

О.А.Яковлева, А.И.Косован, О.В.Дякова, В.В.Царук

## ГЕНОТИПИЧЕСКИЙ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ N-АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗ В РОЛИ ПРЕДИКТОРОВ БРОНХОЛЕГОЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Винницкий государственный медуниверситет, Украина

Ферментативная метаболическая инактивация эндо- и экзогенных соединений — наиболее древний из всех способов защиты по сравнению с иммунологическим контролем и ограничительной ролью воспаления. Детоксикация химических загрязнителей из внешней среды так же, как и разрушение эндогенных активных биомолекул, осуществляется ферментами биотрансформации ксенобиотиков: в 1-й фазе — преимущественно семействами цитохромов CYP450, во 2-й фазе — с участием ферментов конъюгации, таких как изоформы глутатион-S-трансфераз (*GST*), глюкуронилтрансфераз, N-ацетилтрансфераз (*NAT*) и сульфотрансфераз. Новые технологии молекулярной биологии позволили уже к 1993 г. идентифицировать на эволюционном дереве более чем 150 генов цитохромов в микросомальной окислительной системе, причем около 30 из них являются общими для всех млекопитающих [24].

Быстро, "драматически" развивающиеся представления о молекулярных механизмах различной чувствительности к средовым факторам в сочетании с наследственным полиморфизмом предрасположенности позволяют считать роль этих ферментов судьбоносной для отдельных индивидов. Значительный прогресс за последние 15 лет достигнут в изучении ариламин-N-ацетилтрансфераз (EC2.3.1.5). Они кодируются в двух локусах (AAC-1 и AAC-2) на человеческой 8-й хромосоме [27,39]. *NAT* для про- и эукариотов классифицируются в соответствии с международными правилами генетической номенклатуры, где локус обозначается арабскими цифрами, аллели — латинскими, отделенными от локуса гена звездочкой [55].

Генетический контроль активности *NAT* отличается в разных популяциях. Так, в Японии на основе методов генотипирования — полимеразной цепной реакции (*PCR*) и полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (*RFLP*) — описаны 4 типа генов для ее полиморфизма: ген 1 — обеспечивает высокую активность фермента (быстрый тип), гены 2, 3 и 4 — низкую, где точки мутации приводят к потере ограничительных сайтов: *Bam*HI — для гена 2, *Taq*I — для гена 3 и *Kpn*I — для гена 4, вследствие их деградации соответствующими эндонуклеазами [21]. Ген, кодирующий образование *NAT1*, не имеет классического ацетиляторного полиморфизма, в то время как ген

*NAT2* формирует полиморфную N-ацетил-трансферазу, обеспечивающую быстрый, медленный и промежуточный аутосомно-рецессивно наследуемые фенотипы ацетиляторов. Эти фенотипы ассоциируются с различной степенью восприимчивости в "целевых" органах к химическим токсикантам или канцерогенезу [26]. Молекулярное строение ферментов ацетилирования еще не расшифровано полностью. Человеческая *NAT1* состоит из 290 аминокислот, ацетилюет ариламины с ацетил-КоА, используя меченый ацетил КоА как субстрат; 204 аминокислоты формируют с ним ацетилированные интермедиаты [52].

Спектр ферментативной активности *NAT* включает ацетилирование ариламинов как главный метаболический путь для многочисленных лекарственных средств и канцерогенов, предположительно эти же ферменты ответственны за N,O-трансацетилирование и O-ацетилирование. *NAT1* кодируется для белка с тканевым распределением, высоким сродством к р-аминобензойной кислоте как мономорфному субстрату, *NAT2* кодируется как белок, преимущественно экспрессируемый в печени, с высоким сродством к сульфаметазину или другим полиморфно метаболизируемым лекарственным средствам. Идентифицированы два частых (M1, M2) и редкий (M3) мутантные аллели, которые в 95% случаях при тестировании в *PCR* являются предикторами фенотипа [39].

Расовые различия в достаточной степени определяют уровень популяционных особенностей активности *NAT* в разных странах для европеоидного, монголоидного и негроидного населения. Для европейского региона более типично приблизительно равное распределение быстрых и медленных ацетиляторов. В Испании частота медленных ацетиляторов колеблется от 53–55% среди здорового населения [9] до 65,4% [16], во Франции среди французских кавказцев — 61,3% [45]; у польских детей — 56,6–68,9% [40]; частота их нарастает в желтой или черной расах: в Кении — 69,9% против 30,4% быстрых у больных с гипертензией [46], в иранской популяции — 78,4% [51], что соответствует вариациям в арабских странах, но выше, чем у европейцев; однако в двух египетских оазисах 73% оказались быстрыми ацетиляторами среди 1315 мужчин, а частота медленных ацетиляторов коррелировала с высокой частотой дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [31].

Более детальное сопоставление фенотипа ацетилирования с генотипом позволяет выявлять выраженную индивидуальную вариабельность [12,19]. Так, при анализе 1008 хромосом здоровых испанцев было описано 17 аллельных вариантов *NAT2* гена, из них три встречались наиболее часто: *NAT2\*5B* — 41,6%, *NAT2\*6A* — 23,6% и *NAT2\*4* — 21,6%, остальные — с частотой от 0,2 до 2,5%, гено- и фенотип совпадали в 97,5%. У австралийских западных аборигенов фенотипы распределялись подобно азиатским в соответствии с генотипом в 100%, но у больных лепрой наблюдались значительные отличия в мутантных аллелях M1, M2 и M3 (с частотой последнего до 40%, что выше любой этнической популяции) [33].

