

ГЕНЫ И ФЕРМЕНТЫ СИСТЕМЫ МЕТАБОЛИЗМА КСЕНОБИОТИКОВ В ОНКОПАТОЛОГИИ

ЛЯХОВИЧ В.В., ВАВИЛИН В.А., ГУТКИНА Н.И., ЛАКТИОНОВА И.П., МАКАРОВА С.И.,
МИТРОФАНОВ Д.В., ОСТАШЕВСКИЙ В.А., ЧАСОВНИКОВА О.Б.

Институт молекулярной патологии и экологической биохимии СО РАМН, Новосибирск.

В работе исследован полиморфизм ферментов биотрансформации ксенобиотиков (СYP1A1, глутатион-S-трансферазы M1 и N-ацетилтрансферазы 2) и белка-онкосупрессора p53 у больных раком легкого, раком желудка и раком кишечника. Частота встречаемости аллеля CYP1A1Val у больных раком всех локализаций в 3-5 раз превышала частоту этого аллеля в группе здоровых людей. Повышенному риску рака легкого подвержены также носители гомозиготной делеции гена глутатион-S-трансферазы M1 и фенотипа медленных ацетиляторов. Существенное увеличение частоты фенотипа медленных ацетиляторов было показано также в группе больных раком желудка. Исследование Арг-Полиморфизма белка онкосупрессора p53 выявило увеличение частоты Арг-аллеля у больных раком легкого и раком желудка. Степень риска рака легкого для носителей мутаций исследуемых генов зависит от возраста и фактора курения. В целом, результаты свидетельствуют, что изученные полиморфные гены с высокой вероятностью являются маркерами предрасположенности к онкопатологии.

Ключевые слова: онкопатология, полиморфизм генов, ферменты, биотрансформация ксенобиотиков, маркеры

Введение Риск возникновения различных онкозаболеваний у человека в значительной мере обусловлен воздействием на организм химических канцерогенов. По оценкам IARC, 80-90% всех случаев рака связано с воздействием химических факторов [12]. Канцерогенность многих соединений связана с их генотоксичностью, причем более 75% всех известных канцерогенов приобретают генотоксичность в результате ферментативной активации. В связи с этим большое значение в инициации канцерогенеза придают ферментативной системе биотрансформации ксенобиотиков. Последняя включает в себя две функционально сопряженные фазы: цитохром P450-зависимые реакции окисления (1 фаза) и реакции с участием ферментов 2 фазы - глутатион-S-трансфераз (GST), N-ацетилтрансфераз (NAT), эпоксидгидролазы и др. И детоксификация, и активация исходных ксенобиотиков может происходить в реакциях как 1, так и 2 фазы биотрансформации. 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 [21]. Баланс активностей реакций активации и детоксификации ксенобиотиков, процессов репарации ДНК и элиминации клеток с поврежденным геномом определяют вероятность возникновения рака.

Факторы, участвующие в развитии онкопатологии, реализуются в человеческой популяции с высокой степенью вариабельности. В последние годы сформировалось новое направление в эпидемиологии рака - молекулярная эпидемиология, целью которой является поиск и практическое применение в целях здравоохранения специфических, чувствительных и обладающих прогностической информативностью маркеров патогенного воздействия окружающей среды и маркеров предрасположенности индивидов к онкопатологии.

Свойства ферментов биотрансформации ксенобиотиков делают возможным их использование в качестве таких маркеров. В настоящее время доказано существование у человека полиморфных вариантов генов некоторых цитохромов P450 (CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1) и ферментов конъюгации (GST, NAT) [6,9,23,24]. Многие ферменты биотрансформации являются индуцибельными (CYP1A1, CYP1A2, CYP2B6, CYP3A4, CYP2E1, GSTM1 и др.) [1]. Генетический полиморфизм и индуцибельность ферментов биотрансформации обуславливает 100 - 1000-кратные межиндивидуальные различия в активностях. Следовательно, носители высоких активностей, ведущих к образованию реактивных метаболитов, и, наоборот, низких активностей, ответственных за их инактивацию, должны быть в большей мере подвержены риску канцерогенеза.

