

Е.С. СЕЛЕЗНЕВА

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
КСЕНОБИОТИКОВ, ИХ СТРОЕНИЕ
И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА**

Самара

Издательство «Универс групп»

2009

УДК 575.224.4; 615.9::574

ББК 28.04

С29

Рецензенты:

доктор биологических наук, член-корреспондент РАН профессор

Г.С. Розенберг,

доктор биологических наук, профессор Г.Н. Суворова.

Селезнева, Е.С.

С29 Биологическая активность ксенобиотиков, их строение и физико-химические свойства [Текст] \ Е.С. Селезнева. – Самара : Изд-во «Универс групп», 2009. – 182 с.

ISBN 978-5-467-00199-9

Предлагаемая монография посвящена проблемам взаимодействия ксенобиотиков с живыми объектами. Анализируется связь между способностью веществ индуцировать различного типа негативные ответы, такие, как токсичность, канцерогенность и мутагенность, и их строением и физико-химическими свойствами.

Книга представляет собой интерес для студентов, изучающих курсы молекулярной биологии, генетики, мутагенеза, биотехнологии, экологии, а также аспирантов и исследователей, интересующихся проблемами генотоксикологии, экотоксикологии, эволюционной и прогностической биологии, и может быть использована в качестве учебного пособия по курсам мутагенез, генотоксикология и экологическая генетика.

УДК 575.224.4; 615.9::574

ББК 28.04

ISBN 978-5-467-00199-9

© Селезнева Е.С., 2009

ПРЕДИСЛОВИЕ

Предлагаемая читателям книга посвящена одной из актуальных проблем биологии – связи между структурой и функцией органических веществ. Эта проблема представляет не только научный, но и практический интерес для медицины и сельского хозяйства. Знание таких закономерностей позволит синтезировать высокоэффективные, с избирательным действием лекарственные препараты и пестициды.

Несмотря на то, что в последние годы чаще стали появляться исследования, посвященные поиску связей между биологическим ответом и структурой соединения, с сожалением можно отметить, что они немногочисленны и, как правило, исследуют только один тип биологического ответа, например, канцерогенный или токсический.

Автор уделяет большое внимание роли структуры и физико-химических свойств соединений при их взаимодействии с мембранным аппаратом клетки, что позволило автору сформулировать предположение о существующей детерминированности, определяющей конкретный тип ответа. Сама детерминированность возникла в ходе эволюции организмов при их контакте с химическими веществами окружающей среды.

Полагаю, что книга Селезневой Е.С. будет незаменимым пособием для специалистов, занимающихся проблемами экологии, экотоксикологии, экогенетики и генотоксикологии, особенно она будет представлять интерес для студентов и аспирантов, интересующихся этими проблемами.

Доктор биологических наук, профессор Кавеленова Л.М.

ВВЕДЕНИЕ

Человечество переживает трудный период – научно-технический прогресс достиг критического состояния: с одной стороны, невозможность остановиться и вернуться назад, с другой стороны, техногенное засорение окружающей среды с каждым годом принимает все более угрожающие размеры.

Уже в середине 70-х годов в атмосферу Земли поступало за 1 год следующее количество антропогенных продуктов: технических газообразных веществ – 600 млн т., в том числе: окиси углерода – 200 млн т. и двуокиси серы – 150 млн т.; различных аэрозолей – несколько миллиардов тонн, промышленных и городских сбросных вод – 5500 млрд м³ (Ковда, 1975). Таким образом, существует реальная опасность массированного токсического воздействия химическими поллютантами на живые организмы. Необходимо учитывать, что физические факторы окружающей среды способны модифицировать химические поллютанты, ослабляя или усиливая их неблагоприятное воздействие на биоту. Например, совместное воздействие токсикантов и высоких температур в летний период ускоряет проникновение токсикантов в организм. С другой стороны, при низких температурах возрастает концентрация опасных веществ в приземном слое атмосферы, что при малой скорости движения воздуха увеличивает вероятность интоксикации. Высокая влажность иногда оказывается решающим фактором формирования кислотных дождей и смога (Одум, 1975).

С точки зрения химической опасности, по-видимому, на первое место надо ставить загрязнения воздушного бассейна, на второе – водоемов и продуктов питания. Загрязнение литосферы выступает как связующее звено для проникновения токсикантов в водоем и растения и, следовательно, в организм животных и человека; кроме того, существует постоянная миграция поллютантов из одних сред в другие (Ливчак, Воронов, 1988; Аржанова, Елпатьевский, 1990).

Ко всему вышесказанному надо добавить вред, наносимый производством и испытанием оружия массового поражения, которые, как

показала практика, разрушают окружающие их экологические системы (Вавилов, 1988; Медведев, 1991). К сожалению, до сих пор на земном шаре не было ни одного дня, когда не было бы войны. Люди давно используют высокотоксичные средства для ведения военных действий. Еще во время Пелопонесской войны (401-404 гг. до н.э.) спартанцы при осаде городов сжигали серу и смолу, стремясь отравить воздух и заставить жителей городов слиться (Оксенгендлер, 1991). По мере того, как развивалась химия, развивались и возможности применения химического оружия. 12 апреля 1915 года во время Первой мировой войны впервые было применено химическое оружие, что вызвало поражение 15 тысяч человек, из которых 5 тысяч погибло. Действующим соединением, использованным немецкими войсками, был хлор. В атмосферу было выпущено 180 тонн хлора. Ужас действия отравляющего вещества был связан так же и с тем, что войска того времени не имели никаких средств борьбы с боевыми отравляющими веществами. Впоследствии анализ показал, что широкое использование фосгена, иприта и других отравляющих веществ в Первой мировой войне привело к гибели 100 тысяч человек (Соколов, 1968).

В последующие годы список боевых отравляющих веществ расширился, несмотря на подписание в 1928 году протокола о запрещении химического оружия.

Химическая война во Вьетнаме – невиданный в истории факт экоцида: 45% лесов потеряли листву, 20% кустарников погибло после применения армией США дефолиантов (Norman, 1983). Если учесть, что 30% территории Южного Вьетнама покрывают леса, то масштабы гибели животных ужасающи. Люди, оказавшиеся в зоне действия так называемых «отравляющих веществ несмертельного действия», пострадали не только от отравления, но был поражен и их наследственный аппарат. В районе действия этих веществ достоверно выросла частота рождения детей с различными тератогенезами, частота самопроизвольных аборт и частота появления людей, страдающих злокачественными новообразованиями (Оксенгендлер, 1991)

Острота современного кризиса усугубляется возникновением «порочного круга»: рост засорения окружающей среды приводит к ослаблению иммунитета, это, в свою очередь, вызывает рост потребления лекарственных препаратов и рост производства лекарственных препаратов, что усиливает загрязнение окружающей среды.

Анализируя создавшееся положение, можно сказать, что большая часть человечества сегодня (а многие люди в течение всей жизни) в той или иной степени подвергаются воздействию ксенобиотиков, каковыми являются лекарства. Необходимо учитывать также тот факт, что многие люди одновременно употребляют несколько фармакологических средств с целью усиления терапевтического эффекта. Использование лекарственных средств может привести к развитию токсического ответа, что связано с рядом причин:

- ошибки в расчетах дозы для больного (Муравьев и др., 1972);
- отсутствие знания особенностей метаболизма больного (у 2,5% населения земного шара в силу особенностей генотипа человека замедлены процессы разрушения и выведения лекарственных средств из организма) (Фармакогенетика..., 1975);
- способность некоторых лекарств накапливаться в тканях, осуществляя возрастающий эффект даже при применении в обычных дозах (Халилов, 1982; Харкевич, 1980);
- слабая избирательность действия и, следовательно, наличие побочных негативных эффектов действия (Альберт, 1989а);
- незнание отдаленных эффектов влияния на геном человека воздействующих препаратов (Ильинских и др., 1990; Оксенгендлер, 1991).

Подводя итоги вышесказанному, можно сделать предположение о том, что слабость современной цивилизации состоит в неспособности оценить последствия воздействия тех сил, которые оказались в руках человека. Большинство людей не в состоянии считаться с негативными последствиями техногенного пресса на природу, политические партии не желают тратить свои усилия и финансы на научные изыскания, позволяющие создать и разработать технологии, обла-

дающие минимально негативными воздействиями на окружающую среду и на самого человека.

Однако, учитывая, что развитие науки приобрело всеобъемлющий и необратимый характер (Пригожин, Стенгерс, 1986), появляется надежда на то, что настойчивое членение объектов исследования, характерное для аналитического способа мышления, наконец сменится системным подходом, позволяющим активно сосуществовать человеку и биосфере.

Несмотря на то, что существует точка зрения, утверждающая несостоятельность поиска каких-либо закономерностей («Если вселенная эволюционирует, то каждое единичное явление – уникально, и возможность директирования всеобщих законов, а также их позитивного значения для быстро развивающейся науки более чем сомнительны» (Красилов, 1987)), и действительно старая парадигма «ньютоновского толка» устарела, появилась новая научная парадигма. Так, необратимость динамики сложных систем и конструктивная роль флуктуаций в сильнонерасбалансированных условиях и есть эта новая парадигма.

Вообще, отдельные моменты этой парадигмы начали формироваться, начиная с работ Н. Винера. Теория диссипативных структур И.П. Пригожина показала, что вдали от равновесия даже слабые флуктуации, автоматически усиливаясь благодаря действию положительных обратных связей, сдвигают прежнюю систему к точке так называемой бифуркации, когда невозможно предсказать дальнейшую судьбу системы. В этих точках над системой властвует случай (поэтому эти точки называют критическими), и только когда один из возможных путей регулируется, поведение системы становится предсказуемым и детерминированным.

