

УДК [577.151.53 + 577.151.54] : 616-006

©Коллектив авторов.

## **АКТИВНОСТЬ И ИНДУЦИРУЕМОСТЬ CYP2B, CYP2C И CYP3A В ТКАНИ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И УСТОЙЧИВЫХ К ДЕЙСТВИЮ ЦИКЛО- ФОСФАМИДА ОПУХОЛЕЙ И ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ.**

*А.Ю. Гришанова<sup>1</sup>, В.И. Каледин<sup>2</sup>, Т.В. Зуева<sup>1</sup>, Е.К. Нехорошкова<sup>1</sup>,  
В.П. Николин<sup>2</sup>, В.В. Ляхович<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>НИИ молекулярной биологии и биофизики СО РАМН, Новосибирск, 630117, ул. Тимакова, 2; тел/факс (3832)323147; эл.почта:agrish@cyber.ma.nsc.ru,

<sup>2</sup>НИИ цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 630090, ул. Лаврентьева, 10.

В микросомах лимфосаркомы мышей и печени мышей СВА с этой опухолью исследованы специфические активности трех семейств цитохрома P450 - CYP2B, CYP2C, ответственных за метаболическую активацию алкилирующего агента циклофосамида (ЦФ), и CYP3A, инактивирующего ЦФ. В работе использованы два штамма клеток лимфосаркомы мышей, различающихся по чувствительности к цитостатическому действию ЦФ, которые были перевиты мышам в мышцу бедра. Выявлена связь устойчивости лимфосаркомы к ЦФ с различиями в активности цитохрома P450 в опухоли. В опухоли, чувствительной к ЦФ (LS), активности CYP2B, CYP2C и CYP3A сравнимы с таковыми в печени и CYP2B и CYP2C индуцируются под действием фенобарбитала и дексаметазона. В опухоли, устойчивой к ЦФ (RLS), CYP2B и CYP2C неактивны и очень незначительно индуцируются под действием лишь дексаметазона, а активность CYP3A ниже, чем опухоли LS, и не изменяется под действием индукторов.

Исследование эффекта имплантации опухолей LS и RLS мышам на активность цитохромов P450 в печени показало, что наличие в организме опухоли может по-разному влиять на активность цитохромов P450 в печени в зависимости от того, устойчива или чувствительна опухоль к действию алкилирующего агента. Присутствие в организме чувствительной к ЦФ лимфосаркомы LS не вносит существенных изменений в активность CYP2B, CYP2C и CYP3A в печени и не изменяет их индуцируемость фенобарбиталом и дексаметазоном. В то же время, в печени мышей, которым перевита устойчивая к действию ЦФ лимфосаркома RLS, активности CYP2B и CYP2C существенно ниже (в 10 и 3 раза), чем в печени мышей без опухоли, а активность CYP3A не изменяется. При этом индуцируемость всех исследованных форм цитохрома P450 фенобарбиталом и дексаметазоном сохраняется, как и в печени мышей без опухоли. В целом результаты доказывают роль цитохромов P450, активирующих циклофосамид, в формировании фенотипа устойчивости лимфосаркомы мышей к противоопухолевому действию циклофосамида и предполагают возможность преодоления устойчивости опухоли с помощью индукторов цитохрома P450.

**Ключевые слова:** цитохромы P450, фенобарбитал, дексаметазон, циклофосамид, чувствительность и устойчивость, лимфосаркома, печень.

**ВВЕДЕНИЕ.** При терапии опухолей одни и те же химиопрепараты могут давать неодинаковые результаты. Источником различий эффективности терапии может быть как различная чувствительностью опухолей к противоопухолевым лекарствам, обусловленная белками множественной лекарственной устойчивости [1], так и неодинаковая судьба препарата в организме опухоленосителя, определяемая активирующими или инактивирующими его ферментами.