Исследования с применением различных лекарственных маркеров для оценки вариантов метаболизма позволяют предполагать, что внутриэтническая вариабельность более выражена, чем межэтнические отличия [61], корреляции гено- и фенотипа должны рассматриваться как дополняющие друг друга исследования [49]. Наиболее частые аллели среди медленных ацетиляторов встречаются у чернокожих, белых, индийцев, корейцев, китайцев, японцев, тайванцев, филиппинцев, гонконгцев, самоанцев (191A, 481T, 590A, M4, M4в, M1 и r3, M2/r2 и M3, S3), поэтому авторы считают, что ацетиляторный полиморфизм существовал прежде палеолитического раскола человеческих поселений из Африки [35].

В научных данных об эволюционно сложившихся биологических закономерностях инфекционного процесса, освещенных через призму достижений микробиологии, достаточно представлено многообразие микромира, но гораздо меньше внимания уделяется индивидуальным ответам макроорганизма. Если за иммунологией в этих подходах сохраняется приоритет и доминирующая роль, то создание концепций о роли систем детоксикации во взаимодействии с этим микромиром как в индивидуальном, так и в популяционном преломлении еще находится на этапе информационного накопления. Между тем уже формируется базис данных о причастности ферментативных систем защиты к развитию инфекционного процесса — от самого периода его инициации до характера и степени его выраженности, включая прогноз и течение.

Наиболее убедительно, на наш взгляд, звучат такие утверждения при изучении детского организма, еще не разбалансированного последующими средовыми и профессиональными влияниями и отражающего преимущественно наследственные механизмы восприимчивости. При оценке роли вирусно-бактериальных ассоциаций в формировании бронхолегочных заболеваний в НИИ детских инфекций (СПб) установлено, что дети с быстрым ацетиляторным фенотипом практически не болели тяжелыми формами пневмонии, осложняющей ОРВИ, преобладало моновирусное инфицирование (высоковирулентный вирус гриппа А), в то время как у медленных ацетиляторов имелись вирусные ассоциации, грипп В и другие ОРВИ. У детей с активностью *NAT* ниже 20% брон-

хит имел чисто пневмококковую этиологию, при более высоком уровне ее активности наблюдались микробные ассоциации (пневмококк+стафилококк, гемофильная палочка, клебсиелла и др.); возможно, что дети с более высоким наследственно обусловленным уровнем *NAT* более устойчивы к инфекции и заболевают при более инвазивных, вирулентных или сочетанных вариантах инфицирования [2].

Несомненно, что и течение муковисцидоза может определяться уровнем метаболической защиты. У 6 больных муковисцидозом (Сиэтл, 1994) при исследовании кинетики ацетилирования в лимфоцитах с ее сопоставлением с активностью крови, лизата эритроцитов и периферических мононуклеаров она оказалась достоверно выше контроля, причем наблюдалась высокая корреляционная связь ( $r=0,80$ ) с ацетилированием сульфаметоксазола [32]. На уровне целостного организма возможны отличающиеся результаты: в Канаде у 12 детей с муковисцидозом (5–11 лет) метаболиты в моче кофеина как модельного препарата с изученным спектром метаболитов, оценивались ВЭЖХ в сопоставлении с образцами крови, мутантными аллелями. При этом не было выявлено различий в активности *CYP 1A2*, *NAT* и 8-гидроксилазы, однако активность ксантинооксидазы была достоверно повышена у 9 из 12 детей против 1 из 12 здоровых добровольцев, что предопределяет межиндивидуальную устойчивость к свободнорадикальным повреждениям и подтверждает избирательное повреждение ферментов печени при муковисцидозе [25]. Сопоставление с более значительной популяционной выборкой (480 здоровых добровольцев-кавказцев) скорости N-ацетилирования у 59 больных муковисцидозом в Южной Каролине показало, что она была достоверно сниженной при оценке ее по уровню мочевых метаболитов кофеина, в то время как не выявлено различий в частоте медленных метаболитаторов по *CYP 2D6* против контроля, также как и для активности ксантинооксидазы, т.е. из трех ферментативных систем метаболизма изменения выявлены именно для ацетилирования [14].

В иммунологическом центре в Сиднее при обследовании 28 ВИЧ-инфицированных пациентов 71% из них оказались медленными ацетиляторами, 29% — быстрыми против 52% медленных в контрольной группе. Среди ВИЧ-инфицированных и страдающих гиперчувствительностью к триметоприм-сульфаметоксазолу с кожными проявлениями (16 больных) частота медленных ацетиляторов возросла до 94%, хотя только 42% медленного фенотипа встречались у длительно получающих препарат, но без гиперчувствительности ( $p<0,01$ ) [15]. В европейской же популяции (Базель) при 96% совпадении двух методов (*PCR* и *RFLP*) оценки генотипа и фенотипа частота медленных ацетиляторов у 50 ВИЧ-инфицированных на ранних стадиях составляла 64%, не отличаясь от таковой по распределению в белой популяции, но она также ассоциировалась с побочными реакциями к сульфаниламидам у 8 из 10 пациентов, хотя ацетилирующая способность не

коррелировала с индексом CD4/CD8-клеток [34]. Более чем десятикратное превышение непереносимости сульфаниламидов при ВИЧ-инфицировании проявляется двумя вариантами: ранней IgE-зависимой реакцией с отеком и уртикариями или поздней — между 6-м и 12-м днями лечения, чаще с лихорадкой, что может быть обусловлено повышением частоты медленных ацетиляторов среди больных [38].