По-видимому, в любой системе в каждый момент времени ее состояние определяется балансом отрицательных и положительных обратных связей: первые сохраняют систему, вторые – изменяют.

Современная теоретическая биология достигла точки бифуркации, когда количество фактов приводит к необходимости разработки

теоретических основ, позволяющих согласовать существующие факты о действии антропогенных факторов на биосистемы, полученные медициной и экспериментальной биологией, с существующими гипотезами и теориями физики и химии.

В данной работе предпринята попытка упорядочивания знаний о структуре, физико-химических свойствах антропогенных ксенобиотиков и их способности влиять на биологические системы. Идея, безусловно, не новая, однако, принимая во внимание появившиеся новые факты, весьма актуальная.

ГЛАВА I

ТОКСИЧНОСТЬ И ТОКСИКАНТЫ

Биологическая активность – это комплексный термин, обозначающий способность какого-либо химического соединения вызывать какой-либо биологический ответ. Все разнообразие биологических ответов можно объединить в две группы: адаптивные и неадаптивные.

Эта книга посвящена изучению неадаптивных ответов.

Тип ответа определяется несколькими факторами: строением соединения и его физико-химическими свойствами; дозой; состоянием живой системы, которая подверглась воздействию ксенобиотиков; предшествующей эволюцией живой системы; условиями окружающей среды.

Неадаптивные ответы могут быть нескольких типов:

- токсический;
- канцерогенный;
- тератогенный;
- мутагенный.

Данная глава посвящена исследованию феномена токсичности и веществ, вызывающих токсическую реакцию и называемых ядами или токсикантами.

Исторически токсическую активность ксенобиотиков стали изучать первой. В греческой и римской мифологии встречаются описания и приготовление ядов.

Современная *токсикология* изучает:

- опасность химических веществ;
- закономерности взаимодействия ядов и организмов;
- токсико-кинетические и токсико-динамические особенности ядов;
- разрабатывает способы защиты от токсического воздействия веществ;
- разрабатывает прогнозирование и оценку токсической активности вновь синтезированных соединений.

Огромную роль в токсичности соединений играет продолжительность воздействия, в зависимости от этого наблюдаются самые различные биологические ответы (см. рис. 1).



Рис.1. Последствия действия токсикантов на организмы

Учитывая все факторы, способствующие развитию токсического ответа при воздействии ядов на живую систему, производят качественную и количественную оценку его опасности. Для этого вводится понятие дозы – это продолжительность воздействия определенной концентрации действующего соединения.

В зависимости от повреждающего действия в токсикологии принято различать несколько доз.

Минимально действующая (пороговая) доза (концентрация) – это такое наименьшее количество вещества, которое при однократном (остром) или многократном (хроническом) воздействии вызывает яв-

ные, но обратимые изменения жизнедеятельности (Lim_{ac} и Lim_{ch} – соответственно).

Минимально токсическая доза – это такое количество, которое вызывает выраженное отравление с комплексом характерных патологических сдвигов в организме, но без тяжелых последствий. Чем токсичнее химическое соединение, тем эти величины ближе (Оксенгендлер, 1991).

В токсикологических исследованиях используются термины *смертельные (летальные) дозы*. В зависимости от того, какое количество животных погибает (в %) от воздействия этой дозой, различают:

LD_{50} – дозы, вызывающие гибель 50% животных (или CL_{50})

LD_{100} – дозы, вызывающие гибель 100% животных (или CL_{100})

Для ингаляционных токсикантов (Саноцкий, 1974; Саноцкий, Уланова, 1975) был введен коэффициент возможного ингаляционного отравления КВИО

$$КВИО = C^{20} / CL^{120 мин}$$

где C^{20} – максимально достижимая концентрация вещества при $20^{\circ}C$, а $CL^{120 мин}$ – 50 процентная смертельная концентрация для белых мышей при экспозиции 120 мин. Коэффициент КВИО дает возможность сравнивать вещества (газообразные, аэрозоли) между собой.

Опасность токсиканта оценивают также *дозой острого токсического действия* – CL_{50}/Lim_{ac} . Чем больше величина этого показателя, тем безопаснее вещество. Для ядов, способных давать кумулятивный эффект, используется показатель Lim_{ac}/Lim_{ch} . Большая величина этого показателя свидетельствует о скрытой угрозе развития интоксикации при хроническом воздействии (Оксенгендлер, 1991).

Широко используется доза *ПДК* – предельно допустимая концентрация вредных веществ в атмосфере, водоемах и почве. Это интегральный показатель опасности ксенобиотика и выражается либо в $мг/м^3$, либо в $мг/л$. Например, если речь идет о ПДК токсиканта в воздухе, принято считать, что это такое количество, воздействие которого не может вызвать заболевания или отклонения в состоянии здоровья в процессе работы или отклонения в отдаленные сроки жизни настоящего или следующего поколения. Обычно учитывается суточное воздействие (Беспалов Г.П., Кротов Ю.А., 1985).

ПДК разрабатываются для защиты организма человека и не имеют целью защиту природных комплексов, хотя повсеместно распространена практика их использования для обоснования природоохранных мероприятий (предполагается, что если человек защищен, то и другие виды защищены). Однако было обнаружено, что многие виды экосистем на порядок чувствительнее к действию токсикантов, чем человек (Садыков, 1988). Кроме того, многолетнее загрязнение окружающей среды на уровне ПДК может привести к накоплению и трансформации токсикантов в экосистеме, что делает их опасными для биоты (Садыков, 1991). Концепция ПДК не учитывает и свойств природно-климатических зон. Поэтому было высказано предложение о создании эколого-гигиенического нормирования для оценки негативного воздействия поллютантов (Сидоренко, Литвинов, 1988).

Как правило, вещества, токсичные для людей, токсичны и для животных. Именно поэтому на основании лабораторных экспериментов, где объектом исследования были мыши и крысы, была разработана классификация ядохимикатов (Оксенгендлер, 1991).

Все вредные вещества по степени опасности разделили на: I – чрезвычайно опасные; II – высокоопасные; III – умеренно опасные; IV – малоопасные (таблица 1).

Таблица 1

Классы опасности веществ

Показатели	Пределы для класса опасности			
	I	II	III	IV
ПДК в воздухе рабочей зоны (мг/м ³)	<0,1	0,1-0,9	1,1-10	>10
LD ₅₀ мг/м ³				
При введении в желудок	<15	15-150	151-5000	>5000
При нанесении на кожу	<100	100-500	501-2500	>2500
LD ₅₀ мг/м ³ в воздухе	<500	500-5000	5000-50 000	>50 000
КВНО	>300	300-30	29-3	<3
Lim _{св} мг/л	<0.01	0.01-0.1	0.11-1.0	>1.0

Такого рода санитарно-гигиеническое нормирование позволило оценить и первично зарегистрировать токсичность многих техногенных токсикантов, однако токсикология столкнулась с рядом проблем, которые нельзя было решить в рамках этой науки. В частности, многокомпонентность выбросов производств делает неэффективным контроль над соблюдением регламентов по каждому отдельному ингредиенту. Трудно учесть аккумуляцию и трансформацию ксенобиотиков в экосистемах. В 1969 г. появилась новая наука – *экотоксикология*. Идея о создании такой науки принадлежит Рене Трауту (Куценко, 2004).

Экотоксикология изучает воздействие неблагоприятных эффектов поллютантов на биоту экосистем. Позднее в рамках экотоксикологии появилась *токсикология окружающей среды*, которая изучала действие токсикантов на человека.

Усилия экотоксикологов в последнее время были направлены на разработку способов оценки и регистрации динамики ксенобиотического профиля экосистем. Под ксенобиотическим профилем понималась совокупность чужеродных веществ, содержащихся в окружающей среде (вода, воздух, почва, живые организмы) в форме, позволяющей им вступать в химические и физико-химические взаимодействия с биологическими объектами экосистемы.

Экотоксикологические эффекты рассматривают либо на уровне организма (аутэкотоксикология), либо на уровне популяций (демэкотоксикология), либо на уровне экосистемы (синэкотоксикология).

В случае оценки токсичности лишь одного вещества в отношении представителей одного вида используются качественные и количественные оценки, принятые в классической токсикологии (дозы, концентрации, величины острой и хронической токсичности). Когда анализируется токсическое действие какого-либо ксенобиотика в экспериментальных условиях, поддерживают некий средний стандарт условий, так как существует возможность неверной оценки опасности токсикантов.

Токсичность в конечном итоге будет зависеть от следующих параметров живого организма:

- видовая принадлежность;
- избирательная чувствительность и устойчивость отдельных организмов внутри одного вида;
- возраст;
- пол;
- физиологическое состояние (сытость, здоровье, вес);
- способность к активному передвижению;
- сезонные колебания;
- суточная резистентность; и т.д.

По-видимому, целесообразно кратко рассмотреть примеры, показывающие зависимость токсичности от перечисленных параметров.

Видовая специфическая чувствительность к определенным токсикантам легла в основу создания пестицидов с избирательной токсичностью.

