - 1998. - Vol. 19. - P. 377-380.
272. McWilliams J.E., Sanderson B.J.S., Harris E.L. et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) deficiency and lung cancer risk // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* - 1995. - Vol. 4. - P. 589-594.
273. To-Figueras J., Gene M., Gomez-Catalan J. et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) polymorphisms and lung cancer risk among Northwestern Mediterraneans // *Carcinogenesis.* - 1997. - Vol. 18. - P. 1529-1533.
274. Board P.G., Weber G.C., Coggan M. Isolation of a cDNA clone and localization of the human glutathione S-transferase 3 genes to chromosome bands 11q13 and 12q13-14 // *Ann. Hum. Genet.* - 1989. - Vol. 53. - P. 205-213.
275. Harris M.J., Coggan M., Langton L. et al. Polymorphism of the Pi class glutathione S-transferase in normal populations and cancer prevention // *Pharmacogenetics.* - 1998. - Vol. 8. - P. 27-31.
276. Harris L.W., Stubbins M.J., Forman D. et al. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer // *Carcinogenesis.* - 1997. - Vol. 18. - P. 641-644.
277. Watson M.A., Stewart R.K., Smith G.B.J. et al. Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution // *Ibid.* - 1998. - Vol. 19. - P. 275-280.
278. Mattias C., Bockmul U., Jahnke V. et al. The glutathione S-transferase P1 polymorphism: effect on susceptibility to oral/pharyngeal and laryngeal carcinomas // *Pharmacogenetics.* - 1998. - Vol. 8. - P. 1-6.
279. Bouchardy C., Mitrunen K., Wikman H. et al. N-acetyltransferase NAT1 and NAT2 genotypes and lung cancer risk // *Ibid.* - P. 291-298.
280. Hubbard A.L., Moyes C., Wyllie A.H. et al. N-acetyl transferase 1: two polymorphisms in coding sequence identified in colorectal cancer patients // *Br. J. Cancer.* - 1998. - Vol. 77. - P. 913-916.
281. Nyberg F., Hou S.-M., Hemminki K. et al. Glutathione S-transferase μ 1 and N-acetyltransferase 2 genetic polymorphisms and exposure to tobacco smoke in non-smoking and smoking lung cancer patients and population controls // *Cancer Epidemiol. Biomarker. Prev.* - 1998. - Vol. 7. - P. 875-883.
282. Oesch F. Mammalian epoxide hydrolases: inducible enzymes catalyzing the inactivation of carcinogenic and cytotoxic metabolites derived from aromatic and olefinic compounds // *Xenobiotica.* - 1973. - Vol. 3. - P. 305-340.
283. Omiechinski C.J., Aicher L., Holubkov R., Checkoway H. Human peripheral lymphocytes as indicators of microsomal epoxide hydrolase activity in liver and lung // *Pharmacogenetics.* - 1993. - Vol. 3. - P. 150-158.
284. Spielberg S.P. Acetaminophen toxicity in human lymphocytes in vitro // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 1980. - Vol. 213. - P. 395-398.
285. McGlynn K., Hu Y., Clapper M.L. et al. Susceptibility to hepatocellular carcinoma is associated with genetic variation in the enzymatic detoxification of aflatoxin B1 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1995. - Vol. 92. - P. 2384-2387.
286. Raaka S., Hassett C., Omiechinski C.J. Human microsomal epoxide hydrolase: 5'-flanking region genetic polymorphism // *Carcinogenesis.* - 1998. - Vol. 19. - P. 387-393.

287. Masimirembwa C.M., Dandara C., Sommers de K. et al. Genetic polymorphism of cytochrome P4501A1, microsomal epoxide hydrolase, and glutathione S-transferases M1 and T1 in Zimbabweans and Venda of South Africa // *Pharmacogenetics*. - 1998. - Vol. 8. - P. 83-85.

288. Cai Y., Kleiner H., Johnston D. et al. Effect of naturally occurring coumarins on the formation of epidermal DNA adducts and skin tumors induced by benzopyrene and 7,12-dimethylbenzanthracene in SENCAR mice // *Carcinogenesis*. - 1997. - Vol. 18. - P. 1521-1527.