### ЦИТОХРОМ P450 И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ФОСФАМИДУ

Циклофосфамид (ЦФ) - один из наиболее широко применяющихся противоопухолевых алкилирующих соединений, приобретает активность в процессе метаболических превращений в организме [2] осуществляющихся, главным образом, системой ферментов микросомальных монооксигеназ, ассоциированных с цитохромами P450 [3] и конъюгирующими ферментами 2 фазы [4]. За метаболическую активацию ЦФ ответственны два семейства цитохромов P450 - CYP2B и CYP2C, катализирующие 4-гидроксилирование - первичную реакцию на пути активации ЦФ. При этом параллельно протекает N-дехлорэтилирование ЦФ - реакция его инактивации, катализируемая CYP3A [3]. Эти ферменты в ответ на некоторые воздействия могут значительно увеличивать свою активность (индуцироваться). Индукторами CYP2B и CYP3A, в частности, являются барбитураты и синтетические стероиды [5], на фоне которых в клинической практике при терапии опухолей больные получают противоопухолевые препараты.

Активирующие и инактивирующие этот химиопрепарат ферменты присутствуют как в печени, где главным образом локализованы монооксигеназы, так могут присутствовать и в опухоли [6] и, в той или иной степени, реагировать на действие индукторов. Экспрессия ферментов монооксигеназной системы в опухолях в зависимости от ее происхождения может быть либо существенно снижена, либо не отличаться от таковой в нормальной ткани [6]. Терапевтический эффект такого препарата, метаболизируемого цитохромами P450, может определяться балансом активностей тех и других ферментов опухоли и печени организма с опухолью.

Помимо непосредственного участия в метаболизме химиопрепарата, опухоль может оказывать репрессирующее влияние на активность метаболизирующих его ферментов в печени хозяина, как это было показано на мышцах с гепатомой [7], саркомой [8, 9]. Снижение же монооксигеназных активностей и содержания цитохрома P450 восстанавливалось индуктором 3-метилхолантеном [7, 8].

Настоящая работа посвящена исследованию *in vivo* лимфосаркомы мышей, первично индуцированной нитрозометилмочевинной, два штамма которой фенотипически различаются по чувствительности к противоопухолевому эффекту ЦФ - чувствительный и устойчивый. Для понимания механизма устойчивости лимфосаркомы к ЦФ охарактеризованы цитохромы P450, участвующие в метаболических превращениях ЦФ, в опухолях и печени у интактных мышей и индуцированных фенobarбиталом и дексаметазоном.

**МЕТОДИКА.** В работе использовались циклофосфамид, дексаметазон, эритромицин ("ICN", США), фенobarбитал ("Sigma", США), алкоксирезорусины ("Pierce Eurochemie", Голландия). Другие реактивы отечественного производства имели квалификацию "х.ч", "ч.д.а".

Опыты проведены на 54 мышцах-самцах линий СВА в возрасте 3-5 месяцев, полученных из вивария Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Животных содержали при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище.

В работе использованы чувствительная к действию ЦФ перевиваемая лимфосаркома LS, первично индуцированная у мыши линии СВА нитрозометилмочевинной [10], и ее резистентный вариант RLS.

Неодинаковая чувствительность к цитостатическому действию ЦФ опухолей LS и RLS была показана в экспериментах, направленных на выяснение лечебного эффекта цитостатика. Когда после имплантации опухолевых клеток мышам опухоль достигала в диаметре 1 - 1,5 см, то при лечении ЦФ в дозе 50 мг/кг и выше опухоли LS полностью регрессировали у 100% животных, тогда как рост опухоли RLS даже в дозе 200 мг/кг лишь тормозился у 36% животных.

Штаммы опухолей хранили замороженными. К условиям роста *in vivo* клетки адаптировали в течение 1 - 2 пассажей в асцитной форме, после чего использовали для перевивки экспериментальным животным. Опухолевые клетки (1 млн. на мышь) суспендировали в физиологическом растворе NaCl и трансплантировали в мышцы бедра в объеме 0,1 мл. Для работы использовали животных с опухолями 1 - 1,5 см в диаметре.

Индукцию ферментов осуществляли в/б введением фенobarбитала ("Fluka", Швейцария) или дексаметазон-21-фосфата ("ICN") в дозах 80 и 100 мг/кг

соответственно трижды через суточные интервалы. Мышей умерщвляли декапитацией через 24 часа после последнего введения индукторов. Микросомы печени и опухолей выделяли методом дифференциального центрифугирования [11].