Так, пиретроид биоресметрин – эфир хризантемовой кислоты и фуранового спирта высокотоксичен для насекомых и нетоксичен для млекопитающих (Альберт, 1989а). Некоторые карбаматы имеют такой короткий период полураспада (например, пропоксур), что они оказались безопасными для детей и их рекомендуют для уничтожения эктопаразитов (блох и клещей) домашних животных. Интересно отметить еще один инсектицид – диазивон (О,О–диэтил–О–(2–изопропанил–6–метилпиримидин–4–ил)тиофосфат, который в организме насекомых подвергается следующей трансформации: P=S связь превращается P=O, в результате чего образуется чрезвычайно токсичный агент, а в организме млекопитающих происходит быстрое С-гидроксилирование изопропильной группы, и образующееся соединение легко выводится с мочой (Альберт, 1989а).

Разработаны гербициды с высокой избирательной токсичностью, например, барбан-4 хлорбут-2-иниловый эфир N-(3'-хлорфенил)-карбаминовой кислоты подавляет рост только овсяга в посевах злаков (Альберт, 1989а).

Известно, что цветковые растения защищают себя сильными алкалоидами (Овчинников, 1987). Между тем известны животные, спо-

собные без вреда для себя поедать эти растения. Например, такой алкалоид, как колхицин, является универсальным ядом, подавляющим митоз, т.к. колхицин препятствует образованию митотического веретена. Сирийский хомячок (*Mesocricetus auratus*) устойчив к колхицину. Этот хомячок в природе питается травами, богатыми колхицином (Оно, 1973).

Избирательная чувствительность и устойчивость некоторых организмов – широко распространенные в эволюционном аспекте явления.

В силу многовекторного действия естественного отбора большинство популяций животных, растений и прокариот полиморфны по устойчивости к ксенобиотикам. Сами механизмы устойчивости могут быть различными, но все они генетически детерминированы.

На предприятиях, связанных с производством резиновых изделий и лакокрасочных материалов, обнаружена достоверно более высокая частота заболеваний раком мочевого пузыря. Оказалось, что эта форма рака связана с мутациями в локусе N-ацетилтрансферазы печени – фермента, под действием которого ксенобиотики ацетируются и выводятся из организма; таким образом, рак развивался только у мутантов с замедленным действием этого фермента (Бочков, 1997).

Известна резистентность многих видов и организмов из отряда *Diptera* к ДДТ. Эта резистентность связана с мутацией, благодаря которой возникает высокоэффективный фермент «ДДТ-дегидрохлоридаза» (Альберт, 1989а).

В популяциях людей существуют две группы: с быстрым и медленным метаболизмом, речь идет о полиморфизме по ацетилированию. Оказалось, среди лиц с медленным метаболизмом ряд препаратов, таких, как изониазид, апрессин, сульфамидные препараты, вызывают побочное токсическое действие (Бочков, 1997).

Техногенные эмиссии солей тяжелых металлов на почву приводят к резкому уменьшению обилия и разнообразия педобионтов, величины уменьшения обилия колеблются от двух раз до одного-двух порядков (Воробейчик и др., 1994)

Огромную роль в чувствительности к токсиканту играет *возраст животного, человека или растения*.

Влияние возраста на чувствительность организма к ядам различно. Так, для некоторых ядов известно, что они более токсичны для молодых организмов, другие – для старых.

Дети более высокочувствительны к барбитуратам, алкоголю, чем взрослые (Лужников, Костомарова, 1989). Но к некоторым токсическим агентам дети более устойчивы, чем взрослые. Так, дети (до года) более резистентны к действию окиси углерода – яду, блокирующему кислородпередающую функцию крови, но более чувствительны к сероуглероду и нитриту натрия, а взрослые более чувствительны к ди-хлорэтилу и гранозану (Оксенгендлер, 1982). В последние годы отмечено увеличение числа отравлений у детей противогистаминными препаратами, однако существуют ярко выраженная индивидуальная чувствительность к ним (Оксенгендлер, 1991).

Пожилые люди более восприимчивы к бытовым ядохимикатам (Лужников, Дагаев, Горин, 1985).

Молодые растения более чувствительны к патогенезу, развивающемуся в результате атаки грибов, в связи с тем, что клетки корневой системы покрыты очень тонким и неравномерным слоем кутикулы по сравнению с клетками старых растений. Этим, по-видимому, объясняется и более высокая чувствительность молодых растений к антропогенным ксенобиотикам (Tarr, 1975).

До сих пор не существует общей гипотезы, удовлетворительно объясняющей избирательную *токсичность ядов для особей разных полов*. Огромное количество исследований показали, что у разных видов специфичность к токсикантам у особей разных полов колеблется. Со времен Дарвина известно, что у всех представителей животного мира, включая человека, адаптивные системы самок более совершенны (Акоев, Алексеева, 1975). Было показано, что более высокая адаптивность самок связана с эволюционной стратегией формирования у особей женского пола более широкой наследственной нормы реакции (Геодакян, 1974).

Исследование воздействия стрессовых факторов на самок и самцов крыс показало, что механизмы развития неадаптивного ответа частично перекрываются (Анищенко, Гудкова, 1991). Так, этанол подавлял синтез андрогенов в половых железах самцов экспериментальных животных и вызывал усиление секреции женских половых гормонов (Оксенгендлер, 1991). Тем не менее, при производстве полихлорированных бифенилов (инсектициды) выявлено действие их только на репродуктивные функции женщин (мертворождение и преждевременные роды), хотя на производстве работали и мужчины. Экспериментальное воздействие табачным дымом на 128 половозрелых крыс выявило развитие воспалительных явлений в тканях легких и печени достоверно в большей степени у самцов (Каримов и др., 2000).

По-видимому, существующие различия особей разного пола в скорости биотрансформации токсикантов определяются ролью половых гормонов в развитии устойчивости к внешней среде. Так, было показано, что у неполовозрелых особей различия в чувствительности к ядам у самок и самцов отсутствуют и начинают проявляться только при достижении половой зрелости. Если неполовозрелым самкам вводить мужской половой гормон тестостерон, то самки начинают реагировать на токсикант, как самцы.

Кроме того, можно добавить, что существует группа ядов, являющихся гонадотропными, и здесь возможна специфическая чувствительность полов (Саночкий, Уланова, 1975).

Физиологическое состояние организма также влияет на развитие токсического ответа.

Голодание ведет к быстрому нарушению многих звеньев естественной детоксикации, в частности, синтеза глюкуроновых кислот, имеющих основное значение в реализации процессов конъюгации ядов (Оксенгендлер, 1991). Интересно, что многие штаммы грибов вида *Aspergillus niger* устойчивы к фунгицидам только за счет того, что они являются суперпродуцентами аминокислот цистеина и глутатиона, которые реагируют с сульфгидрильными группами фунгицидов и снижают их токсичность, однако при длительном голодании эти штаммы становятся чувствительны к фунгицидам (Тарр, 1975).

У людей с пониженной калорийностью питания снижена сопротивляемость к хроническому действию многих промышленных ядов. Однако повышение калорийности пищи за счет введения продуктов с большим содержанием липидов повышает чувствительность к жирорастворимым ядам, например, хлорированным углеводородам (Лужников, Костомарова, 1989) в связи с их депонированием в жировых тканях и задержкой в организме.

Имеет значение физическая активность и степень утомления, которая для разных ядов либо усиливает их негативное действие, либо тормозит. Было показано, что более тренированные и здоровые животные и люди более устойчивы к ядам. Однако возрастающая при физической нагрузке потребность в кислороде может значительно увеличить токсигенную опасность ядов, вызывающих транспортную гемическую и тканевую гипоксию (окись углерода, цианиды) (Лужников, Костомарова, 1989).

Больные или перенесшие тяжелое заболевание более чувствительны к токсическому действию химических ядов. Особенно чувствительны организмы с поражением выделительной системы. Поэтому экспериментальных животных, перенесших заболевание выделительной системы, нельзя использовать для оценки реальной токсичности ядов (Берхин, 1986).

Для многих ядов существует связь токсичности с массой тела: чем меньше организмы, тем они чувствительнее к ядам (Саноцкий, Уланова, 1975; Оксенгендлер, 1991).

Проблему токсического действия ксенобиотиков целесообразно рассматривать также с позиций учета положения организмов в экосистеме и состояния экосистемы. Состояние экосистемы подчиняется ритмичным изменениям, как *сезонным*, так и *суточным (циркадным)*, когда меняются температура, длина светового дня, влажность воздуха, сила ветра, барометрическое давление и пр. Так как на Земле эти изменения происходили циклично, то в процессе эволюции у организмов возникли биоритмы. Сезонные и циркадные ритмы наследственно закреплены, и поэтому изменения некоторых физиологических

показателей связаны с закономерно периодически изменяющимися условиями окружающей среды.

Суточный ритм – это, во-первых, результат стойко выработанного рефлекса на время (И.П. Павлов, 1951 по Ильинских и др., 1990), закрепленного наследственно; во-вторых, результат действия экзогенных факторов – последние могут сдвигать ритм. Существует моно-, двух-, полифазный ритм. В первом случае наблюдается один тип активности, во втором – два, в третьем активность распределяется равномерно, чередуясь с покоем (Stephens, 1957 по Ильинских и др., 1990). Если монофазный ритм зависит от окружающей среды, двухфазный вызывается действием постоянных условий в течение некоторого периода времени, то полифазный почти полностью независим от условий внешней среды и обусловлен наследственностью. Частоту полифазного ритма изменить не удастся. Новиков (1949 по Ильинских и др., 1990) показал, что птицы, живущие за Полярным кругом в летнее время, при постоянном освещении сохраняют суточный ритм, характерный для них в более низких широтах.

В процессе эволюции суточный ритм возник как процесс адаптации вида к своей нише, когда осваивалось не только место жизнедеятельности, т.е. пространственная ниша, но и ниша времени, когда он проявляет максимальную активность (Ильинских и др., 1990).