289. Jhee E.C., Ho L.L., Lotlikar P.D. Effect of butylated hydroxyanisole pretreatment on in vitro hepatic aflatoxin B1-DNA binding and aflatoxin B1-glutathione conjugation in rats // *Cancer Res.* - 1988. - Vol. 48. - P. 2688-2692.

290. Dutchie S.J., Mfa A., Ross M.A., Collins A.R. Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes // *Ibid.* - 1996. - Vol. 56. - P. 1291-1295.

291. Barselo S., Gardiner J.M., Gescher A., Chipman J.K. CYP2E1 mediates mechanism of anti-genotoxicity of the broccoli constituent sulforaphane // *Carcinogenesis*. - 1996. - Vol. 17. - P. 277-282.

292. Kall M.A., Vang O., Claussen J. Effect of dietary broccoli on human in vivo drug-metabolizing enzymes evaluation of caffeine, oestron and chlorzoxazone metabolism // *Ibid.* - P. 793-799.

293. Vang O., Jensen H., Autrup H. Induction of cytochrome P4501A1, 1A2, 2B1, 2B2 and 2E1 by broccoli in rat liver and colon // *Chem. Biol. Interactions*. - 1991. - Vol. 78. - P. 85-96.

294. Paolini M. and Legator M.S. Healthy broccoli? // *Nature*. - 1992. - Vol. 357. - P. 448.

295. Vang O., Rasmussen B.F., Andersen O. Combined effects of complex mixtures of potentially anti-carcinogenic compounds on antioxidant enzymes and carcinogen metabolizing enzymes in the rat // *Cancer Lett.* - 1997. - Vol. 114. - P. 283-286.

296. Cai Y., Bennett L., Nair R.V. et al. Inhibition and inactivation of murine hepatic ethoxy- and pentoxyresorufin O-dealkylase activity by naturally occurring coumarins // *Chem. Res. Toxicol.* - 1993. - Vol. 6. - P. 872-879.

297. Cai Y., Baier-Dubowska W., Bennett L. et al. Mechanism-based inactivation of hepatic ethoxyresorufin O-dealkylation activity by naturally occurring coumarins // *Ibid.* - 1996. - Vol. 9. - P. 729-736.

298. Krinsky N.I. Actions of carotenoids in biological systems // *Ann. Rev. Nutr.* - 1993. - Vol. 13. - P. 561-587.

299. Pool-Zobel B.L., Bub A., Muller H. et al. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods // *Carcinogenesis*. - 1997. - Vol. 18. - P. 1847-1850.

300. Peto R., Doll R., Buckley J.D., Sporn M.B. Can dietary β -carotene materially reduce human cancer rates? // *Nature*. - 1981. - Vol. 290. - P. 201-209.

301. Krinsky N.I. Effects of carotenoids on cellular and animal systems // *Am. J. Clin. Nutr.* - 1991. - Vol. 53. - P. 2385-2465.

302. Bendich A. The safety of β -carotene // *Nutr. Cancer*. - 1988. - Vol. 11. - P. 207-214.

303. Zhang L.-X., Cooney R.V., Bertram J.S. Carotenoids enhance gap junctional communication and inhibit lipid peroxidation in C3H/10T1/2 cells: relationship to their cancer chemopreventive action // *Carcinogenesis*. - 1991. - Vol. 12. - P. 2109-2114.

304. Astorg P.O., Gradelet S., Leclerc J. et al. Effects of β -carotene and canthaxanthin on liver xenobiotic-metabolizing enzymes in the rat // *Food Chem. Toxicol.* - 1994. - Vol. 32. - P. 735-742.

305. Gradelet S., Le Bon A.-M., Berges R. et al. Dietary carotenoids inhibit aflatoxin B1-induced liver preneoplastic foci and DNA damage in rat: Role of the modulation of aflatoxin B1 metabolism // *Carcinogenesis*. - 1998. - Vol. 19. - P. 403-411.