Давно замеченные неоднозначные реакции восприимчивости к химическим агентам, при повышенной чувствительности описываемые как идиосинкразия, сегодня считают устаревшим понятием, так как эти годы принесли понимание факторов, контролирующей переносимость химических веществ, а молекулярный базис этой различной чувствительности был определен за счет разной активности и индуцируемости ферментов метаболизма химических токсикантов или лекарственных средств с последующим глубоким влиянием на межметаболитные или индивидуальные проявления токсичности [13].

Если древнейшие метаболические системы детоксикации недостаточно активны, можно ожидать, что токсические метаболиты не только непосредственно оказывают нежелательные воздействия, но они могут становиться раздражителями и для иммунных систем защиты, способствуя развитию тяжелых аллергических или иммунологических синдромов. Все же степень снижения активности NAT при различных аллергиях малоизучена как в разных популяциях, так и при разных нозологиях. Однако и отдельные примеры убедительно доказывают значительную роль вариабельности ацелирования в утяжелении этих синдромов. Так, в Германии установлено, что все больные с синдромом Стивенса–Джонсона, или токсическим эпидермальным некролизом, имели низкую NAT-активность: 0,85 нмоль/мг/мин против 2,21 нмоль/мг/мин в контроле ( $p < 0,05$ ), причем эти данные получены при оценке NAT-активности в клетках корней волос и их гомогенатов с 2-аминофлюореном как субстратом [33].

В формировании тяжелых аллергических реакций на фоне низкой активности NAT могут быть повинны не только непосредственно этиологические (провоцирующие) факторы, но они еще усугубляются и нарушением обезвреживания медиаторов аллергии путем ацелирования, которому в физиологических условиях подвергаются гистамин, серотонин. Даже если ацелирование компенсаторно увеличивается, оно может не обеспечить достаточный уровень защиты: у 9 пациентов с анафилактическим шоком концентрации мочевых лейкотриенов (LTE<sub>4</sub>) и ацелированных LTE<sub>4</sub> были значительно повышены, нормализуясь за 3–11 дней [22]. Обезвреживание ЛТ, наиболее существенных медиаторов аллергии, может еще в большей мере снижаться при нарушении функции печени, где и должна происходить значительная доля их инактивации. При экспериментальном, индуцированном тиацетамидом, макронодулярном циррозе печени у крыс деградация LTE<sub>4</sub> в

изолированных гепатоцитах путем его N-ацелирования была значительно замедлена, а уровень гидроксилирования ЛТВ<sub>4</sub> снижался на 50%, при сохранном уровне элиминации ЛТС<sub>4</sub>, в то время как перевязка желчных протоков не влияла на активность ферментов [20].

Во взаимодействии местных и системных уровней регуляции принимает участие и мозговой пул серотонина с вовлечением в адаптацию нервной, сосудистой и дыхательной систем в их соподчинении циркадианным биоритмам. Серотонин-N-ацетилтрансфераза (ЕС 2.3.1.87) участвует в предпоследнем этапе синтеза мелатонина, контролируется биоритмом его ночь/день продукции в пинеальной железе, ее ген у человека имеет длину около 2,5 Кв, содержит 4 экзона и локализован на хромосоме 17q25, ею высоконасыщена пинеальная железа. Она также представлена в ретине, регионах мозга и в периферических тканях в разных уровнях, определяя в мозге и железе серотонинзависимые функции через адренергические влияния и цАМФ, а различия концентрации в зависимости от циркадианного ритма могут достигать 150-кратных изменений [54].

Однако при селективной стимуляции некоторых печеночных ферментов в условиях экспериментально повышенной физической активности у крыс активность NAT даже на фоне печеночной гипертрофии не повышалась (к р-аминобензойной кислоте, 2-нафтиламину, 2-аминофлюорену) [62]. Глюкортикоиды способны умеренно индуцировать повышение активности NAT в печени кроликов и крыс, у последних — на 30, 29 и 18% от преднизолона, дексаметазона и гидрокортизона соответственно в результате 10-дневного предшествующего их применения [63]. Некоторое влияние на повышение скорости ацелирования, особенно у медленных ацелиляторов, оказывают субстраты, участвующие в образовании ацетил КоА — пантотеновой или пировиноградной кислот [1,30].

Исключительно важное практическое значение приобретают системы детоксикации в патогенезе бронхообструктивного синдрома с позиций его формирования и прогноза течения. Уже в детском возрасте тяжелое течение и трансформация в бронхиальную астму взрослых обусловлены сочетанием медленного фенотипа ацелирования, антигенов В(III) группы крови, ММ и Нр 2–2-маркеров, против быстрого генотипа, А(11), МN, Нр 2–1-маркеров у 300 детей, наблюдаемых на протяжении 15 лет [36]. У взрослых больных ХОБ значительное снижение активности NAT2 менее 20% встречалось в 1,5 раза чаще, чем у здоровых или больных ХНБ [4]. Но при оценке полиморфизма NAT с интервалами активности 0–29, 30–49 и 50% и выше в соответствии с медленным, промежуточным и быстрым фенотипами у 46 больных ХОБЛ и 233 их родственников преобладали быстрые ацелиляторы за счет тяжелых форм болезни [3]. При бронхиальной астме у 48 коренных жителей Санкт-Петербурга 83,3% отнесены к мед-

ленным ацетиляторам с активностью *NAT* менее 50% против 66,5% в контроле, с преимущественным расположением активности в диапазонах 10–19 и 50–59% [7].