Общее содержание цитохрома P450 определяли по спектру восстановленного дитионитом СО-связанного гемопротейна [12]. CYP3A-зависимую эритромицин-N-деметилазную активность [13] определяли по скорости образования формальдегида [14] из эритромицина при инкубации с микросомами (2 мг/мл) в течение 10 минут при 37°C. Кроме эритромицина (1 мМ), инкубационная среда содержала 50 мМ трис-HCl буфер (pH 7,4), 1,5 мМ NADPH, 150 мМ KCl и 10 мМ MgCl<sub>2</sub>. Активность О-деалкилаз пентоксирезорифина и бензилоксирезорифина, характеризующих активность CYP2B и CYP2B+2C соответственно [15], определяли по скорости образования резорифина [16]. Активность всех ферментов пересчитывали на 1 мг белка микросом, концентрацию которого определяли по методу Лоури [17].

Статистический анализ выполняли, используя программу Statistica, V. 5 (StatSoft.Inc.).

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** В табл. 1 представлены данные об общем содержании цитохромов P450 и об активности цитохромов P450, имеющих отношение к метаболическим превращениям ЦФ (подсемейств CYP2B, CYP2C и CYP3A), в микросомах лимфосаркомы, чувствительной (LS) и устойчивой (RLS) к действию ЦФ, а также об изменении этих параметров под влиянием классических индукторов CYP2B и CYP3A фенотербитала и дексаметазона.

Таблица 1. Общее содержание цитохрома P450 (нмоль/мг белка) и активности CYP2B1, CYP2C, CYP3A (пкмоль продукта/мин/мг белка) в микросомах чувствительных (LS) и устойчивых (RLS) к действию циклофосамида опухолевых клеток лимфосаркомы, привитой мышам СВА.

Опухоль	Контроль	Фенотербитал	Дексаметазон
<b>Содержание цитохрома P450</b>			
LS	0,017±0,001 <u>100</u> 100	0,032±0,002 <u>100</u> 188*	0,050±0,004 <u>100</u> 294*
RLS	0,030±0,009 <u>176*</u> 100	0,018±0,005 <u>56*</u> 60*	0,030±0,011 <u>60*</u> 100
<b>7-пентоксирезорифин-О-деалкилазная активность (CYP2B1)</b>			
LS	196±20 <u>100</u> 100	1345±135 <u>100</u> 686**	1614±151 <u>100</u> 823**
RLS	н.о	н.о	9,00±0,89 0,05**
<b>7-бензилоксирезорифин-О-деалкилазная активность (CYP2B1+CYP2C)</b>			
LS	198±71 <u>100</u> 100	927±366 <u>100</u> 468**	621±144 <u>100</u> 314**
RLS	н.о	н.о	55,5±25 8,9**
<b>Эритромицин-N-деметилазная активность (CYP3A)</b>			
LS	1340±12 <u>100</u> 100	960±60 <u>100</u> 72*	1330±10 <u>100</u> 99
RLS	980±70 <u>73*</u> 100	650±100 <u>68*</u> 66*	610±110 <u>46**</u> 62*

Примечание: Представлены средние значения (± ошибка средней) шести независимых экспериментов. Над чертой - изменение величин в % по отношению к значениям у мышей с опухолью LS, под чертой - по отношению к значениям у контрольных мышей. \* - p<0,05, \*\* - p<0,001. н.о - активность не определяется.

### ЦИТОХРОМ P450 И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ФОСФАМИДУ

Общее содержание цитохрома P450 в опухоли LS у интактных мышей ниже, чем в опухоли RLS, но в ответ на введение фенобарбитала и дексаметазона увеличивается в 1,9 и 2,9 раз соответственно. В отличие от этого, содержание цитохрома P450 в опухоли RLS под действием дексаметазона не изменяется, а при введении фенобарбитала почти вдвое снижается.

7-пентоксирезорифин-О-деалкилазная (ПРОД) активность, являющаяся маркерной для CYP2B1, и 7-бензилоксирезорифин-О-деалкилазная (БРОД) активность, характеризующая суммарную активность CYP2B1 и CYP2C [13], у интактных мышей в значительных количествах определяются в микросомах опухоли LS и не выявляются у RLS. Введение мышам фенобарбитала и дексаметазона приводит к увеличению в опухоли LS активности ПРОД в 6,9 и 8,2 раза, а БРОД - в 4,7 и 3,4 раза соответственно. В опухоли RLS низкие значения активностей этих ферментов начинают регистрироваться только под действием дексаметазона.