306. Yang C.S., Wang Z.Y. Tea and cancer: A review // J. Natl. Cancer Inst. - 1993. - Vol. 85. - P. 1038-1049.
307. Stoner G.D., Mukhtar H. Polyphenols as cancer chemopreventive agents // J. Cell Biochem. - 1995. - Vol. 22. - P. 169-180.
308. Shiraki M., Hara Y., Osawa T. et al. Antioxidative and antimutagenic effects of teaflavins from black tea // Mutat. Res. - 1994. - Vol. 323. - P. 29-34.
309. Yang G., Liu Z., Seril D.N. et al. Black tea constituents, teaflavins, inhibit 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NKK)-induced lung tumorigenesis in A/J mice // Carcinogenesis. - 1997. - Vol. 18. - P. 2361-2365.
310. Yang G., Liao J., Kim K. et al. Inhibition of growth and induction apoptosis in human cancer cell lines by tea polyphenols // Ibid. - 1998. - Vol. 19. - P. 611-616.
311. Lu Y.P., Lou Y.-R., Xie J.-G. et al. Inhibitory effect of black tea on the growth of established skin tumors in mice: effects of tumor size, apoptosis, mitosis and bromodeoxyuridine incorporation into DNA // Ibid. - 1997. - Vol. 18. - P. 2163-2169.
312. Wang Z.Y., Huang M.-T., Ho C.-T. et al. Inhibitory effect of green tea on growth of established skin papillomas in mice // Cancer Res. - 1992. - Vol. 52. - P. 6657-6665.
313. Smith T.J., Guo Z., Thomas P.E. et al. Metabolism of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in mouse lung microsomes and its inhibition by isothiocyanates // Ibid. - 1990. - Vol. 50. - P. 6817-6822.
314. Boggaards J.J.P. Verhagen H., Poppel G., Bladaren P.J. Consumption of Brussels sprouts results in elevated a-class glutathione S-transferase levels in human blood plasma // Carcinogenesis. - 1994. - Vol. 15. - P. 1073-1075.
315. Nijhoff W.A., Mulder T.P.J., Verhagen H. et al. Effect of consumption of Brussels sprouts on plasma and urinary glutathione S-transferase class-a and -D in humans // Ibid. - 1995. - Vol. 16. - P. 955-957.
316. Rodgers A.E., Zeisel S.H., Groopman J. Diet and carcinogenesis // Ibid. - 1993. - Vol. 14. - P. 2205-2217.
317. Block G., Patterson B., Subar A. Fruits, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence // Nutr. Cancer. - 1992. - Vol. 17. - P. 1-29.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- Ляхович Вячеслав Валентинович - академик РАМН, директор Института молекулярной биологии и биофизики
СО РАМН, р.т. 32-31-47
- Вавилин Валентин Андреевич - к.м.н., зав. лаб. метаболизма лекарств и фармакокинетики Института молекулярной биологии и биофизики
СО РАМН, р.т. 33-58-89
- Гуляева Людмила Федоровна - к.б.н., зав. лаб. молекулярных механизмов канцерогенеза Института молекулярной биологии и биофизики
СО РАМН, р.т. 33-58-89

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
Глава 1. МЕТАБОЛИЗМ ХИМИЧЕСКИХ КАНЦЕРОГЕНОВ	5
1.1. Полициклические ароматические углеводороды	6
1.2. Гетероциклические амины	9
1.3. Пищевые токсины	10
1.4. Активация N-нитрозоаминов	11
1.5. Метаболическая активация N-гидроксипроизводных 4-аминобифенила	14
1.6. Механизмы активации ароматических аминов и азобензолов	15
Глава 2. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ ДЛЯ КАНЦЕРОГЕНОВ	19
2.1. Аддукты канцерогенов с ДНК	19
2.2. Раковые супрессорные гены и протоонкогены как мишени для канцерогенов	20
2.3. Взаимосвязь химического онкогенеза с вирусным	22
Глава 3. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ В ПРОЦЕССЕ ХИМИЧЕСКОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ	24
3.1. Активность и индуцибельность CYP1A в печени мышей, различающихся по чувствительности к OAT-индуцируемому гепатоканцерогенезу	24
3.2. Активность цитохрома P4501A в печени мышей CBA и CC57BR при долговременной многократной индукции o-аминоазотолуолом	31
3.3. Трансгенные животные в изучении химического канцерогенеза	33
Глава 4. ГЕНЫ И ФЕРМЕНТЫ СИСТЕМЫ МЕТАБОЛИЗМА КСЕНОБИОТИКОВ В ОНКОПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА	35
4.1. Краткая характеристика основных свойств ферментов биотрансформации ксенобиотиков	36
4.1.1. Множественные формы ферментов биотрансформации ксенобиотиков. Субстратная специфичность	36
4.1.2. Тканеспецифичная экспрессия	36