Стрептоцид как тест-препарат редко используется, так как он не имеет бимодального распределения (ацетируется *NAT1*) в популяции, однако при тестировании больных БА легкой и средней степени тяжести нами отмечена более высокая скорость его ацетилирования: прирост этого метаболита в моче за 0–6, 7–12 и 13–24 ч превышал контрольную группу в 1,5–2 раза, нарастая до 347,1 и 496,4%, но при тяжелом течении БА темп прироста скорости ацетилирования был значительно ниже (в аналогичных интервалах времени 7–12, 1–24 ч) — только 167 и 226%, что может означать негативное влияние тяжелой обструкции и более старшего возраста у этих больных на ферментативные реакции при БА [8]. В нашей же подольской популяции у здоровых лиц тестирование с сульфаниламидами показало: при бимодальном распределении по экскреции с мочой более 70% ацетилированного сульфаниламида за 0–6 ч из 210 тестируемых (средний возраст  $22 \pm 0,5$  года) 58,1% соответствовали медленным ацетиляторам, 41,9% — быстрым, при избытке массы тела более 20% должной наблюдалась тенденция к преобладанию медленных ацетиляторов.

Индивидуальная повышенная восприимчивость к влиянию пылевых профессиональных аггессоров при формировании пневмокониозов давно отмечена эмпирическими наблюдениями, которые позволяли нам считать заболевших лиц особой когортой, “просеянной” через сито наследственной уязвимости, однако молекулярные механизмы, кроме свободнорадикальной теории патогенеза, оставались неизвестными.

При сравнительном исследовании 145 финских рабочих на производстве асбестовых изоляторов с высоким уровнем экспозиции, из которых 69 не имели легочных поражений (контрольная группа), 24 — имели злокачественную мезотелиому, 52 — легочный или плевральный асбестоз, было установлено: риск развития асбестозависимых поражений легких не был достоверно связан с отсутствием гомозиготных *GSTM1* или *GSTT1-null* генов. Наоборот, риск незлокачественного асбестоза и злокачественного поражения легких при медленном генотипе ацетилирования был более чем вдвое выше (2,3 раза), чем при быстрым *NAT2*-генотипе, причем риск мезотелиомы для медленных ацетиляторов возрастал в 3,8 раза. Более того, для индивидуумов, имеющих сочетание дефицита гена *GSTM1* и обладателей гена медленного ацетилирования, риск поражений злокачественного и незлокачественного характера увеличивался в 5,1 раза, против имеющих сочетание *GSTM1*-гена с быстрым ацетилированием (для незлокачественного асбестоза возрастание риска до 4,1 раза, для мезотелиомы — 7,8 раза). Следовательно, двойной генотипический риск более опасен, и при высокой экспозиции асбеста индивидуиды с гомозиготным дефектным геном *GSTM1*

в сочетании с генотипом медленных ацетиляторов обладают повышенной чувствительностью к асбестозависимым поражениям легких [28]. Эти же группы наследственных ферментов определяют и различное течение легочного бериллиоза [59].

У 47 шведских некурящих водителей автобусов, контактирующих с дизельным топливом, частота медленных ацетиляторов оценивалась в сопоставлении с уровнем аддуктов ДНК (по меченому  $^{32}P$ ), которые оказались значительно и достоверно повышены, особенно у 16 из них с максимальной экспозицией токсиканта, также как и возросшая мутантная частота в гене гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы у них же. Среди медленных ацетиляторов повышение уровня аддуктов достоверно выше у индивидов с отрицательным вариантом *GSTM1* по сравнению с *GSTM1*-положительными, что усиливает негативную роль сочетанных (*GSTM1* и *NAT2*) вариаций [39].

Используя химическую модификацию с ацетилированием (по аналогии с модифицированными ацетилированными липопротеидами) как инструмент для изучения молекулярных механизмов действия медиаторов или клеточно-рецепторных взаимодействий показано, что ацетилирование лизиновых сайтов или аминокислотных терминалей изменяет вазоконстрикторную активность эндотелина-1 в перфузируемых легких или в препарированных сосудах [36]; модификация ацетилированием пептидов в антителосвязывающих сайтах с учетом того, что, аминокислотные группы пептидов высокочувствительны к ацетилированию может быть использована для картирования взаимодействия антиген — антитело [60]. Такие экспериментальные подходы, по-видимому, могли бы способствовать выяснению более тонких механизмов непосредственных путей реализации влияния различной скорости ферментативной детоксикации на патофизиологические, иммунологические, гемодинамические и клинические синдромы в пульмонологии.

Несомненную актуальность приобретают проблемы ферментативной детоксикации применительно к развитию рака легких. Токсикология химического канцерогенеза, мута- и тератогенеза, инициаторами исследования которой считают Джеймса и Элизабет Миллер, объединяет сочетанные влияния генетических маркерных ферментов и образа жизни, диету и экологию на обеспечение детоксикации [43,50,57]. Наблюдается быстрое внедрение в изучение проблем рака определения фенотипов ферментов. Однако исследователи эпидемиологии рака в Италии считают, что отношение к этическим проблемам скринингового тестирования и предсказание у еще бессимптомных лиц риска рака неоднозначно: оно может быть связано с проблемами трудоустройства, страхования, выдачи кредита. Поэтому адресовать исследователям такие предсказания еще рано, учитывая существование различной степени выраженности генотипических различий ферментов, а генетическое скринирование рабочих на предрасположенность к раку кажется этически неприемлемым [57]. Исследователи

в США все же считают, что генетические различия в регуляции, экспрессии и активности генов, кодирующих I и II фазы ферментативного метаболизма, могут быть решающими среди причин канцерогенеза или, наоборот, лимитирующими ограничителями канцерогенной силы химических экологических аггессоров. Если такие исследования с определением эквивалентных биомаркеров генетической чувствительности к раку и токсикантам будут успешно развиваться, то идентификация индивидуального риска будет очень полезной для превентивной медицины [41].