Суточные ритмы организма поддерживаются ритмичностью метаболических процессов. Хорошо известны колебания различных функциональных показателей, которые имеют отношение к реакциям детоксикации. Например, с 15 ч. до 03 ч. в печени происходит накопление гликогена, а с 03 ч. до 15 ч. гликоген утилизируется. Внутренняя среда организма в первую половину суток с 03 ч. до 15 ч. имеет преимущественно кислую реакцию, а с 15 ч. до 03 ч. – щелочную. Содержание гемоглобина в крови бывает максимальным в 11 – 13 ч., а минимальным – в 16 – 18 ч. (Ильинских и др.1990).

В многочисленных исследованиях были показаны суточные и сезонные отклонения в токсичности ксенобиотиков и эффективности лекарств для животных и человека (Арушанян, 2002; Хронобиоло-

гия..., 1989; Kunkel and et. al., 1987; Reinberg, Smolemsky, 1982; Schmidt, Lam, 1981).

Если рассматривать токсический эффект как результат взаимодействия яда, организма и внешней среды, то становится очевидной роль биоритмов. При действии гепатотоксических ядов выраженного эффекта следует ожидать в вечернее время (18 – 20 ч.), когда содержание гликогена в гепатоцитах и сахара в крови минимальное (Лужников, Костомарова, 1989).

Таким образом, определяя токсичность того или иного соединения, нужно учитывать не только вид, пол, возраст животного, но и фазу ритма чувствительности.

Ко всему вышесказанному осталось добавить то, что термин «токсичность» комплексный и отражает свойства химических веществ вызывать повреждение или гибель организмов. Многие вещества становятся ядами в зависимости от длительности действия и дозы воздействия, о чем говорилось выше.

Токсический процесс может проявляться на самых различных уровнях организации живых объектов:

- *клеточном* (на этом уровне изучают цитотоксичность соединений). При действии ядов изменяется форма клетки, ее физиология, способность к делению, может происходить гибель клеток;
- *органном* (в этом случае говорят о нейротоксичности, гепатотоксичности, нефротоксичности и т.д. Такой тип токсичности изучается для последующей диагностики заболеваний, вызванных данным веществом);
- *организменном* (в этом случае говорят об интоксикации (болезнь химической этиологии), транзиторных токсических реакциях, различных аллобиозах (аллергия, повышенная утомляемость) или специфических реакциях (эмбриотоксичность) (Куценко, 2004);
- *популяционном* (на этом уровне изучают экотоксичность, выражающуюся в снижении рождаемости, росте врожденных пороков развития, росте заболеваемости).

В качестве токсикантов могут выступать любые соединения, если, действуя немеханическим путем, они вызывают повреждение или гибель организмов.

По происхождению токсиканты можно разделить на природные и искусственные (рис. 2).



Рис. 2. Классификация токсикантов

Природные токсиканты существовали всегда, например, соли и окислы тяжелых металлов могут содержаться в почве в местах залежей руд и в воде.

Существуют обширные обзоры о действии тяжелых металлов на организм животных и растений (Левина, 1972).

Многочисленные исследования показали, что молекулярными мишенями для ионов тяжелых металлов служат: гемосодержащие белки и ферменты; системы перекисного и свободно-радикального окисления липидов и белков; ферменты синтеза АТФ и транспорта электронов; белки клеточных мембран и ионные каналы мембран.

Именно для тяжелых металлов было впервые описано явление экологической магнификации.

Экологическая магнификация представляет собой процесс увеличения концентрации ксенобиотика в организмах при переходе от низших трофических уровней экосистем к высшим. Так, в планктоне содержание диметилртути составляет приблизительно 0,01 мкг/г, в мышечной ткани рыб достигает 1,5 мкг/г, а птиц-рыболовов – 3-14 мкг/г (Зеленин, 2000). До конца 70-х годов внимание исследователей было направлено на исследование поллютантов антропогенного происхождения. Между тем, поступление в атмосферу органических поллютантов – природное и универсальное явление, так как многие газообразные вещества являются нормальными продуктами метаболизма живых существ. Известны группы веществ, которые всегда выделялись в окружающую среду организмами: метан, этилен, изопрен, этиловый спирт, сероводород, аммиак и ацетон. Выделение метана в атмосферу происходит благодаря деятельности анаэробных бактерий, разлагающих сложные органические соединения. Основными поставщиками метана в атмосферу являются болота, переувлажненные тундровые почвы, периодически затопляемые прибрежные зоны. Доля метана в общей массе атмосферы невелика, однако в местах концентрации он представляет собой угрозу для аэробных организмов.

Можно привести еще один весьма интересный факт: выделение хвойными деревьями терпенов. Терпены являются эволюционным

приобретением и защищают деревья от проникновения болезнетворных бактерий в поврежденные насекомыми ткани, кроме того, их выделение предохраняет растения от перегрева. Количество выделяемых терпенов столь высоко, что в жаркие дни летом над хвойными лесами на склоне Скалистых гор в США наблюдается голубая дымка. Интересно отметить, что окисление органических соединений, выделяемых растениями, приводит к образованию карбоновых кислот, что сказывается на кислотности атмосферных осадков: так, дождевая вода в незагрязненных районах бассейна Амазонки имела рН= 4–5 (Исидоров, 1994).

Вулканическая деятельность является причиной появления в воздухе газообразных поллютантов (галогены, сероводород, аммиак, некоторые токсические органические вещества). Так, в пробах газов вулканов островов Кунашир и Камчатка идентифицировано около 100 органических соединений с длиной цепи до 12 углеродных атомов. В вулканических газах грязевых вулканов обнаружено большое количество галогеноводородов и фреонов. В газах вулканов Никарагуа содержится значительное количество фтористого водорода (Зеленин К.Н., 1998).

Основными источниками органических токсикантов являются каменный и бурый уголь, нефть и нефтепродукты, природные газы.

Особый интерес представляют собой биологические токсины, которые возникли у живых организмов как результат адаптаций к окружающей среде. Различают бактериальные токсины, зоотоксины, фитотоксины и микотоксины.

Бактериальные токсины. Их более 150. Среди них наиболее известными являются: ботулотоксин, стафилококковые токсины: α , β , γ -гемолизины, δ -лизин, лейкоцидин, энтеротоксины, эксфолиатины, холерные токсины, дифтерийные токсины. Бактерии могут продуцировать и такие вещества, как формальдегид, ацетальдегид, бутанол и др. (Пяткин, Кривошеин, 1980).

Микотоксины. Химическое строение и биологическая активность микотоксинов очень разнообразны. Особую опасность представляют

собой токсины грибов, поражающих растения и животных. Это эрготоксины, продуцируемые спорыньей (*Claviceps*), афлатоксины и охратоксины, выделяемые грибами группы *Aspergillus*, трихоценовые микотоксины, продуцируемые грибами рода *Fusarium*. Микотоксины вызывают различные гнили у растений. Наиболее изученными являются викторин, выделяемый *Cochliobolus victoriae*, вызывающий корневую гниль, пирикулярин (*Pyricularia oryzae*), вызывающий гниль стеблей и корневой шейки, коллетотин (*Colletotrichum fuscum*) – возбудитель антракноза.

Бактериальные токсины и микотоксины у животных поражают в основном нервную и сердечно-сосудистую системы, а у растений вызывают гнили, поражающие сосудистую систему.

Продуцируют токсины и высшие грибы, например, аманитины, амманины и фаллоидины бледной поганки (при попадании в пищу вызывают поражение печени и почек человека). Некоторые грибы выделяют токсины с выраженной галлюциногенной активностью (Куценко, 2004).

Растения, защищаясь от травоядных и всеядных животных, вырабатывают мощные *фитотоксины*, к ним, например, относятся алкалоиды (азотосодержащие гетероциклы), органические кислоты, гликозиды (продукты конденсации циклических форм моно- или олигосахаридов с фенолами, тиолами, аминами и т.д.), лектины (высокотоксичные белки и гликопротеины), сапонины, кумарины (кислородосодержащие гетероциклы). Действие многих фитотоксинов направлено на подавление роста патогенных грибов, например, хлоргеновая кислота и многие кумарины (Тарр, 1975). Простейшим токсином высших растений является синильная кислота, присутствующая в связанной форме в виде цианогенных гликозидов. Синильная кислота высвобождается в процессе ферментативного гидролиза при повреждении клеток растений. Типичным представителем таких гликозидов является амигдалин.

Массовое размножение токсичных водорослей динофлагеллат, выделяющих при гибели сакситоксин («красный прилив»), приводило

к гибели морских обитателей этого района. (Овчинников, 1987; Орлов, Гелашвили, Ибрагимов, 1990; Лазурьевский, Терентьева, 1975).

Зоотоксины – это токсины, либо продуцируемые животными (ядовитые амфибии, рыбы, рептилии, насекомые, моллюски, гидродные полипы и др.), либо способные аккумулироваться животными из окружающей среды (моллюски, например, накапливают в тканях сакситоксины). Химическое строение зоотоксинов очень разнообразно – это ферменты, липиды, биогенные амины, различные протеины, гликозиды, терпены. Часто активные зоотоксины (это те, которые животные вводят в тело жертвы с помощью специальных приспособлений – иглы, жала, зубов и т.п.) представляют собой смесь биологически активных веществ. Например, яд скорпиона содержит: фосфолипазы А и В, фосфатазу, ацетилхолинэстеразу, гиалуронидазу, рибонуклеазу и др. ферменты. Некоторые токсины обладают специфичностью действия, например, сакситоксид и тетрадоксин – избирательные блокаторы Na-каналов (Орлов, Гелашвили, 1985; Пигулевский, 1975; Пигулевский, 1966).