В последние годы в этом плане интенсивно исследуется полиморфизм генов CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1, GST и NAT. Большое число работ посвящено полиморфизму цитохрома P4501A1. Точечная мутация (А на G) в 7 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 [16]. Исследования Иле/Вал -полиморфизма в японской и ряде европейских популяций показали, что частота встречаемости аллеля CYP1A1Вал выше у больных раком легкого по сравнению с группой здоровых людей [2,7,10,16]. 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% людей [2,25]. Отсутствие активности обусловлено наследуемой гомозиготной делецией гена GSTM1 - генотипом GSTM1(-) [24]. Показано, что в японской популяции число носителей генотипа GSTM1(-) существенно выше в группе больных раком легкого, особенно плоскоклеточной карциномой, чем в контрольной группе здоровых людей [10,18]. При этом риск еще более увеличивается для людей, одновременно несущих аллель CYP1A1Вал и делецию гена GSTM1. Что касается европейских популяций, одни исследователи показали увеличение риска рака легкого для носителей генотипа GSTM1(-) [2,11,19], в то время как другие получили одинаковое распределение генотипов GSTM1 в контроле и у пациентов [4]. Противоречивые результаты получены также по распределению генотипов GSTM1 у больных раком других локализаций [3,5,13,14,25].

Полиморфизм N-ацетилтрансферазы 2 проявляется наличием в человеческой популяции быстрых и медленных ацетиляторов. Найден ряд мутаций гена NAT2, носители которых обладают фенотипом медленных ацетиляторов [21]. Известны данные об увеличении числа медленных ацетиляторов у больных раком мочевого пузыря [5] и быстрых ацетиляторов у больных колоректальным раком [23].

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 [20]. С другой стороны, известны генетически наследуемые мутации p53, которые могут быть одной из причин генетических различий в предрасположенности индивидуумов к онкозаболеваниям. Так, Каваджири с соавт. обнаружили, что замена G на C в 72 кодоне гена p53, результатом которой является замена в белке Арг на Про, приводит к увеличению в 1,7 раза риска рака легкого у носителей генотипа Про/Про [15].

В целом, состояние проблемы сейчас таково, что безусловно можно говорить о ее большой научно-практической значимости и необходимости дальнейших исследований.

В настоящей работе мы исследовали распределение генотипов CYP1A1 (Иле-Вал полиморфизм), GSTM1(+) и GSTM1(-), p53 (Арг-Про полиморфизм) 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.

МЕТОДИКА

Подготовка образцов для амплификаций ДНК. Кровь забирали у пациентов Новосибирского онкодиспансера с диагнозом рак легкого, рак желудка, рак кишечника. Контрольная группа состояла из здоровых людей, проживающих в Новосибирской области и Алтайском крае. Все обследуемые были европеоидного происхождения и не состояли в родстве. 500 мкл крови смешивали с равным объемом буфера А (0,32 М сахараза, 10 мМ Трис-НСl рН 7,5; 5 мМ MgCl₂, 1% Тритон X-100), центрифугировали 2 мин при 1000g. Осадок несколько раз промывали этим же буфером от примеси гемоглобина. Конечный осадок ресуспендировали в буфере Б (67 мМ Трис-НСl рН 8,3, 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄, 1 мМ MgCl₂) и обрабатывали 1 час при 50°C протеиназой К (фирма Мерк, Германия). Полученные образцы использовались в полимеразной цепной реакции (ПЦР) для амплификации исследуемого участка гена.

Амплификация ДНК для оценки полиморфизма генов CYP1A1, GSTM1 и p53.

Условия реакции амплификации для оценки полиморфизма гена CYP1A1 и последовательность олигонуклеотидных праймеров взяты из работы Хаяши с соавт. [9]. Реакция амплификации (30 циклов) проводилась в амплификаторе АМП-4-01 (Новосибирск) с некоторыми изменениями в режиме термоциклирования: денатурация ДНК при 94°C (1 мин), отжиг с олигонуклеотидными затравками при 66°C (1 мин), полимеразная реакция при 72°C (1 мин). Продукты амплификации подвергали электрофорезу в 2% агарозном геле.