Действительно, еще в 1992 г. исследователи из Торино [51] сомневались, достаточно ли данных, чтобы ассоциировать фенотип метаболизма дебризохина (CYP2D6 и 11D6) с риском развития рака легкого или фенотип ацетилирования — с раком мочевого пузыря, считая, что эти эпидемиологические доказательства еще проблематичны и завуалированы "путающими" факторами. Между тем различия в полиморфизме ацетилирования могут проследиваться даже на небольшой группе наблюдений: значительное преобладание медленных ацетиляторов (тест с сульфаниламидом) было замечено в Познани при сравнении 30 больных раком легких и 30 здоровых лиц [18]. Нивелирование "вуалирующих" факторов достигается более детальным исследованием генотипа: сопоставление 389 больных раком легкого и 657 лиц контрольной группы в Берлине (по кофейному тесту) не выявило достоверных различий между ацетиляторами (коэффициент риска 1,05). Однако при анализе генотипа у 155 больных раком легкого в сравнении с 310 неродственными пациентами и 278 здоровыми добровольцами методами *PCR-RFLP* определяли расположение нуклеотидов 191, 282, 341, 48 из 341. Генотипы быстрых ацетиляторов составили 43,9% среди больных раком легкого из 41,6% среди других пациентов, но распределение аллелей *NAT2\*4/\*4*-генотипа достоверно увеличивало риск в 2,36 раза, а зависимость от пола, возраста, курения при регрессионном анализе увеличивала риск до 3,04 раза. Таким образом, носители *NAT2\*4/\*4*-генотипа при его высокой ацетилирующей способности имеют достоверно повышенный риск рака легкого [17].

При подтверждении полного соответствия фенотипа и генотипирования *NAT* могут иметь значения и другие группы ферментов детоксикации: у 79 больных раком легкого выделено три фенотипа медленных метаболизаторов дебризохина (CYP2D6 и 11D6) [48]. В Испании у 108 пациентов с гистологически доказанным бронхогенным раком и у 243 здоровых лиц идентифицированы 14 мутантных аллеля гена *NAT2* методом *PCR*; при отсутствии преобладания медленных ацетиляторов частота мутантных аллелей была выше при карциноме: достоверно преобладали варианты аллелей 590A и 341C + 481T + 803G при аденокарциноме, плоскоклеточном и мелкоклеточном раке легкого. У пациентов с медленным гомозиготным вариантом ацетилирования и аллелем 341

риск развития рака возрастает в 1,75 раза, поэтому авторы заключают, что не ацетиляторный статус является главным в риске рака легкого, а присутствие 341 аллели в полиморфном *NAT2*-гене [37]. В Японии у 124 больных немелкоклеточным раком легкого и 376 контрольных лиц генотип медленных ацетиляторов выявлен у 14% больных против 11% в контроле, относительный риск медленных (против быстрых) ацетиляторов при аденокарциноме составлял 2,01 ( $p=0,05$ ), однако эта тенденция возрастала у пациентов старше 65 лет — риск увеличился до 2,7 ( $p=0,03$ ). Не было найдено такой тенденции у больных с плоскоклеточным раком и не установлено значительной ассоциации между мутациями гена *p53* и полиморфизмом ацетилирования при немелкоклеточном раке. Однако пациенты старше 65 лет включали 65% медленных ацетиляторов (в сфере действия *p53*) при аденокарциноме против 38% быстрых или промежуточных, что не исключает возможности нарушения метаболизма канцерогенов у медленных ацетиляторов, предрасполагающих к индивидуальной *p53* генной мутации [44].

Проблема выявления генетических предикторов рака легкого постоянно расширяется, с одной стороны, благодаря изучению ряда ферментативных систем, вовлеченных в детоксикацию, с другой — за счет соотношения их с фоновыми влияниями — профессиональными, средовыми, бытовыми (курение, диета) в различных этнических популяциях. Все это многообразие различий в индивидуальных сочетаниях и дисбаланс между активационным и детоксикационным метаболизмом значительно усложняет решение этой проблемы [43].

С точки зрения поиска биомаркеров чувствительности к канцерогенезу в Испании у 51 курильщика и 30 некурящих исследовали фенотипы ацетилирования и гидроксирования: уровень потребления табака, но не его тип, больше ассоциировался с выделением активированных электрофильных метаболитов с мочой (UT и MI-S9), однако соотношения категорий медленный ацетилятор — быстрый окислитель против быстрый ацетилятор — быстрый окислитель не отличались существенно по уровням мочевых метаболитов, возможно, из-за недостаточной специфичности этих маркеров [53]. Тем не менее среди канцерогенов табачного дыма нитрозамины через активацию цитохромами могут способствовать легочному канцерогенезу; наиболее драматичными описывают сочетания генотипов *CYP1A1* и *GSTM1* [43], риск развития рака легкого в субпопуляции, обладающей одновременно этими генотипами, может возрасть в 40 раз [47]. С позиций генетических модификаторов риска рака обсуждается и роль фенотипов CYP2D6 и 2E1 [47,58]. Повышенный риск рака легкого у носителей генотипа *GSTM1-null* и медленных ацетиляторов подтвержден в Новосибирске [5].