Искусственные токсиканты могут быть самыми различными по происхождению: это и антропогенные поллютанты, и специально синтезированные соединения. Многие виды антропогенной деятельности сопровождаются выделением в атмосферу самых различных веществ.

Большинство антропогенных источников загрязнителей окружающей среды находится в городах, однако сегодня действие антропогенных поллютантов стало повсеместным: так, над сельскохозяйственными угодьями ежегодно рассеивается 4 млн тонн ядохимикатов, одна треть которых смывается поверхностными стоками в водоемы или задерживается в атмосфере. Засорение связано не только с чрезмерным использованием ядохимикатов. Это и неочищенные бытовые стоки, смывы удобрений во время дождей с полей, неправильное использование удобрений, неправильное хранение сельскохозяйственной продукции (Оксенгендлер, 1991).

Одним из самых распространенных типов поллютантов являются продукты неполного сгорания топлива – оксиды углерода, серы и азота, а эксплуатация транспортных средств, использующих этилированный бензин, приводит не только к выбросу в атмосферу вышеперечисленных оксидов, углеводородов, но и нейротропного яда свинца. В США 63% выбросов приходится на автомобильный транспорт (Зеленин, 1998).

Вторым по мощности антропогенным загрязнителем окружающей среды являются промышленные производства, в выбросах которых обнаруживается хлор, аммиак, серный ангидрид. Выбросы нефтехимической промышленности содержат компоненты исходного сырья, промежуточные и побочные продукты синтеза. Велики потери используемых в промышленности растворителей, на их долю в промышленных странах приходится 25% эмиссии углеводородов.

Заметным источником загрязнения окружающей среды стали коммунальные хозяйства городов. В бытовых условиях образуются газообразные поллютанты при приготовлении пищи, ремонте квартир, использовании бытовой техники. В выбросах вентиляционных систем обнаружено более 40 токсических и дурно пахнущих веществ. При сжигании в горелке кухонной плиты 1 м³ природного газа образуется 150 мг формальдегида. Тонна захороненных на свалках бытовых отходов в течение 25 лет выделяет до 30 м³ метана, причем 70% этого количества – в первые 10 лет хранения (Зеленин, 1998).

Многие токсиканты обладают кумулятивными свойствами. Даже самые малые концентрации токсикантов, вызывающие невинную физиологическую реакцию, приводят в конечном итоге к развитию хронической интоксикации, последствием которой являются снижение иммунитета и различного рода патологии.

Иногда антропогенные поллютанты приводят к развитию катастрофической ситуации. Речь идет о смогах. Смоги, как правило, вызывают функциональные и патологические сдвиги в организме вследствие совместного действия нескольких веществ (Оксенгендлер, 1991).

Несомненно токсическую опасность представляют собой сбросовые воды (это бытовые сточные воды и промышленные сточные

воды). Часто объемы промышленных стоков в десятки раз превосходят объемы произведенной продукции (Стадницкий, Родионов, 1988). В реку Волгу, бассейн которой обеспечивает питьевой водой более 60 млн человек, ежегодно сбрасывается около 7 млрд. м³ сточных вод, в том числе 1 млрд м³ без всякой очистки (Оксенгендлер, 1991). 30% объема сточных вод, попадающих в Волгу, приходится на долю жилищно-коммунальных хозяйств.

Анализируя токсиканты, создаваемые человеком специально, необходимо отметить, что синтез многих препаратов базируется на частичной избирательной токсичности; к таким препаратам относят и пестициды, и лекарственные препараты, и боевые отравляющие вещества. Кроме того, многие токсиканты являются необходимыми элементами производственных циклов (органические растворители, катализаторы, антикоррозийные средства, горючие и смазочные материалы).

Кратко рассмотрим синтезируемые токсиканты.

Пестициды – токсиканты, предназначенные для борьбы с животными и растениями-вредителями с целью повышения урожайности и сохранения материальных ценностей, производимых человеком. До сих пор селективность многих пестицидов остается очень слабой, поэтому постоянно наблюдаются отравления рабочих на производствах, где производится синтез пестицидов (Оксенгендлер, 1991). Широкое и постоянное использование пестицидов создало векторный отбор в пользу устойчивости животных-вредителей и сорных растений к ним. Это, в свою очередь, привело к поиску и синтезу новых эффективных пестицидов. Все разнообразие пестицидов, по Куценко (2004), можно свести к следующим типам (см. таблицу 2).

Среди соединений, специально синтезированных человеком для собственных нужд, фосфорорганические соединения служат примером слабой избирательной токсичности. Самым первым из них был синтезирован тэтраэтилпиррофосфат (ТЭПФ), который из-за его высокой токсичности для млекопитающих впоследствии был запрещен.

Класс фосфорорганических ядов обширен, к ним относится и известное боевое отравляющее вещество – «табун» (Оксенгендлер, 1991).

Таблица 2

Классы пестицидов

Название классов	Основные химические группы
1	2
Альгициды	Оловоорганические соединения (брестар)
Фунгициды	Дикарбоксимиды (каптан) Хлорированные ароматические углеводороды (пентахлорфенол) Диокарбанаты (манеб) Соединения ртути (ацетат фенил ртуль)
Инсектициды	Хлорированные углеводороды – аналоги ДДТ (ДДТ, хлордан, метоксихлор) Циклодиены (алдрин) Хлорированные тепены (токсафен) Фосфорорганические соединения (паратин) Карбаматы (карбарил) Тиоцены (летан) Динитрофенолы (ДНОК) Фторацетаты (ниссол) <i>Растительные алкалоиды</i> Никотин Ротеноиды (ротенон) Пиретроиды (перметрин) Аналоги гормонов роста (метопрен) Производные мышьяка (арсенат свинца) Фторсодержащие соединения (фторид натрия)
Гербициды	Амиды и ацетамиды (пропанил) Биопиридилы (паракват) Карбаматы и тиокарбаматы (барбан) Фенокислоты (2,4 – Д) Динитрофенолы (динитрокрезол) Динитроаналины (трифлюранил) Производные мочевины (монурон) Триазины (атразин)

1	2
Моллюскоциды	Хлорированные углеводороды (байлусцид)
Акарициды	Сероорганические соединения (овекс) Формамидины (хлордифенформ) Динитрофенолы (динекс) Аналоги ДДТ (хлорбензилат, мирекс, мендан, хлордан)
Родентициды	Антикоагулянты (варфарин) Алкалоиды (стрихнин) Фторсодержащие соединения (фторацетат) Производные тиомочевины (нафталтиомочевина) Соединения таллия (сульфат таллия)

Многие гербициды также демонстрируют низкую избирательную токсичность. Печально известна «оранжевая смесь», в состав которой входили 2,4-Д и 2,4-Т – это производные феноксиуксусной кислоты, используемые в качестве дефолианта во время войны во Вьетнаме (Оксенгендлер, 1991). Эти производные были безопасны для человека, однако в состав «оранжевой смеси» входил 2,3,7,8-тетрахлордибензодиоксин (ТХДД), который оказался для людей не только токсичным соединением, но и канцерогеном, и мутагеном.

Особенно высокие требования в отношении избирательной токсичности предъявляются к лекарственным препаратам. Однако данные отечественных и зарубежных авторов говорят о том, что в настоящее время от 11 до 13% всех отравлений связано именно с применением лекарственных препаратов. Токсическое действие лекарственных препаратов имеет несколько причин:

- врачебная ошибка в расчете дозы;
- генетические особенности пациента (индивидуальная непереносимость препарата или болезнь печени или почек);
- нерациональная комбинация и, вследствие этого, несовместимость препаратов;
- кумуляция в отдельных органах и тканях;
- побочные эффекты действия;

- влияние пищевого фактора на фармакокинетику;
- невозможность лечения иным способом (противоопухолевые препараты) (Оксенгендлер, 1991).

В настоящее время существует раздел токсикологии, изучающий токсические эффекты, действия тех или иных лекарственных препаратов. Этот раздел называется «лекарственная токсикология».

До сих пор существуют токсиканты, которые, несмотря на все проверки, попадают в косметические препараты и пищевые добавки, например, «Конго красный» используется как пищевой краситель (Grover, Kaur, Mahajan, 1996).

Особое место среди токсикантов, синтезируемых человеком, занимают боевые отравляющие вещества. Несмотря на то, что многими странами принята и подписана «Парижская конвенция о запрещении применения, разработки и накопления химического оружия», пройдут многие годы, пока будут уничтожены запасы химического оружия.

Таким образом, можно отметить следующее: расширяющееся внедрение химических соединений во все сферы жизни и деятельности людей создает ситуацию, которая вызывает у организмов отравления различного типа, поэтому необходимо развитие методов, прогнозирующих возможные последствия действия химических соединений на организмы, для высокоэффективной защиты живых существ.

Кроме того, хотелось бы внести ясность еще по одному аспекту действия токсикантов. В процессе эволюции возрастает сложность биосистем. По мере того как совершенствуются и усложняются организмы, увеличивается число способов, с помощью которых различные вещества оказывают негативное воздействие на высшие организмы. Возможно, поэтому огромное количество соединений являются, например, ядами для млекопитающих, но проявляют слабую токсичность для прокариот.