4.1.3. Индуцибельность	41
4.1.4. Генетический полиморфизм ферментов биотрансформации ксенобиотиков	42
4.2. Ассоциация ферментов биотрансформации ксенобиотиков с онкологической патологией	47
Глава 5. ИНГИБИРОВАНИЕ КАНЦЕРОГЕНЕЗА	61
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	65
ЛИТЕРАТУРА	66
СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	83

Гуляева Людмила Федоровна
Бавилин Валентин Андреевич
Ляхович Вячеслав Валентинович

ФЕРМЕНТЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИ КОВ
В ХИМИЧЕСКОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Аналитический обзор

Оригинал-макет подготовлен с помощью системы W ord 97 for Windows 98.
Компьютерная верстка выполнена Т.А. Калюжной.

Лицензия ЛР № 020909 от 1.09.99

Подписано в печать 30.06.2000. Формат 60x84/16.

Бумага писчая. Гарнитура TextBook. Ротапринт.

Усл. печ. л. 5,1. Уч.-изд. л. 6,8. Тираж 300 экз.

Заказ N 27.

Цена договорная

Издательство СО РАН. 630090, Новосибирск, Морской пр., 2.

Полиграфический участок ГПНТБ СО РАН. 630200, Новосибирск,

ул. Восход, 15.

СЕРИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ ОБЗОРОВ МИРОВОЙ ЛИТЕРАТУРЫ "ЭКОЛОГИЯ"

издается ГПНТБ СО РАН с 1989 г. и ориентирована на исследователей, технологов и руководящих работников, занимающихся фундаментальными, прикладными и социальными проблемами экологии. Среди таких проблем: токсичные химические вещества; воздействие промышленных производств, энергетики и транспорта на окружающую среду и человека; экологически чистые технологии; утилизация промышленных и бытовых отходов; токсичные вещества в пищевых продуктах; экологическая экспертиза; природоохранное законодательство и др.

Обзоры готовятся ведущими учеными и специалистами Сибирского отделения РАН и других академических и отраслевых НИИ и промышленных предприятий.

ВЫШЛИ ИЗ ПЕЧАТИ:

МИКРОСОМНАЯ МОНОКСИГЕНАЗНАЯ СИСТЕМА ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ В БИОМОНИТОРИНГЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ: Аналит. обзор / Л.Ф. Гуляева, А.Ю. Гришанова, О.А. Громова и др.; Ин-т молекуляр. патологии и экол. биохимии СО РАН; ГПНТБ СО РАН; Науч. ред. М.А. Грачев. - Новосибирск, 1994. - 100 с.

В обзоре впервые представлены данные (1988 - 1993 гг.) о биомониторинге окружающей среды (ОС) с использованием методов, оценивающих микросомную монооксигеназную систему (МОС) животных и человека. С применением литературных данных и собственных исследований описаны методы оценки воздействия неблагоприятной ОС на животных: измерение ферментативных активностей цитохрома Р-450 у грызунов, выявление аддуктов токсичных химических соединений с биомакромолекулами. Особое место в обзоре отводится изучению воздействия ОС на человека. Приведены данные об использовании тестовых лекарств, современных методов геной инженерии в оценке состояния МОС. Комплексный подход в изучении воздействия ОС на живые организмы позволит оценить негативные последствия, наносимые загрязнением, в т. ч. раковые заболевания. Обсуждаемый материал может быть полезным для специалистов, работающих в области токсикологии.

ФЕНОЛЬНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ: Сб. аналит. обзоров / Л.Н. Попова, И.В. Сорина, А.П. Крысин, Т.Б. Хлебникова, В.Н. Кобрин; СО РАН. ИОХ, ГПНТБ; Науч. ред. к.х.н. В.С. Кобрин. - Новосибирск, 1997. - 68 с.