Хотя активность *NAT2* жестко детерминирована и не зависит от пола, некоторые отклонения, вероят-

но, допустимы в связи с возрастными или другими метаболическими факторами, а взаимосвязь курения с предрасположенностью к опухолям внелегочной локализации также привлекает исследователей. У 304 пациенток с раком молочной железы и 327 контрольных лиц ни курение, ни наличие опухоли не были непосредственно связаны с фенотипом NAT2, однако у постменопаузальных женщин NAT2 сильно модифицировано ассоциировалось с курением и риском рака: для медленных ацетиляторов и курящих риск рака молочной железы возрастал дозозависимо, наоборот, среди быстрых ацетиляторов курение не было связано с риском рака. Очевидно, что постменопаузальные женщины могут проявлять гетерогенный ответ на канцерогенные воздействия, курение становится для них важным фактором риска рака молочной железы [10].

Поиски более чувствительных прогностических предикторов канцерогенеза на фоне значительной межиндивидуальной вариабельности ферментных систем детоксикации нацеливает на использование в качестве предикторов восприимчивости к раку промутагенных ДНК-аддутов — молекулярных дозиметров канцерогенеза, особенно в тканях курильщиков [11]. Однако их уровни детерминировались прежде всего экспрессией CYP2C9/10, активность которого варьировала в 10-кратных колебаниях у разных индивидов. Этот цитохром катализирует метаболическую активацию бензпирена и как 9-гидроксибензпирен-ДНК-аддукт может составлять до 25% сформированных аддуктов в организме, значительно возрастая у курильщиков [11]. Сложность механизмов взаимодействия ферментов в органах подтверждают и экспериментальные данные о зависимости их от рецепторных механизмов. Уровни меченых <sup>32</sup>P-IQ ДНК-аддуктов у мышей отмечались в легких и печени, в зависимости от их способности к ответу Ahg-рецептора: в легких после стимуляции индуктором CYP1A бета-нафтолфлавоном у "отвечающих" мышей их было вдвое больше; в печени у неиндуцированных Ahg-"отвечающих" мышей формировались поразительные отличия с образованием в 6–18 раз больше аддуктов против "неотвечающих"; медленные ацетиляторы накапливали втрое больше аддуктов у Ahg-"отвечающих" мышей против быстрых. Очевидно, что индукция Ahg-рецептор-зависимых ферментов подавляет образование аддуктов в печени, но они возрастают в легких [42].

Вышеизложенное позволяет надеяться, что еще нередко противоречивые сегодня данные об активности ферментов детоксикации, с учетом значительно к ним интереса и нарастающего объема информации, будут все более однозначными и достоверными. Роль NAT трудно переоценить, настолько эти ферменты причастны, кроме проблем пульмонологии, к клинической фармакологии, онкологии. Поэтому остается повторить вслед за А.Гумбольтом, что "...познание игры внутренних, таинственных сил природы позволяет нам делать заключение о будущем".

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бориско А.С., Моргулис О.Г., Яковлева О.А. Состояние процессов ацетилирования у больных с синдромом бронхоспазма. Пульмонология. Респ. Межведомств. сб. 1991; 10: 56–57.
2. Иванова В.В., Аксенов О.А., Кветная А.С. и др. Вирусно-бактериальные ассоциации и их роль в формировании бронхолегочных заболеваний у детей. Педиатрия 1992; 4–6: 8–12.
3. Ивчик Т.В., Кокосов А.Н., Буловская Л.Н. и др. N-ацетилтрансфераза (NAT) — предрасполагающий фактор к развитию хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). Пульмонология 1998; Прил.: Международный конгресс Интерастма-98, Москва 20–21 окт. 1998. VIII Национальный конгресс по болезням органов дыхания. Сб. рез.: 440.
4. Кокосов А.Н., Ивчик Т.В., Буловская Л.Н. и др. Определенные фенотипа N-ацетилтрансферазы по интенсивности ацетилирования у больных хронической обструктивной болезнью легких. Там же. 204.
5. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Гуткина Н.И. и др. Фармакологический и фармакогенетический подходы к проблемам патогенеза и фармакотерапии экологически обусловленных заболеваний. В кн.: V Российский нац. конгресс "Человек и лекарство". М.; 1998. 334.
6. Родцевич О.Г. Роль гено- и фенотипических маркерных систем в прогнозе детской астмы. В кн.: 7-й Национальный конгресс по болезням органов дыхания. М.; 1997. 82.
7. Рудинский К.А., Буловская Л.Н., Линцов А.Е. Характеристика активности полиморфной N-ацетилтрансферазы у больных бронхиальной астмой. Там же. 120.
8. Яковлева О.А., Косован А.И., Пентюк А.А. Индивидуальные особенности ацетилирования тест-препаратов при бронхообструктивном синдроме. В кн.: Клиническая фармакология — 25 лет: Материалы международной конф. М.; 1997. 96.
9. Agendes J.A., Marthnez C., Olivera M. et al. Identification and prevalens study of 17 allelic variants of the human NAT2 gene in a white population. Pharmacogenetics 1996; 6(5): 423–428.
10. Ambrosone C.B., Freudenheim J.L., Graham S. et al. Cigarette smoking, N-acetyltrasferase 2 genetic polymorphisms and breast cancer risk. J.A.M.A. 1996; 276 (18): 1494–1501.
11. Badawi A.F., Stern S.J., Lang N.P. et al. Cytochrome P-450 and acetyltransferase expression as biomarkers of carcinogen-DNA adduct levels and human cancer susceptibility. Progr. Clin. Biol. Res. 1996; 395: 109–140.
12. Bell D.A., Taylor J.A., Butler M.A. et al. Genotype/phenotype discordans for human arylamine N-acetyltransferase (NAT2) reveals a new slow-acetylator allele common in African-Americans. Carcinogenesis 1993; 14 (8): 1689–1692.
13. Boobis A.R. Molecular basis for differences in susceptibility to toxicants: introduction. Toxicol. Lett. 1992; 64–65 (spec. No): 109–113.
14. Bosso J.A., Liu Q., Evans W.E. et al. CYP2D6, N-acetylation and xanthine oxidase activity in cystic fibrosis. Pharmacotherapy 1996; 16 (5): 749–753.
15. Carr A., Gross A.S., Hoskins J.M. et al. Acetylation genotype and cutaneous hypersensitivity to trimethoprim-sulfamethoxazole in HIV-infected patients. AIDS 1994; 8 (3): 333–337.
16. Carrillo J.A., Benthez J. Caffein metabolism in a healthy Spanish population: N-acetylator phenotype and oxidation pathways. Clin. Pharmacol. Ther. 1994; 55 (3): 293–304.
17. Cascorbi I., Brockmyller J., Mrozikiewicz P.M. et al. Homozygous rapid arylamine N-acetyltransferase (NAT2) genotype as a susceptibility factor for lung cancer. Cancer Res. 1996; 56(17): 3961–3966.
18. Cofta S., Lowiski Z., Mynarczyc W. Acetylation phenotype in patients with lung cancer. Pneumonol. Alergol. Pol. 1995; 63 (7–8): 407–409.
19. Cribb A.B., Isbrucker K., Levatte T. et al. Acetylator phenotyping: the urinary caffeine metabolite ratio in slow acetylators correlates with a marker of systemic NAT1 activity. Pharmacogenetics 1994; 4 (3): 166–170.
20. Dargel K. Metabolism of leukotrienes is impaired in hepatocytes from rats with thioacetamide-induced liver cirrhosis. Prostagland. Leucot. Essent. Fatty Acids. 1995; 53(4): 309–314.