Реакция амплификация ДНК для оценки полиморфизма гена GSTM1 проводилась в соответствии с условиями, описанными в работе Зонга с соавт. [25]. Полиморфизм гена p53 исследовали с использованием аллельспецифичных праймеров и условий реакции, предложенных Каваджири с соавт. [15].

Полиморфизм N-ацетилтрансферазы 2 (фенотипы быстрых и медленных ацетиляторов) определяли по фармакокинетике сульфадимезина, для чего больные получали 500 мг лекарства. Определение сульфадимезина и ацетилсульфадимезина проводилось в образцах мочи, собранной за 6 ч, и разбавленных мобильной фазой в 10-20 раз, методом ВЭЖХ на колонке Ультрасфера С18 5 мкм, 250x2 мм с мобильной фазой - 20мМ калий фосфатный буфер, 23% метанол, рН 6,7. Детекцию осуществляли по поглощению на 254 нм. Количественную оценку проводили на интеграторе Shimadzu C-R3A.

Оценка статистической достоверности отличий исследуемых групп проводилось с использованием критерия Пирсона. Степень риска заболевания для носителей мутантного признака оценивали по отношению разниц (ОР), которое рассчитывали по формуле:

$$\frac{A/B}{A_1/B_1}$$

где А и А₁ - частоты встречаемости аллелей генов CYP1A1Вал или p53Арг или частота генотипа GSTM1(-), или частота фенотипа медленных ацетиляторов в группе больных и в контроле, соответственно, а В и В₁ - частоты аллелей CYP1A1Иле или p53Про, генотипа GSTM1(+) или частота фенотипа быстрых ацетиляторов у больных и в контроле, соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ Полиморфизм ферментов биотрансформации и белка-онкосупрессора p53 исследовали у пациентов Новосибирского онкодиспансера с

диагнозами рак легкого, рак желудка и рак кишечника. 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 таблице.

Таблица.

Полиформизм ферментов биотрансформации ксенобиотиков у онкологических больных

группа генотипы и NAT-статус	конт- роль	Рак легкого,					Рак желудка	Рак кишечника	
		Всего некурящие	≤50 лет	>50 лет	курящие				
CYP1A1	Иле/Иле	54 (94,7%)	71 (87,7%)	17 (77,3%)	54 (91,5%)	36 (92,3%)	35 (83,3%)	55 (87,3%)	18 (75%)
	Иле/Вал	3 (5,3%)	8 (9,9%)	4 (18,2%)	4 (6,7%)	3 (7,7%)	5 (11,9%)	7 (11,1%)	6 (25%)
	Вал/Вал	0	2 (2,5%)	1 (4,5%)	1 (1,7%)	0	2 (4,8%)	1 (0,8%)	0
	частота Вал-аллеля	0,027	0,074	0,136 ^a	0,050	0,039	0,117 ^a	0,071	0,125 ^a
	ОР	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%)
	ОР	1	1,56	1,39	1,63	1,30	1,83	1,14	0,98
p53	Арг/Арг	26 (52,0%)	61 (65,6%)	22 (88%)	39 (57,4%)	29 (65,9%)	32 (65,3%)	27 (56,3%)	11 (47,8%)
	Арг/Про	18 (36,0%)	21 (22,6%)	2 (8,0%)	19 (27,9%)	8 (18,2%)	13 (26,5%)	17 (35,4%)	11 (47,8%)
	Про/Про	6 (12,0%)	11 (11,8%)	1 (4,0%)	10 (14,7%)	7 (15,9%)	4 (8,2%)	4 (8,3%)	1 (4,8%)
	частота Арг-аллеля	0,700	0,769	0,920 ^b	0,713	0,750	0,781	0,740	0,717
	ОР	1	1,43	5,00	1,06	1,28	1,54	1,22	1,09
NAT статус	Б	27 (54,0%)	9 (22,5%)	0	9 (25,7%)	7 (33,3%)	2 (11,8%)	8 (21,6%)	н.о.
	М	23 (46,0%)	31 (77,5%) ^b	5 (100%) ^c	26 (74,3%) ^d	14 (66,7%)	17 (88,2%) ^d	29 (78,4%) ^b	н.о.
	ОР	1	4,04	-	3,39	2,35	9,98	4,26	