Ранее мы уже говорили об использовании людьми такого феномена, как избирательная токсичность, которое стало причиной создания высокоэффективных лекарственных препаратов. Однако уже в конце XX века повсеместно был обнаружен феномен устойчивости

патогенных микроорганизмов к лекарственным препаратам. Безусловно, микробиологи знали и раньше о способности микроорганизмов адаптироваться к неблагоприятным условиям внешней среды. Известна и резистентность патогенных грибов к широко распространенным фунгицидам (Тарр, 1975). Резистентность к лекарственным препаратам проявилась почти у всех возбудителей инфекционных заболеваний. В настоящее время скорость процесса распространения штаммов, устойчивых к ранее высокоэффективным препаратам, стала столь высока, что в 2001 г. Всемирная организация здравоохранения приняла и опубликовала фундаментальный документ «Глобальная стратегия по сдерживанию антимикробной резистентности» (Сидоренко, Тишков, 2004).

Быстрое распространение резистентности к известным и вновь синтезированным антибактериальным препаратам, а также аллергические и часто токсические реакции людей, подвергнутых лечению этими препаратами, поставили перед медициной и биологией серьезные вопросы о роли загрязнения окружающей среды и о механизмах токсичности антропогенных ксенобиотиков в развитии резистентности у прокариот и обострению чувствительности к действию токсиантов у человека.

ГЛАВА 2

КАНЦЕРОГЕННОСТЬ И КАНЦЕРОГЕНЫ

Канцерогенность – это способность соединений вызывать неопластическую трансформацию у организмов. Вещества, достоверно увеличивающие частоту возникновения опухолей или способные сокращать период их развития у человека и животных, называются канцерогенами (Куценко, 2004).

Канцерогены, в отличие от токсикантов, обладают двумя свойствами:

- отсутствие пороговых доз;
- отсроченный характер действия.

В 1775 г. Potts (Cook & et.al., 1933 по Альберт, 1989б) связал частоту возникновения рака мошонки у молодых трубочистов с действием смолы и сажи. Через полтора века из каменноугольной смолы было выделено химическое соединение, которой было причиной возникновения раковых опухолей данного типа – им оказался бенз[а]пирен. До этого считали, что рак – это болезнь старости, впоследствии стало очевидным, что причины рака могут быть разнообразны. Неопластическая трансформация может быть вызвана нарушением процессов генетической регуляции метаболизма клетки, связанным как с воздействием каких-то ксенобиотиков, так и с флюктуационными процессами, изменяющими метаболизм нуклеиновых кислот без внешнего воздействия.

В настоящее время число канцерогенов точно не описано, однако известно, что 56 соединений, широко используемых в промышленности, являются канцерогенами для человека; кроме того, существуют виды производственной деятельности, где высок риск заболевания раком. Это производство асбеста (рак легких); обработка изделий из хрома и никеля (рак легких); кадмия (рак простаты); химические предприятия, где производится синтез резины (рак легких); синтез аминов (рак мочевого пузыря). Есть мнение, что на данных производ-

ствах существует комплексное сочетанное действие многих или нескольких соединений (Худолей, 1993).

Доказательством сочетанного действия соединений, приводящего к возникновению рака, является табачный дым. Показано, что 90% случаев рака легких есть следствие неумеренного курения.

Наиболее авторитетным источником о канцерогенности соединений являются монографии Международного агентства изучения рака (МАИР), которое еще в 1969 году разработало программу и критерии оценки канцерогенной опасности (не путать с канцерогенностью) химических соединений для человека. За период 1972-1992 гг. МАИР опубликовало 54 тома и 8 приложений по оценке канцерогенного риска различных веществ для человека, где даны заключения о более чем 800 химических веществах, сложных смесях и производственных процессах.

Главным критерием включения соединений в списки МАИР являются:

- экспериментально полученные данные о канцерогенности соединений;
- возможность и частота контакта человека с данными соединениями.

Доказательства канцерогенности соединений для человека основаны на комплексной экспертной оценке имеющихся результатов в эпидемиологических исследованиях, опытов на животных и краткосрочных тестов. Особое значение имеют эпидемиологические данные, полученные в основных когортных исследованиях по методу «случай-контроль» и корреляционных анализах, разделенные на четыре категории:

убедительные – если установлена связь между воздействием и развитием рака у человека;

ограниченные – если на основании экспериментальных данных предполагается канцерогенный эффект, но нельзя исключить фактор случайности или воздействия дополнительных факторов;

неадекватные – если результаты исследований указывают как на положительную, так и на отрицательную связь между воздействием и развитием рака. Чаще всего это результат недостатка данных или наличия дополнительных факторов;

отсутствие канцерогенности – наличие адекватных исследований, показавших отсутствие канцерогенного эффекта.

Доказательства канцерогенности для животных несколько иные, но их также делят на 4 категории:

достаточные – если при воздействии соединения повысилась частота новообразований, как доброкачественных, так и злокачественных; причем это должны быть исследования на двух или более видах или эксперименты произведены в двух или более лабораториях на одном виде, но независимо друг от друга;

ограниченные – если эксперименты обнаружили канцерогенный эффект действия соединений, однако существуют сомнения в корректности постановки эксперимента и интерпретации данных, или агент увеличивает частоту только доброкачественных опухолей, или используется линия животных, для которой описано спонтанное возникновение опухолей;

неадекватные – когда результаты экспериментов нельзя интерпретировать в отношении наличия или отсутствия канцерогенности из-за, например, существования качественно/количественных погрешностей;

отсутствие доказательства – когда результаты как минимум двух экспериментов не выявили канцерогенной активности (Худолей, 1993).

Доказательства канцерогенности, полученные в краткосрочных тестах, имеют вспомогательное значение, так как указывают лишь на потенциальную канцерогенную опасность (Худолей, 1984).

Существуют различные классификации канцерогенов:

- по степени доказанности их канцерогенности;
- по происхождению;
- по химической структуре;

- по степени участия в различных стадиях развития рака;
- по характеру действия.

По степени доказанности канцерогенности эксперты МАИР распределили все известные соединения на четыре группы.

1 группа.

Факторы и соединения, способные вызывать развитие рака у человека. Их всего 56, кроме того, в эту группу включены не только соединения, используемые в быту, в промышленности, сельском хозяйстве и медицине, но и сами производственные условия, так как реальная онкогенная опасность на ряде производств обусловлена суммарным действием ряда факторов и экспозицией их действия.

2 группа.

Вещества и факторы, канцерогенность которых доказана на основе эпидемиологических и экспериментальных данных, в том числе и краткосрочных тестов.

Эта группа состоит из двух подгрупп.

2А – агенты с высокой степенью доказанности, то есть они «ограничены» для человека и «убедительны» для животных, например, азотистый иприт и формальдегид. Всего сюда вошел 51 агент.

2Б – химические соединения, вероятно, вызывающие рак у человека, то есть «ограничены» для человека и отсутствие убедительных свидетельств в опытах на животных. В эту группу вошло 192 фактора. К ним относятся азатолуол, кобальт, ТХДД (2,3,7,7-тетрахлордибензо-р-диоксин), акриламид и др.

3 группа.

Это агенты, не классифицированные как канцерогены для человека. Обычно сведения о них можно найти в специальных монографиях МАИР. К ним относятся катехол, фуразолидон и др. Эта группа включает 446 химических агентов (Худолей, Мизгирев, 1996).

4 группа.

Агенты не канцерогенны для человека (из оценок экспертов МАИР), например, капролактамы (Худолей, 1993).

По происхождению все канцерогены делятся на природные и антропогенные.

Природные канцерогены – это соединения, содержание которых в среде не зависит от человека.

На планете действует около 520 вулканов. С вулканическим пеплом в атмосферу поступает 12-24 тонны только бенз[а]пирена, кроме того, в вулканических выбросах, а их ежегодный выброс составляет 3-6 млрд т. химических веществ, обнаружены полициклические ароматические углеводороды, которые также обладают канцерогенной активностью. Ежедневно на поверхность Земли оседает около 170 т. метеоритной пыли, в составе которой обнаружили полициклические углеводороды (ПАУ) (Куценко, 2004).

Обнаружены и описаны природные источники таких канцерогенов, как мышьяк, асбест, радионуклиды. Иногда канцерогены природного происхождения накапливаются в пищевых цепях (афлатоксин) и таким образом попадают в организм человека (Оксенгендлер, 1991).

Канцерогены антропогенного происхождения не являются следствием научно-технической революции.

Первыми канцерогенами, действию которых подвергались люди, были продукты пиролиза белков и жиров, возникающие при приготовлении пищи на костре (Ильинских и др., 1990; Экология..., 1985).

Накопление канцерогенов в атмосфере нарастало параллельно с развитием научно-технического прогресса. Так, в 1991 году был принят национальный перечень веществ и продуктов, производственных процессов и бытовых факторов, канцерогенных для человека, действовавший в СССР и действующий в настоящее время на территории России (Министерство..., 1991). Ниже мы представили этот перечень.

I. Соединения и продукты, производимые промышленностью, природные канцерогены

Для всех соединений, представленных в первом разделе и объединенных в таблице 3, показаны цифрами основные пути поступления агентов в организм: 1 – ингаляционный, 2 – пероральный, 3 – через кожу.