21. *Deguchi T.* Molecular pharmacology of polymorphic arylamine N-acetyltransferase involved in the metabolism of arylamine drugs. *Nippon Rinsho* 1992; 50 (4): 877-886.
22. *Denzlinger C., Haberl C., Wilmanns W.* Cystenyl leukotriene production in anaphylactic reactions. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1995; 108(2): 158-164.
23. *Dietrich A, Kawakubo Y., Rzany B. et al.* Low N-acetylating capacity in patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Exp. Dermatol.* 1995; 4 (5): 313-316.
24. *Goldstein J.A., Faletto M.V.* Advances in mechanisms of activation and deactivation of environmental chemicals. *Environ. Hlth Perspect.* 1993; 100: 169-176.
25. *Hamelin B.A., Xu K., Vally F. et al.* Caffeine metabolism in cystic fibrosis: enhanced xanthine oxidase activity. *Ibid.* 56 (5): 521-529.
26. *Hein D.W., Doll M.A., Rustan T.D. et al.* Metabolic activation and deactivation of arylamine carcinogens by human NAT1 and polymorphic NAT2 acetyltransferases. *Carcinogenesis* 1993; 14 (8): 1633-1638.
27. *Hickman D., Risch A., Bell D.A. et al.* Chromosomal localization of human genes for arylamine N-acetyltransferase. *Biochem. J.* 1994; 297 (pt 3): 441-445.
28. *Hirvonen A., Saarikoski S.T., Linnainmaa K. et al.* Glutathione-S-transferase and N-acetyltransferase genotypes and asbestos-associated pulmonary disorder. *J. Natl. Cancer Inst.* 1996; 88 (24): 1853-1856.
29. *Hou S.M., Lambert B., Hemminki K.* Relationship between mutant frequency, aromatic DNA adducts and genotypes for GSTM1 and NAT2 in bus maintenance workers. *Carcinogenesis* 1995; 16 (8): 1913-1917.
30. *Hsu K.Y., Song D.J., Ho Y.* The influence of pyruvic acid the pharmacokinetics of sulphadiazine in rabbits. *Biopharm. Drug Dispos.* 1995; 16 (3): 233-244.
31. *Hussein E., Yamamah O., Saleh A.* Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and sulfadimidine acetylation phenotypes in Egyptian oases. *Biochem. Genet.* 1992; 30 (3-4): 113-121.
32. *Hutabarat B.M., Smith A.L., Unadkat D.J.* Disposition of drugs in cystic fibrosis, VII. Acetylation of sulphamethoxazol in blood cells: in vitro-in vivo correlation and characterization of its kinetics of acetylation in lymphocytes. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1994; 55(4): 427-433.
33. *Ilett K.F., Chiswell O.M., Spargo K.M. et al.* Acetylation phenotype and genotype in aboriginal leprosy patients from the north-west region of Western Australia. *Ibid.* 1993; 3 (5): 264-269.
34. *Kaufmann G.R., Wenk M., Taeschner W. et al.* N-acetyltransferase 2 polymorphism in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1996; 60 (1): 62-67.
35. *Lin H.J., Han C. Y., Lin B.K. et al.* Ethnic distribution of slow acetylator mutation in the polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) gene. *Ibid.* 1994; 4 (3): 125-134.
36. *Magazine H.I., Malik A.B., Beuner C.A. et al.* Acetylated endothelin-1 is a constrictor in guinea pig lung vasculature but not in isolated vascular strips. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1992; 260 (2): 632-636.
37. *Marthnez C., Agendez J.A., Olivera M et al.* Lung cancer and mutations at the polymorphic NAT2 gene locus. *Pharmacogenetics* 1995; 5 (4): 207-214.
38. *Mathelier-Fusade P., Leynadier F.* Intolerance to sulfonamides in HIV infected subjects. Toxic and allergic origin. *Presse Med.* 1993; 22 (29): 1363-1365.
39. *Meyer U.A.* Polymorphism of human acetyltransferases. *Ibid.* 1994; 102 (suppl.6): 213-216.
40. *Mroskiewicz P.M., Cascorbi I., Roots I. et al.* Determination and allelic allocation of seven nucleotide transitions within the arylamine N-acetyltransferase gene in the Polish population. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1996; 59 (4): 376-382.
41. *Nebert D.W., McKinnon R.A., Puga A.* Human drug-metabolizing enzyme polymorphisms: effects on risk of tox