^a - P < 0,05 ^b - P < 0,01 ^c - P < 0,1 ^d - P < 0,02 н.о. - не определялось

Полученная нами частота встречаемости мутантного аллеля CYP1A1Вал в контрольной группе (0,027) была столь же низкой, как и в других европейских популяциях (0,035 у шведов, 0,032 у немцев) [2,7]. Для сравнения, у японцев этот аллель встречается с частотой 0,25 [17]. Частота Вал-аллеля у больных раком легкого (0,074) втрое превышала соответствующую величину в контрольной группе. Отношение разниц (ОР), 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 (Таблица), 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 CYP1A1Val (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 мы наблюдали повышенную частоту 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 наша контрольная выборка не отличается по распространенности Вал-аллеля от литературных данных по европейским популяциям ($\chi^2 = 0,018 \ll 2,71$), мы провели дополнительные расчеты достоверности результатов с использованием литературных данных [7]. В результате этих расчетов оказалось, что риск, связанный с Вал-аллелем, становится достоверным для всех группы больных раком легкого. Таким образом, полученные данные позволяют считать наличие аллеля CYP1A1Val 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 [2,7,10,16].

Надо отметить, что внимание исследователей сосредоточено на изучении полиморфизма гена CYP1A1 у больных раком легкого. Однако, канцерогенный эффект 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. Кроме того, 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 [22]. Желудок и кишечник являются органами, подвергающимися контакту с поступающими водой и пищей. Кроме того, они также являются интенсивно перфузируемыми органами. 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 (Таблица) выявили 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 являются статистически достоверными ($p < 0,05$). Таким образом, проведенные нами исследования полиморфизма CYP1A1 свидетельствуют, что наличие мутантного Вал-аллеля является фактором риска рака всех изученных нами локализаций.

Методом полимеразной цепной реакции в исследуемых группах 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 больных 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 младшего возраста (OR равно 1,63 и 1,39, соответственно). У больных раком желудка и раком кишечника не было выявлено 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. Однако, нам не удалось показать, что распределение генотипов GSTM1 у больных достоверно отличается от контрольного. Представляется очевидным, что в развитии онкопатологии имеет значение баланс активностей различных глутатион-S-трансфераз, поскольку они имеют перекрывающуюся субстратную специфичность, и некоторые из них полиморфны [23]. 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 [2] 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 [10,18]. Отсутствие различий в распределении генотипов GSTM1 у больных раком легкого и здоровых людей получил Брокмоллер с соавт. [4].

Что касается рака других локализаций, частота GSTM1(-) была выше у пациентов с диагнозами карцинома печени [8], рак кишечника, желудка [14,25], мочевого пузыря [3]. Однако, в работе Като с соавт. не было получено различий в распределении генотипов GSTM1 у здоровых и больных раком желудка [13]. Не было также превышения частоты GSTM1(-) среди пациентов с диагнозом рак мочевого пузыря в работе Зонга с соавт. [25], в то время как Аннар с соавт. показали почти 7-кратное увеличение риска рака мочевого пузыря для носителей этого генотипа [3].

Причина противоречий на сегодняшний день 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 эту мысль. Так, медленные ацетиляторы, подвергающиеся воздействию ариламинов на производстве имеют повышенный риск рака мочевого пузыря. Без такого воздействия связь фенотипа медленных ацетиляторов с раком мочевого пузыря не обнаруживается. Высокий риск ариламин-индуцируемого рака мочевого пузыря у медленных ацетиляторов связывают с накоплением в моче неконъюгированных N-гидрокси-метаболитов, образующихся с участием цитохрома P450, в то время как у быстрых ацетиляторов происходит их инактивация и выведение из организма [23].

Другая группа работ свидетельствует, что фенотип быстрых ацетиляторов также может играть роль фактора риска развития рака, что связывают с участием NAT2 в активации некоторых компонентов пищи - гетероциклических аминов. Так, у больных колоректальным раком частота встречаемости фенотипа быстрых ацетиляторов была существенно выше, по сравнению с контрольной группой [23].