Таблица 3

Канцерогены, производимые и используемые промышленностью

№	Название агентов	Пути поступления
1	4-Аминобифенил	1, 2, 3
2	Асбесты	1, 2
3	Афлатоксины В ₁ , В ₂ , G ₁ , G ₂	2
4	Бензидин	1, 2, 3
5	Бензол	1, 3
6	Бериллий и его соединения	1
7	Бенз[а]пирен	1, 2, 3
8	Бисхлорметиловый и хлорметиловый эфиры	1
9	Винилхлорид	1, 2
10	Возгоны каменноугольных смол и пеков	1, 2, 3
11	Иприт сернистый	1
12	Каменноугольные и нефтяные смолы	1, 3
13	Каменноугольные и нефтяные пеки	1, 3
14	Минеральные масла неочищенные	1, 3
15	Мышьяк и его неорганические соединения (триоксид, арсенат кальция, арсенат натрия, пентоксид, сульфид)	1, 2, 3
16	1-нафтиламин, содержащий более 0,1% 2-нафтиламина	1, 2, 3
17	2-нафтиламин	1, 2, 3
18	Никель и его соединения (никеля оксид, гидроксид, карбонил, хлорид, субсульфид, карбонат, никелоцен, сульфид, хромфосфат)	1
19	Смеси соединений никеля (файнштейн, никелевый концентрат и агломерат, обратная пыль очистных устройств)	1
20	Сланцевые масла	1, 3
21	Тальк, содержащий асбестовые волокна	1
22	О-толуидин	1, 2, 3
23	Соединения шестивалентного хрома (хроматы, бихроматы, оксиды карбония, фосфат, хлорид, ацетат, сульфат)	1
24	Эрионит	1

II. Лекарственные препараты и методы лечения

1. Азотиоприн.
2. Анальгитические смеси, содержащие фенацетин.
3. Мелфалан.
4. Комбинированная химиотерапия с использованием азотистого иприта, винкристина, прокарбазина и других алкилирующих агентов.
5. Милезан.
6. Треосульфат.
7. Хлорамбуцил.
8. 2-2(хлорэтил)-3-(4-метилциклогексан)-1-нитрозомочевина.
9. Циклофосфалид.
10. Эстрогены стероидные (эстрадиол-17b и его эфиры, эстрадиол, эстрон, этинил эстрадиол, местранол, конъюгированные эстрогены).
11. Эстрогены нестероидные (диэтилстильбестрол, диенэстрол, гексэстрол).
12. Эстрогенсодержащие контрацептивы орального применения.
13. ТИОТЭФ (трис(1-азиридинил)фосфинсульфид).

III. Производственные процессы, связанные с опасностью развития злокачественных новообразований у рабочих (помимо перечисленных, к таким производствам относятся те, на которых на человека воздействуют продукты из разделов I, II)

1. Деревообрабатывающие и мебельные производства (машинная обработка древесины и мебельных заготовок в закрытых помещениях, фанерование).
2. Медеплавильное производство (плавильный передел, огневое рафинирование).
3. Производство 1-нафтиламина из нитронафтиламина, содержащего примесь 2-изомера.
4. Производство изопропилового спирта.
5. Производство кокса, переработка каменноугольной и сланцевой смол; газификация угля.
6. Производство резиновых изделий.
7. Производство технического углерода.

8. Производство чугуна и стали (агломерационные фабрики, доменное и сталеплавильное производство, горячий прокат) и литья из них.

9. Электролитическое производство алюминия с использованием самоспекающихся анодов, капитальный ремонт электроузелов.

IV. Бытовые факторы

1. Алкоголь.
2. Табачный дым.
3. Табачные продукты бездымные.

По химической структуре канцерогены очень разнообразны. Среди них – полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), гетероциклические соединения (см. рис. 3), ароматические азосоединения, ароматические аминосоединения, нитрозоамины, нитроамины, металлы и металлоиды, неорганические соли. Такое разнообразие химического строения канцерогенов говорит о том, что они способны нарушать различные стадии метаболизма, что и приводит к развитию канцерогенного ответа.

Канцерогенез проходит через несколько стадий, прежде чем сформируется опухоль: инициация (процесс, запускающий трансформацию клеток), промоция (процесс, в ходе которого инициированная клетка завершает неопластическую трансформацию), прогрессия (дальнейшая трансформация генетического материала). Инициация и промоция могут быть вызваны химическими веществами (канцерогенами), прогрессия может происходить без вмешательства канцерогенов (Куценко, 2004).

По типу действия все канцерогены можно разделить на инициаторов и промоторов. Стадия инициации – всегда повреждение генетического материала клетки. Мутагенез, вызванный действием химических факторов, мы рассмотрим в главе 4. Здесь же необходимо отметить, что для канцерогенов-инициаторов характерны необратимость, кумулятивность, беспороговость, отсутствие морфологических проявлений, зависимость эффекта от особенностей метаболизма клетки и фаз ее клеточ-

ного цикла. Первым обнаруженным инициатором была каменноугольная смола, к канцерогенам-инициаторам относится и бенз[а]пирен.

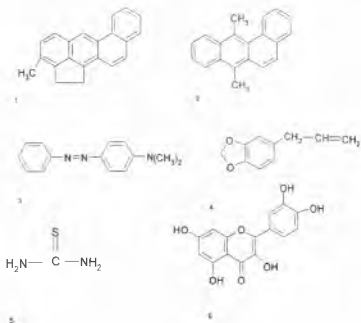
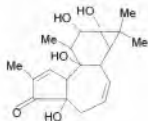


Рис.3. Структура некоторых канцерогенов:

- 1 – 3-метилхолантрен, 2 – 7,12-диметилбензантрацен,
3 – 4-диметиламиноазобензол, 4 – сафрол, 5 – тиомочевина,
6 – кверцетин

Промоторы – это агенты, не способные вызвать неопластическую трансформацию, однако они завершают этот процесс, запуская экспрессию специфических генов. Действие промоторов – обратимо, неаддитивно, модулируется факторами окружающей среды и сопровождается морфологическими проявлениями опухолевого роста.

Одним из давно известных промоторов является кротонное масло или его активное начало – эфиры тетрациклического многоатомного спирта форбола (Альберт, 1989б).



форбол

Промоторами могут быть гормоны, лекарственные препараты. Многие промоторы являются органо-специфичными. Так, промоторы опухолей, инициируемых метилнитрозомочевинной, в печени крыс – это фенобарбитал, в мочевом пузыре – сахарин. Часто промоторами выступают пищевые жиры, табачный дым, галогенированные углеводороды, алкоголь и т.д. (Худолей и др., 1986).

Необходимо отметить существование обширного класса соединений, которые называются *коканцерогенами*. Это вещества, увеличивающие вероятность формирования новообразований, действующие на организм совместно с канцерогенами или до воздействия канцерогенами. Они отличаются от промоторов, которые могут действовать только после того, как опухоль инициирована.

Коканцерогены способны:

- увеличивать скорость поступления канцерогенов в клетку;
- интенсифицировать биоактивацию проканцерогенов (вещества, приобретающие свойства канцерогенов в процессе метаболизма) в организме;
- подавлять процесс детоксикации канцерогенов, угнетать процессы репарации ДНК, усиливать повреждение ДНК (Альберт, 1989б);
- угнетать механизмы репарации поврежденной ДНК.

Многочисленные исследования показали, что пыль диоксида кремния является коканцерогеном бенз[а]пирена, вызывающего карциному гортани, трахеи и легких у экспериментальных животных. Табачный дым является коканцерогеном асбеста. У рабочих, профессионально контактирующих с асбестом, частота смертей от рака легких в пять раз выше, чем у не контактирующих с асбестом. У курящих рабочих асбестовых предприятий частота злокачественных новообразований в 55 раз больше, чем у рабочих, не контактирующих с асбестом.

В целом, оценивая химический канцерогенез, можно все механизмы действия канцерогенов объединить в две группы: генетические и эпигенетические.

Генетические механизмы включают в себя механизмы нарушения генетического аппарата как за счет взаимодействия канцерогена с ДНК, так и с белками-регуляторами клеточного деления. Доказательством таких механизмов является то, что многие канцерогены взаимодействуют с ДНК, образуя ковалентные связи; многим формам рака сопутствует изменение генной экспрессии (как правило, активируются онкогены). Повреждение механизмов репарации создает предпосылки к канцерогенезу.

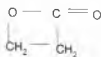
Эпигенетические механизмы зависят от состояния клетки и организма, состояния окружающей среды. Под этим понимаются особенности метаболизма, характерные для определенных видов тканей; активация свободных радикалов в клетке; изменение метаболизма организма под действием факторов окружающей среды; наличие нормального питания; фаза циркадного ритма; фаза лунного цикла и т.п.

Так, известны соединения, которые приобретают канцерогенную активность в процессе метаболизма, они получили название *проканцерогенов* (в отличие от веществ, непосредственно взаимодействующих с клеточными элементами, вызывая неопластическую трансформацию, которые называются *полными канцерогенами*) (Куценко, 2004). К проканцерогенам можно отнести, например, азокрасители.

Многие полные канцерогены являются сильными электрофилами или становятся таковыми в результате неэнзиматических реакций, например



этиленимин



пропиоацетон

Косвенным доказательством участия свободных радикалов в трансформации клеток служит доказанная способность антиоксидантов подавлять химический канцерогенез.

Часто гормональные нарушения изменяют чувствительность организма к воздействию канцерогенов. Так, введение самцам крыс

женского полового гормона – эстрадиола – снижает их чувствительность к канцерогенному действию 2-ацетиламинофлюорена.

Получены косвенные доказательства того, что голодание по определенным типам питательным веществ делает некоторые ткани более чувствительными к действию химических канцерогенов. Так как гены-регуляторы клеточного деления строго функционируют в связи с биологическими часами, то есть проявляют циркадную активность, то факторы, нарушающие биологические ритмы, создают предпосылки для развития канцерогенного ответа.