В сборнике представлены обзоры публикаций, посвященных применению добавок для увеличения сроков сохранности и повышения ценности продуктов питания и некоторых лекарственных средств. Основное внимание уделено наиболее распространенным в практике добавкам - антиоксидантам фенольного типа, имеющим природное или синтетическое происхождение. Рассмотрены вопросы применения указанных соединений в качестве лекарственных препаратов. Анализ литературы за последнее десятилетие проведен с учетом концепции устойчивого развития. Обзоры написаны специалистами химиками-органиками, аналитиками и технологами, постоянно работающими в области синтеза, анализа и испытания антиоксидантов, в том числе фенольного типа.

Материалы сборника обзоров предназначены для широкого круга специалистов, сталкивающихся с вопросами сохранения продуктов питания, увеличения их ценности, влияния питания на здоровье человека.

Барсукова В.С. УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ: Аналит. обзор / СО РАН. ГПНТБ; Ин-т почвоведения и агрохимии; Науч. ред. д.т.н. РАН И.М. Гаджиев. - Новосибирск, 1997. - 63 с.

Защита пищевых цепей от загрязнения тяжелыми металлами может осуществ-

ляться посредством использования мощного адаптивного потенциала растений по устойчивости к эдафическим факторам среды и обеспечивается способностью растений за счет механизмов поглощения и нейтрализации тяжелых металлов накапливать относительно низкое их содержание в товарной части продукции. Обзор освещает ряд аспектов, связанных с адаптивным потенциалом растений по устойчивости к тяжелым металлам. Наиболее широко представлены в научной литературе исследования эффекта доз тяжелых металлов на метаболизм, рост и репродуктивные функции культурных растений. Менее изучены возможные механизмы защиты растений от поступления тяжелых металлов. Наиболее важными, на наш взгляд, являются работы, в которых рассматривается спектр изменчивости по устойчивости к загрязнению тяжелыми металлами на уровне семейства, рода, вида, сорта, так как научные результаты этих исследований служат основой изучения генетической детерминации устойчивости культурных растений к тяжелым металлам и разработки принципов экологической селекции растений. Данный литературный анализ будет полезен специалистам по экологии, физиологии и генетике растений, студентам и аспирантам соответствующих специальностей.

ЗАКОНОДАТЕЛЬНОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ КАЧЕСТВА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ: Аналит. обзор / НИОХ; ГПНТБ СО РАН; Новосиб. гор. СЭС. - Новосибирск, 1997. - 136 с.

Цель обзора - представить аналитический материал, содержащий сведения о зарубежном опыте применения законодательных и административных методов и средств регулирования и контроля качества пищевых продуктов, дать оценку состояния российского законодательства по данному вопросу.

Гичев Ю.П., Гичев Ю.Ю. **ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА:** Аналит. обзор / Ин-т регион. патологии и патоморфологии СО РАМН, ГПНТБ СО РАН. - Новосибирск, 1999. - 90 с.

Настоящее издание представляет собой всесторонний обзор современной литературы, посвященной проблеме возможного влияния электромагнитных полей (ЭМП) на здоровье человека. Приводится критический анализ нарушений здоровья различного характера, находящихся в возможной связи с действием ЭМП: изменений функционального состояния центральной нервной и сердечно-сосудистой систем, нарушений процессов внутриутробного развития и родов, возможности развития злокачественных опухолей различной локализации и др. При этом обсуждается влияние как ЭМП, возникающих в условиях промышленного производства, так и генерируемых бытовыми электроприборами и видеодисплейными терминалами. Специальная часть обзора посвящена законодательным и гигиеническим проблемам регулирования воздействия ЭМП на человека, рассматриваемых в развитых странах на государственном уровне.

Данный обзор предназначен для широкого круга специалистов, работающих в области гигиены труда, профессиональных заболеваний, медицинского страхования, высшего и среднего образования.