Мы провели фенотипирование по NAT2 больных с диагнозами рак легкого и рак желудка (Таблица). 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 Дракулиса с соавт., который получил наибольшую частоту Вал-аллеля в группе некурящих больных бронхогенными карциномами [7]. Авторы предполагают, что некурящие носители Вал-аллеля подвергаются риску при низких дозах проканцерогенов, что может быть, например, результатом пассивного курения.

Кроме ферментов биотрансформации, мы исследовали Арг-Про-полиморфизм белка онкосупрессора p53. В отличие от Каваджири с соавт. [15] мы не получили увеличения риска для носителей Про-аллеля. Напротив, в группах больных раком легкого и раком желудка мы наблюдали некоторое увеличение частоты встречаемости Арг-аллеля по сравнению с контролем. Статистическая обработка данных показала достоверность отличий от контрольной группы только для больных раком легкого до 50 лет. В этой группе больных наблюдалась наибольшая частота встречаемости Арг-аллеля (0,92, $OR=5,0$, $P<0,01$). Этот результат позволяет предполагать, что "рисковую значимость" несет Арг-аллель гена белка-онкосупрессора p53, и носители этого аллеля подвержены риску рака легкого в более молодом возрасте. Некоторое увеличение частоты Арг-аллеля наблюдалось также в группе некурящих больных раком легкого ($OR=1,54$). Надо отметить, что функциональные различия между вариантами белка p53, кодируемыми Арг- и Про-аллелями, неизвестны. Очевидно, что исследование полиморфизма гена p53 с целью оценки предрасположенности индивидов к онкопатологии должны быть продолжены, возможно, с привлечением других наследуемых мутаций этого гена.