Эритромицин-N-деметиلاзная (ЭНД) активность, являющаяся маркерной для CYP3A, в опухоли LS при индукции дексаметазоном не увеличивается, а при индукции фенобарбиталом даже снижается. В опухоли RLS она на 30% ниже по сравнению с LS и примерно одинаково снижается в ответ на действие обоих индукторов.

В табл. 2 представлены данные об общем содержании цитохромов P450 и об активностях цитохромов P450 подсемейств CYP2B, CYP2C и CYP3A в микросомах печени мышей СВА с трансплантированными опухолевыми клетками лимфосаркомы, а также о влиянии на эти параметры фенобарбитала и дексаметазона.

Общее содержание цитохрома P450 в печени у мышей с опухолями значительно ниже, чем у животных без опухолей (в 3,8 раза - у мышей с опухолью LS и в 7 раз - у мышей с опухолью RLS), однако индукция P450 фенобарбиталом была отмечена в равной степени независимо от вида опухоли, и даже сильнее, чем у мышей без опухоли (хотя абсолютные значения содержания цитохрома P450 при этом ниже). Введение дексаметазона мышам с опухолями приводит к индукции цитохрома P450 лишь в печени мышей с опухолью RLS, у которых его содержание увеличивается в 1,9 раза, как и в печени мышей без опухоли.

Наличие опухоли в организме существенно, но по-разному, влияет на исходный уровень CYP2B1 в печени их носителей: у мышей с LS он повышен в 2 раза, а с RLS - почти на порядок снижен по сравнению с уровнем у мышей без опухоли. Такие же закономерности характеризуют и суммарную активность CYP2B1 и CYP2C (БРОД) с той только разницей, что их конститутивный уровень в печени носителей опухоли LS находится на уровне контроля, а у мышей с опухолью RLS - снижен лишь в 3,5 раза. При этом присутствие в организме как той, так и другой опухоли, существенно не влияет на индуцируемость CYP2B1 и CYP2C в печени животных фенобарбиталом или дексаметазоном.

Активность ЭНД в печени контрольных мышей с опухолями LS и RLS несколько выше, чем в печени контрольных мышей без опухоли. При индукции фенобарбиталом она в обоих случаях возрастает в такой же степени, как у мышей без опухоли, тогда как при индукции дексаметазоном у мышей с опухолью LS - на 40% меньше, а у мышей с опухолью RLS - в полтора раза больше, чем у мышей без опухоли.

Таким образом, исследованные лимфосаркомы мышей, различающиеся по чувствительности к цитостатическому действию ЦФ, отличаются между собой по содержанию общего цитохрома P450 и активности отдельных его форм, а также их индуцируемости фенобарбиталом и дексаметазоном. Также по-разному влияет присутствие в организме этих опухолей на содержание цитохрома P450 и активности форм в печени.

Во-первых, приобретение лимфосаркомой устойчивости к ЦФ не сопровождается снижением общего содержания P450, но ассоциировано с отсутствием активности CYP2B и CYP2C в опухоли и невозможностью

Таблица 2. Общее содержание цитохрома P450 (нмоль/мг белка) и активности CYP2B1, CYP2C, CYP3A (пкмоль продукта/мин/мг белка) в микросомах печени мышей СВА с трансплантированными опухолевыми клетками лимфосаркомы, чувствительными (LS) и устойчивыми (RLS) к действию циклофосфамида.