ВЫХОДЯТ ИЗ ПЕЧАТИ:

Василенко В.А. **ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ХОЗЯЙСТВЕННЫХ РЕШЕНИЙ:** Аналит. обзор / ГПНТБ СО РАН, ИЭиОПП; Науч. ред. д.э.н. Г.М. Мкртчян. - Новосибирск, 2000. - Объем 10 п.л.

В аналитическом обзоре обобщен отечественный и зарубежный опыт по оценке соответствия хозяйственной деятельности требованиям охраны окружающей среды. Рассмотрены процедуры, исходные принципы, критерии и методы экологического обоснования инвестиционных проектов и хозяйственных начинаний. Показаны пути

разрешения конфликтов, обусловленных воздействием объектов экологического развития на природные комплексы. Обозначены узловые проблемы, решение которых будет способствовать повышению надежности экологических обоснований хозяйственных решений и устойчивому развитию.

Аналитический обзор предназначен специалистам по экологической экономике и в области управления. Он может быть полезен преподавателям, аспирантам и студентам, а также членам общественных организаций экологической ориентации.

Кузубова Л.И., Аношин Г.Н. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ: Аналит. обзор / ГПНТБ СО РАН. - Новосибирск, 2000. - 67 с.

В обзоре представлены данные мировой литературы за 1985 - 1992 гг. о наиболее распространенных и перспективных методах определения тяжелых металлов, а также мышьяка, селена и алюминия в пищевых продуктах: с помощью атомной и молекулярной спектроскопии, хроматографии, масс-спектрометрии, электрохимии, индуктивно-связанной плазмы и т. д. Наряду с краткой характеристикой перечисленных элементов приведены сведения об их токсичности и возможных источниках поступления в организм человека. Освещены вопросы пробоподготовки, метрологического обеспечения и аппаратурного оформления в разработанных методиках.

Обзор может быть полезен специалистам пищевой промышленности, работникам здравоохранения, химикам, экологам, а также студентам и аспирантам соответствующих специальностей.

Кузубова Л.И., Аношин Г.Н. МЕТИЛРТУТЬ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ (РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ОБРАЗОВАНИЕ В ПРИРОДЕ, МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ): Аналит. обзор / СО РАН. ОИГиГ; ГПНТБ. - Новосибирск, 2000. - 80 с.

В биологическом круговороте ртути и ее соединений в окружающей среде метилртуть занимает особое место в силу ее особенности легко взаимодействовать с компонентами клеток живого организма с отчетливо выраженными негативными последствиями. В обзоре рассмотрено, как образуется это токсичное соединение в природе, его распространение, аккумулятивное в объектах окружающей среды и опосредованно в пищевых цепях, что неизбежно приводит к воздействию на здоровье человека.

Учитывая взаимопревращения ртути и ее соединений в их природном круговороте, в обзоре представлен совокупный вклад различных источников ртути в загрязнение объектов окружающей среды, особенно водохранилищ, появляющихся при строительстве гидроэлектростанций, в т. ч. в сибирском регионе. Важное значение в связи с этим приобретают методы определения метилртути в различных природных объектах.

Обзор может быть полезен всем, интересующимся проблемами экологии, экотоксикологии и другими сопутствующими им, например, определением уровней содержания рассматриваемых токсикантов в объектах окружающей среды.

ЗАЯВКИ на получение книг **наложенным платежом в России**, а также отзывы и пожелания можно направить по адресу: 630200, г. Новосибирск-200, ул. Восход, 15, ГПНТБ СО РАН, ком. 407. Лаборатория информационно-системного анализа.

В страны СНГ обзоры распространяются с предоплатой после получения копии платежного поручения.

Тел. для справок: (383-2) 66-29-89, **факс:** (383-2) 66-33-65, **e-mail:** obzor@spsl.nsc.ru, lisa@spsl.nsc.ru, **web-site:** <http://www.spsl.nsc.ru/win/ecol/index.html>

Наши реквизиты: ИНН 5405109125 Расчетный счет 40503810509120000072 в ОАО "Сибкадембанк" в ГУ ЦБ РФ по НСО БИК 045004821. Корреспондентский счет 30101810100000000821.

Новосибирские заказчики могут приобрести книги непосредственно в ГПНТБ СО РАН, ком. 407.