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, Арг-аллель p53 и GSTM1(-) для рака легкого. Степень риска, связанная с изученными генами, зависит от возраста, фактора курения и, возможно, от комбинаций генотипов. В самом деле, расчеты показывают, что при наблюдаемых нами частотах встречаемости, комбинация "чувствительных" факторов (CYP1A1Вал/Вал, p53Про/Про, GSTM1(-) и "медленный" ацетилятор) может встречаться у больных раком легкого почти в 100 раз чаще, чем среди здоровых людей. Это убеждает нас в том, что гено- и фенотипирование ферментов биотрансформации ксенобиотиков и онкосупрессора p53 перспективно для оценки индивидуального риска возникновения рака. Существует необходимость исследования в качестве маркеров предрасположенности к раку других форм этих ферментов и онкогенов. Такой подход сделает возможным выделение в популяциях или производственных контингентах с вредными условиями труда групп повышенного риска для организации профилактических мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуляева Л.Ф., Гришанова А.Ю., Громова О.А. и др. // Микросомная монооксигеназная система живых организмов в биомониторинге окружающей среды. (Сер. Экология. Вып.32) - ГПНТБ СО РАН - Новосибирск. - 1994. - 100 С.
2. *Alexandrie A.-K., Ingelman Sundberg M., Seidegard J. et al. // Carcinogenesis. - 1994. - N.9. - P.1785-1790.*
3. *Anwar M., Abdel-Rahman S.Z., El-Zein R.A. et al. // Carcinogenesis. - 1996. - Vol.17. - P.1923-1929.*
4. *Brockmoller J., Kerb R., Drakoulis N. et al. // Cancer Res - 1993. - Vol.53. - P.1004-1011.*
5. *Brockmoller J., Cascorbi I., Kerb R., et al. // Cancer Res. - 1996. - Vol.56. - P.3915-3925.*
6. *Broly F., Gaedigk A., Heim M. et al. // DNA Cell Biol. - 1991. - Vol.10. - P.545-558.*
7. *Drakoulis N., Cascorbi I., Brockmoller J. et al. // Clin. Investig. - 1994. - Vol.72. - P. 240-248.*
8. *Harada S., Abei M., Tanaka N. et al. // Hum. Genet. - 1987. - Vol.75. - P.322-325.*
9. *Hayashi S., Watanabe J., Nakachi K., Kawajiri K. // J.Biochem. - 1991. - Vol.110. - P.407-411.*
10. *Hayashi S., Watanabe J., Kawajiri K. // Jpn. J. Cancer Res. - 1992. - Vol.83. - P.866-870.*
11. *Hirvonen A., Husgafvel-Pursiainen K., Anttila S. et al. // Carcinogenesis. - 1993. - Vol.14. - P.1479-1481.*
12. *IARC. Cancer Causes. Occurrence and Control. // Tomatis I. (Ed.) IARC Scientific Publications 100. - Lion. - 1990.*
13. *Kato S., Onda M., Matsukura N. et al. // Cancer. - 1996. - Vol.77. - P.1654-1661.*
14. *Kato T., Nagata N., Kuroda Y. et al. // Carcinogenesis. - 1996. - Vol.17. - P. 1855-1859.*
15. *Kawajiri K., Nakachi K., Imai K. et al. // Carcinogenesis. - 1993. - Vol.14. - P.1085-1089.*
16. *Kawajiri K., Nakachi K., Imai K. et al. // Crit. Rev. Oncol. Hematol. - 1993. - Vol.14. P.77-87.*
17. *Nakachi K., Imai K., Hayashi S. et al. // Cancer Res. - 1991 - Vol.51 - P. 5177-5180.*
18. *Nakachi K., Imai K., Hayashi S., Kawajiri K. // Cancer Res. - 1993. - Vol.53. - P.2994 - 2999.*
19. *Nazar-Stewart V., Motulsky A.G., Eaton D.L. et al. // Cancer Res. - 1993. - Vol.53. - P.2313-2318.*
20. *Perera F.P. // Scientific American. - May 1996. - P.54-62.*
21. *Raunio H., Husgafvel-Pursiainen K., Anttila S. et al. // Gene. - 1995. - V.159. - P.113-121.*
22. *Raunio H., Pasanen M., Maenpaa J. et al. // In: Advances in Drug Metabolism in Man. Pacifici G.M. and Fracchia G.N. (Eds) - Luxemburg. - 1995. - P.235-287.*
23. *Raunio H., Pelkonen O. // In: Drugs, Diet and Disease. Ioannides C. (Ed.) - Ellis Horwood Ltd, New York. - 1995. - P.229- 258.*
24. *Seidegard J., Vorachek W.R., Pero R.W., Pearson W.R. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1988. - Vol.85. - P.7293-7297.*
25. *Zhong S., Wyllie A.H., Barnes D. et al. // Carcinogenesis. - 1993. - Vol.14. - N.9. - P.1821-1824.*

ONCOPATHOLOGY: THE GENES AND ENZYMES OF XENOBIOTIC-METABOLIZING SYSTEM.

Lyakhovich V.V., Vavilin V.A., Gutkina N.I., Laktionova I.P., Makarova S.I., Mitrofanov D.V., Ostashevsky V.A., Chasovnikova O.B.

Institute of Molecular Pathology and Ecological Biochemistry, SD RAMS, Novosibirsk.

The paper presents the results of study on polymorphisms of xenobiotic biotransformation enzymes (CYP1A1, glutathione S-transferase M1 and N-acetyltransferase 2) and p53 tumor suppressor protein in patients with lung, stomach and intestine cancer. The frequency of CYP1A1-Val allele in all studied cancer groups was 3 to 5 times higher than in healthy control group. The carriers of homozygous glutathione S-transferase M1 gene deletion and slow acetylator phenotype were also of higher lung cancer risk. The substantial increase in slow acetylator phenotype frequency was shown also in the group of intestine cancer patients. The p53 Arg/Pro polymorphism study revealed the elevated frequency of Arg allele in lung and stomach cancer groups. The risk of lung cancer for the carriers of susceptible alleles depended on the age and smoking status of the patients. The results testify to a high possibility of studied polymorphic genes to be the markers of susceptibility to oncopathologies.

Kew Words: oncopathology, gene polymorphism, xenobiotic biotransformation enzymes, markers