Наличие опухоли	Контроль	Фенобарбитал	Дексаметазон
<b>Содержание цитохрома P450</b>			
Без опухоли	0,99±0,07 <u>100</u> 100	2,12±0,15 <u>100</u> 214*	1,84±0,13 <u>100</u> 186*
LS	0,26±0,06 <u>26*</u> 100	0,90±0,29 <u>42*</u> 346*	0,31±0,17 <u>17*</u> 119
RLS	0,14±0,02 <u>14*</u> 100	0,49±0,11 <u>23*</u> 350**	0,27±0,11 <u>15*</u> 193*
<b>7-пентоксирезорурфин-О-деалкилазная активность (CYP2B1)</b>			
Без опухоли	169±15 <u>100</u> 100	2985±301 <u>100</u> 1766**	2440±240 <u>100</u> 1444**
LS	390±12 <u>230*</u> 100	2453±557 <u>82</u> 624**	2014±362 <u>83</u> 516**
RLS	19±7 <u>11**</u> 100	2282±979 <u>76</u> 12010**	1530±242 <u>63*</u> 8053**
<b>7-бензилоксирезорурфин-О-деалкилазная активность (CYP2B1+CYP2C)</b>			
Без опухоли	818±66 <u>100</u> 100	11088±979 <u>100</u> 1355**	5710±105 <u>100</u> 698**
LS	797±167 <u>97</u> 100	7758±2427 <u>70*</u> 973**	6412±1110 <u>112</u> 805**
RLS	228±62 <u>28**</u> 100	9275±2098 <u>84</u> 4068**	6784±1728 <u>119</u> 2975**
<b>Эритромицин-N-деметиلاзная активность (CYP3A)</b>			
Без опухоли	1360±180 <u>100</u> 100	3140±130 <u>100</u> 230*	3360±170 <u>100</u> 247*
LS	1530±110 <u>113</u> 100	3450±180 <u>110</u> 225*	3180±200 <u>95</u> 208*
RLS	1820±300 <u>134</u> 100	4200±200 <u>134*</u> 231*	6500±900 <u>194*</u> 357**

Примечание: Представлены средние значения (± ошибка средней) шести независимых экспериментов. Над чертой - изменение величин в % внутри группы по отношению к значениям у мышей без опухоли, под чертой - по отношению к значениям у контрольных мышей. \*- p<0,05, \*\* - p<0,001.

индуцировать эти ферменты фенобарбиталом, а также со снижением активности CYP3A и невозможностью индуцировать ее ни фенобарбиталом, ни дексаметазоном.

Во-вторых, присутствие любой из этих опухолей в организме приводит к снижению содержания цитохрома P450 в печени. Наличие опухоли LS у мышей

### ЦИТОХРОМ P450 И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ФОСФАМИДУ

препятствует возможности увеличения содержания P450 в печени под действием дексаметазона. Опухоль же RLS не препятствует действию фенобарбитала и дексаметазона на увеличение общего содержания P450 в печени.

В-третьих, присутствие в организме опухоли RLS значительно снижает исходную активность CYP2B и CYP2C в печени, но не мешает индуцирующему действию фенобарбитала и дексаметазона на их активность.

В нашей экспериментальной модели содержание микросом на грамм ткани в опухоли было соизмеримым с этим показателем в печени ( $5,5 \pm 1,1$  и  $8,1 \pm 0,5$  мг белка микросом на г ткани соответственно). Для характеристики метаболических возможностей организма с опухолью в целом мы суммировали значения показателей содержания и активности ферментов монооксигеназной системы печени и опухоли. На рис. 1 представлены такие данные о суммарном содержании цитохромов P450 и суммарных активностях CYP2B+CYP2C и CYP3A в печени и опухоли у intactных мышей с опухолями LS и RLS. Сравнение значений данных показателей, выраженных в процентах, выявляет у мышей с опухолью RLS сниженные показатели содержания P450 (на 40%) и активности CYP2B+CYP2C (на 80%). Активность CYP3A в тканях опухолей и печени мышей не различается по существу у мышей с опухолями LS и RLS. На рис. 2 представлены суммарные данные об активности CYP2B+CYP2C в печени и опухоли у intactных и индуцированных фенобарбиталом и дексаметазоном мышей с опухолями LS и RLS, которые демонстрируют, что разница в активности этих ферментов у мышей с опухолями LS и RLS устраняется под действием индукторов.