42. *Nerurkar P.V., Schut H.A., Anderson L.M. et al.* Ahr locus phenotype in congenic mice influences hepatic and pulmonary DNA adduct levels of 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f] quinoline in the absence of cytochrome P450 induction. *Mol. Pharmacol.* 1996; 49 (5): 874-881.
43. *O'Brien P.J., Hales B.F., Josephy P.D. et al.* Chemical carcinogenesis, mutagenesis and teratogenesis. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1996; 74 (5): 565-571.
44. *Oyama T., Kawamoto T., Mizoue T. et al.* N-acetylation polymorphism in patients with lung cancer and its association with p53 gene mutation. *Anticancer Res.* 1997; 17 (18): 577-581.
45. *Pontes Z.B., Vinsent-Viry M., Gueguen K. et al.* Acetylation phenotypes and biological variation in a French Caucasian population. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1993; 31 (2): 59-68.
46. *Rashid J.R., Kofi-Tsepko, Juma F.D.* Acetylation status using hydralazine in African hypertensives at Kenyatta National Hospital. *East Afr. Med. J.* 1992; 69 (7): 406-408.
47. *Raunio H., Husggafvel-Pursiainen K., Anttila S. et al.* Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility — a review. *Gene* 1995; 159 (1): 113-121.
48. *Roots I., Brockmyller J., Drakoulis N. et al.* Mutant genes of cytochrome P-450IID6, glutathione S-transferase class Mu and arylamine N-acetyltransferase in lung cancer patients. *J. Clin. Invest.* 1992; 70 (3-4): 307-319.
49. *Rothman M., Hayers R.B., Bi W. et al.* Correlation between N-acetyltransferase activity and NAT2 genotype in Chinese males. *Pharmacogenetics* 1993; 3 (5): 250-255.
50. *Rothman N., Hayers K.B.* Using biomarkers of genetic susceptibility to enhance the study of cancer etiology. *Environ. Hlth Perspect.* 1995; 103 (suppl.8): 291-295.
51. *Sardas S., Lahijany B., Cok I. et al.* N-acetylation phenotyping with sulfamethazine in an Iranian population. *Pharmacogenetics* 1993; 3 (3): 131-134.
52. *Sinclair J., Sim E.* A fragment consisting of first 204 amino-terminal aminoacids of human arylamine N-acetyltransferase one (NAT1) and the first transacetylation step of catalysis. *Biochem. Pharmacol.* 1997; 53 (1): 11-16.
53. *Sinues B., Ruena P., Benthez J. et al.* Thioether excretion, urinary mutagenicity and metabolic phenotype in smokers. *J. Toxicol. Environ. Hlth* 1994; 43 (3): 327-338.
54. *Soon 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; 34 (1): 76-84.
55. *Vatsis K.P., Weber W.W., Bell D.A. et al.* Nomenclature for N-acetyltransferases. *Pharmacogenetics* 1995; 5 (1): 1-17.
56. *Vineis P., Landi M.T., Caporaso N.* Metabolic polymorphism and the cancer risk: the evaluation of epidemiological studies. *Med. J. Lavoro.* 1992; 83 (6): 557-575.
57. *Vineis P., Schulte P.A.* Scientific and ethical aspects of genetic screening of workers for cancer risk the case of the N-acetyltransferase phenotype. *J. Clin. Epidemiol.* 1995; 48 (2): 189-197.
58. *Watanabe M.* Genetic and phenotypic polymorphisms in carcinogen-metabolizing enzymes and cancer susceptibility. *Nippon Rinsho* 1996; 54 (8): 2261-2275.
59. *Weber W.W.* Influence of heredity on human sensitivity to environmental chemicals. *Environ. Mol. Mutagen.* 1995; 25 (suppl.26): 102-114.
60. *Yadav S.P., Rawitch A.B.* Effect of peptide acetylation on its interaction with antipeptide antibody. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994; 205 (3): 1688-1695.
61. *Yasunara H.* Ethnic factors in evaluation of drug efficacy and safety // *Nippon Yagurigaku Zasshi* 1994; 104 (2): 67-78.
62. *Yiamouyiannis C.A., Sanders B.A., Watkins J.B. et al.* Chronic physical activity: hepatic hypertrophy and increased total biotransformation enzyme activity. *Biochem. Pharmacol.* 1992; 44 (1): 121-127.
63. *Zaher H., Svensson C.K.* Glucocorticoid induction of hepatic acetyl-CoA:arylamine N-acetyltransferase activity in the rat. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1994; 83 (2): 195-208.