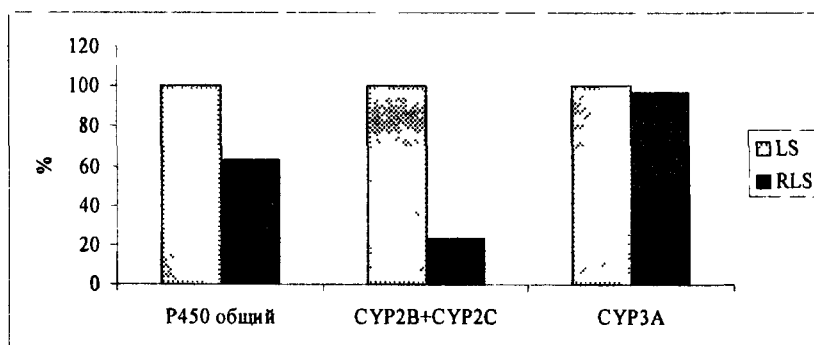


Рисунок 1.

Суммарное содержание цитохрома P450 и активности CYP2B+CYP2C и CYP3A в печени и опухоли у неиндуцированных мышей с опухолями LS и RLS

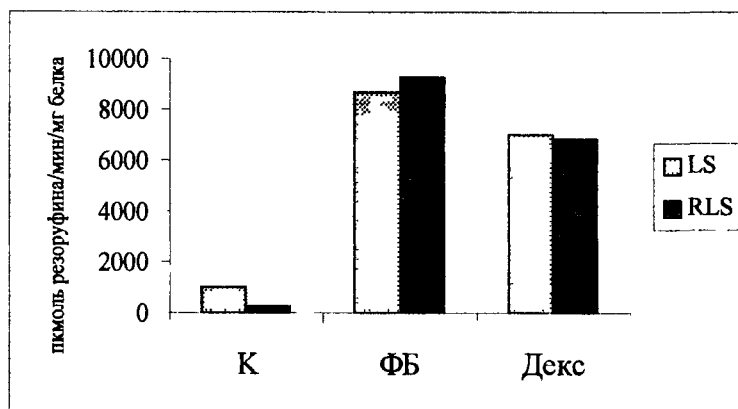


Рисунок 2.

Суммарная 7-бензилрезорифин-О-деалкилазная активность печени и опухоли у мышей с опухолями LS и RLS неиндуцированных (К) и индуцированных фенобарбиталом (ФБ) и дексаметазоном (Декс)

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что устойчивость опухоли RLS к ЦФ достигается не за счет усиленной инактивации препарата. Что касается активирующей ЦФ реакции, осуществляющейся у опухоленосителей совместным действием CYP2B и CYP2C опухолей и печени, то у мышей с опухолью RLS ее интенсивность почти в 4 раза снижена по сравнению с мышами, несущими опухоль LS. Следовательно, неодинаковая чувствительность этих опухолей к действию ЦФ может определяться именно различиями в скорости его 4-гидроксилирования в организме мышей с опухолями. Опухоль RLS неспособна к активирующим ЦФ реакциям сама и наличие ее в организме подавляет активацию ЦФ в печени. Выяснение механизма этого подавления может быть актуальным, поскольку обусловленная подобным образом устойчивость к действию химиопрепаратов может быть характерна и для опухолей у человека.

В отличие от ситуаций, когда нечувствительность к химиотерапии обусловлена генами множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток, в данном случае устойчивость опухоли к лекарству может преодолеваться с помощью индукторов цитохрома P450 - фенобарбитала и дексаметазона, которые в клинической практике при терапии опухолей больные получают вместе с противоопухолевыми препаратами. Можно ожидать, что у мышей, подвергнутых действию индукторов, опухоль RLS должна оказаться так же чувствительной к циклофосфамиду, как и опухоль LS. Это предположение будет проверено в дальнейшем.

Работа поддержана грантами РФФИ (№ 99-04-49937) и Фонда Министерства образования РФ "Фундаментальные исследования в области естественных наук" (№ ЕОО - 6.0 - 90)

## ЛИТЕРАТУРА.

1. Krishna R., Mayer L.D. (2000) Eur. J. Pharm. Sci., **11**, 265-283.
2. Suling W.J., Struck R.F., Woolley C.W., Shannon W.M. (1978) Cancer Treat. Rep., **62**, 1321-1328.
3. Yu L., Waxman D.J. (1996) Drug Metab. Dispos., **24**, 1254-1262.
4. Chen G., Waxman D.J. (1995) Biochem. Pharmacol., **9**, 1691-1701.
5. Denison M.S., Whitlock J.P. (1995) **270**, 18175-18178.
6. Murray G.I., Melvin W.T., Burke M.D. (1995) J. Pathol., **176**, 323-324.
7. Якубовская М.Г., Белицкий Г.А. (1989) Вопр. онкологии, **35**, 1461-1464.
8. Bertini R., Gervasi P.G., Longo V., Ghezzi P. (1992) Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., **76**, 223-231.
9. Saraswathi V., Mathuram V., Subramanian S., Govindasamy S. (1999) Cancer Biochem. Biophys., **17**, 79-88.
10. Каледин В.И., Николин В.П., Агеева Т.А., Тимофеева О.А., Филипенко М.Л., Морозкова Т.С., Попова Н.А., Баймак Т.И. (2000) Вопр. онкологии, **46**, 588-593.
11. Tata J.R. (1969) Subcellular Components, Burnie G.D., Fox S.M. Eds., London, Butterworths, pp.83-107.
12. Omura T., Sato R. (1964). J. Biol. Chem., **230**, 2370-2373.
13. Bornheim L.M., Correia M.A. (1990) Mol. Pharmacol., **38**, 319-326.
14. Nash T. (1953). Biochem.J., **55**, 416-421.
15. Weaver R.J., Thompson S., Smith G., Dickins M., Elcombe C.R., Mayer R.T., Burke M.D. (1994) Biochem. Pharmacol., **47**, 763-773.
16. Burke M.D., Thomson S., Elcombe C.R., Halpert J., Haaparanta T., Mayer R.T. (1985). Biochem. Pharmacol., **34**, 3337-3345.
17. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951) J. Biol. Chem., **193**, 265-275.

Поступила 25.10.01.

**CYP2B, CYP2C AND CYP3A ACTIVITY AND INDUCIBILITY IN TISSUE OF SENSITIVE AND RESISTANCE TO CYCLOPHOSPHAMIDE TUMORS AND LIVER OF TUMOR-BEARING MICE.**

**A.Y. Grishanova<sup>1</sup>, V.I. Kaledin<sup>2</sup>, T.V. Zueva<sup>1</sup>, E.K. Nehoroshkova<sup>1</sup>, V.P. Nikolin<sup>2</sup>, V.V. Lyakhovich<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Molecular Biology and Biophysics, Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences, Timakova str., 2, Novosibirsk, 630117, Russia;  
tel/fax (3832)323147, e-mail:agrish@cyber.ma.nsc.ru,

<sup>2</sup> Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Lavrentieva str., 10, Novosibirsk, 630090, Russia.

The activities of three cytochrome P450 families involved in metabolic transformation of cyclophosphamide (CP) (CYP2B and CYP2C responsible for metabolic activation of CP and CYP3A responsible for inactivation of CP) have been investigated in lymphosarcoma and liver microsomes of tumor-bearing CBA mice. Two strains of mouse lymphosarcoma distinguished by their sensitivity to cytostatic action of CP were used in this study for implantation in mice femur muscle. There was certain relationship between CP resistance of lymphosarcoma and tumor P450s activity. CYP2B, CYP2C and CYP3A activities in the CP sensitive tumor were comparable to those in liver, and CYP2B, CYP2C were induced by phenobarbital and dexamethasone. CYP2B and CYP2C in the CP resistant tumor were inactive and only slightly induced by dexamethasone. CYP3A activity was lower than in LS tumor and unchanged during drug treatment.

Implantation of LS and RLS tumor in mice caused different effects on P450 activities. LS insignificantly influenced liver CYP2B, CYP2C and CYP3A activities and their inducibility by phenobarbital and dexamethasone was similar to that obtained in liver of mice without tumor. At the same time, CYP2B and CYP2C activity in liver of RLS-bearing mice were essentially reduced, the activity CYP3A remained unchanged, and inducibility of CYP2B, CYP2C and CYP3A by phenobarbital and dexamethasone was similar to that in liver of mice without tumor. These results prove the role of cytochromes P450 activating CP in formation drug resistant phenotype of mice lymphosarcoma and suggest possibility of overcoming of this resistance using cytochrome P450 inducers.

**Key words:** cytochrome P450, phenobarbital, dexamethazone, cyclophosphamide, sensitivity and resistance, lymphosarcoma, liver.