Подводя итоги анализу такого типа биологической активности, как канцерогенность, необходимо отметить сложность изучения этого типа активности. Это связано с рядом причин: в первую очередь, с тем, что существует латентный период развития опухоли – у людей, например, латентный период злокачественных заболеваний крови составляет 5-10 лет, тканей – 20 лет. Кроме того, существуют генетические особенности как индивидуумов, так и популяций, которые влияют на частоту проявления и развития раковых опухолей, дефекты ранней диагностики, неспособность учесть все факторы, влияющие на канцерогенез. Тем не менее, были разработаны ПДК по канцерогенному эффекту и УБД (*условно безопасная доза*)

Под ПДК канцерогена понимается такая его концентрация, при воздействии которой на персонал, работающий с этим веществами в течение всего периода трудовой деятельности, или населения, в течение всей жизни проживающего в районе расположения химического предприятия, гарантируется с высокой надежностью (заранее заданной) отсутствие канцерогенных эффектов, которые можно было бы выявить современными методами эпидемиологических и экспериментальных исследований.

УБД представляет собой дозу канцерогена, при которой возможно лишь небольшое увеличение числа новообразований в сравнении с контролем. Обычно этот прирост принимается как 10^{-5} – 10^{-6} (1 дополнительный случай на 100 тысяч – 100 миллионов человек, подвергнувшихся воздействию). Величина УБД не подлежит экспе-

риментальной проверке, ее значение определяется выбранной математической моделью (Канцерогенный..., 1987; Куценко, 2004).

Если количество канцерогена в окружающей среде существенно превышает ПДК и УБД, можно говорить о высоком риске химического канцерогенеза в популяции. Степень риска тем выше, чем выше степень превышения.

Проблема химического канцерогенеза не нова, многие вещества, ныне определяемые как канцерогенные, существовали на заре эволюции, вызывая при определенных условиях неопластические трансформации у организмов, контактирующих с ними.

ГЛАВА 3 ТЕРАТОГЕНЕЗ

Свыше пяти миллионов детей на Земле рождаются с резко выраженными дефектами (Kuliev, Modell, 1990). Такие дети или умирают сразу, или требуют постоянной семейной или врачебной помощи.

Каковы причины возникновения уродств?

Известно, что любой процесс развития (ооплазматическая сегрегация, цитодифференцировка, морфогенез, аллометрический рост) есть упорядоченное усложнение (Белоусов, 1980). Под усложнением понимается возрастание морфологически различных особенностей, а под упорядочиванием понимается отсутствие хаоса. Выражаясь в терминах теории симметрии, в онтогенезе происходит диссимметризация. Причем необходимо помнить, что порядок симметрии фенотипа любого зачатка или некоторой эмбриональной ткани, как правило, значительно ниже симметрии ее генотипа.

Стрессовые воздействия вызывают изменения гомеостаза развития, которые, в свою очередь, можно оценить изменениями показателей флуктуирующей асимметрии (Гилева, Косарева, 1994; Бурлак, 1998; Чубанишвили, 1998; Гилева, Нохрин, 2001).

Необходимо отметить тот факт, что поддержание симметрии жизненно важно для животных, а для растений оно не является обязательным условием эффективной работы многих органов. В работе Кавеленовой (2003) было показано, что отсутствие симметрии в листьях березы повислой не снижало метаболическую активность листьев.

Анализ развития биосистем говорит о том, что в некоторые периоды развития они ведут себя как неустойчивые системы. Периоды, когда зародыши наиболее чувствительны к воздействиям внешних факторов, были названы фенокритическими (Светлов, 1960; Goldschmidt, 1961). Эти периоды, по мнению Белоусова (1980), являются периодами неустойчивости. Однако весь процесс онтогенеза канализирован (Waddington, 1942), и периоды устойчивости Уоддингтон предложил называть «креодами».

Таким образом, в онтогенезе чередуются (или наличествуют одновременно на разных уровнях организации) неустойчивые периоды развития (обычно короткие) и продолжительные устойчивые периоды.

Ниже представлены периоды онтогенеза:

- эмбриогенез (от оплодотворения до рождения);
- ювенильный период (от рождения до полностью сформированного состояния);
- взрослое состояние (половая зрелость и воспроизводство путем размножения);
- период старости (пострепродуктивный период, который завершается смертью).

Внутри каждого из этих периодов есть короткие критические периоды, которые связаны с включением новых генетических программ и их стабилизацией. Воздействие на организм в критические периоды развития приводит к трем последствиям: гибель, появление уродств (тератогенез) и возникновение мутаций (мутагенез). Повреждения могут возникнуть на любом этапе онтогенеза.

Тератогенез – это процесс возникновения уродств.

Тератогенные формы в последние годы обнаруживаются во многих природных экосистемах, подвергнутых антропогенному воздействию. Многие тератогенные формы не совместимы с жизнью, однако некоторые выживают и даже дают в процессе эволюции начало новым формам. Идея о том, что макромутации способны породить эволюционное новшество, принадлежит Р. Гольдшмидту. Нередко катастрофические уродства являются очевидными следствиями макромутаций, например, передние лапы крота – пример ахондроплазии. (Корочкин, 2002).

У растений также обнаружены различные уродства: выросты на поверхности листьев, карликовость пыльцы и цветков, появление рубцов и вздутий на плодах (Тарр, 1975; Черненкова, 2002; Кавеленова, 2003).

Постоянное присутствие ксенобиотиков в пресноводных водоемах привело к появлению различных морфологических aberrаций у

личинок рыб (Евланов, 1997). В результате исследования личинок карповых рыб из Куйбышевского и Саратовского водохранилищ были обнаружены различные отклонения, затрагивающие морфологию головы и хорды, глаз и плавников и т.д. (см. рис. 4).

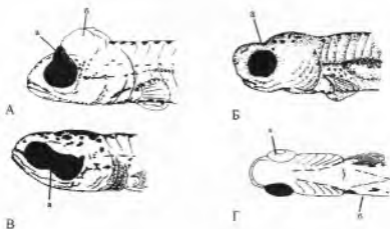


Рис. 4. Морфологические аномалии у личинок рыб
(по Евланову и др., 1999)

А – красноперка, ранняя личинка (а – пигментное образование около глаза, б – опухолевидное образование на голове); Б – чехонь, ранняя личинка (а – «мопсовидная» голова); В – лещ, ранняя личинка (а – раздвоенность глазного яблока); Г – тюлька, поздняя личинка (а – нарушение в пигментации глаза, б – отсутствие грудного плавника).

Очень долгое время считалось, что млекопитающие являются наиболее защищенными от действия факторов внешней среды (внутриутробное развитие, стабильно регулируемый гомеостаз). В 60-х годах двадцатого века это убеждение поколебалось, когда у женщин, принимающих безвредный, нетоксичный фармакологический препарат талидомид, рождались дети с тяжелыми формами уродств, которые, по сути, являлись фенокопией фокомелии (Оксенгендлер, 1991).

Возникла проблема анализа ксенобиотиков на возможную тератогенную активность.

Тератогенная активность – это способность химических соединений при воздействии на организм родителей и плод вызывать или способствовать появлению структурно-функциональных нарушений у потомства.

Тератогенами называют соединения, вызывающие тератогенный эффект в концентрациях, не оказывающих заметного влияния на организм родителей. Среди трех тысяч обследованных ксенобиотиков у 40% обнаружена тератогенная активность (Куценко, 2004).

Исследования инсектицидов, широко применяемых в сельскохозяйственной практике, выявили у них тератогенную активность.

Например, ДДТ, диелдрин, кепон, фенитроцион и метилпаратион проявляют не только тератогенность, но и эмбриотоксичность. ДДТ вызывал уменьшение яиц у самцов грызунов; диелдрин – нарушал способность зачатия у самок грызунов, у новорожденных замедлял окостенение скелета и приводил к возникновению дополнительных пар ребер; кепон – снижал число и подвижность сперматозоидов; а фенитроцион и метилпаратион вызывали эмбриональную смертность (Пилинская, 1986). Инсектицид гептахлор индуцировал доминантные летали и эмбриональную смертность у млекопитающих (Генетические..., 1989).

У растений часто тератогенез вызывают вещества, выделяемые паразитами – грибами и бактериями. Так, перикулярин вызывает пятнистость риса, викторин может привести к карликовости. Часто обработка растений инсектицидами приводит развитию уродливых форм плодов и побегов (Тарр, 1975).

Проанализировав все тератогенные патологии, их объединили в 4 класса:

- функциональные нарушения;
- замедление роста;
- морфологические нарушения;
- нарушения, приводящие к гибели.

Различают тератогенез мутационной и немутационной природы (Сипсон и др., 1985).

Анализируя свойства тератогенов млекопитающих, необходимо отметить, что только вещества, способные преодолеть плацентарный барьер, способны вызвать тератогенный ответ.

Существует видовая и индивидуальная чувствительность к тератогенному воздействию. Так, например, к действию талидомида чувствительны люди и приматы, однако только отдельные линии мышей и крыс реагируют на очень высокие дозы талидомида.

Среди критических периодов развития позвоночных наиболее губительные последствия наблюдаются при воздействии ксенобиотиком в первые 12 недель эмбрионального развития (закладка зародышевых листков и начало органогенеза) (Хадорн, Винер, 1989).

Тип нарушений, вызванный тератогеном, определяется стадией развития плода и его критическим периодом. Так, у человека известны несколько периодов, воздействие во время которых тератогенами будет органоспецифичным (Рэфф, Кофмен, 1986).

Промежуток времени, в течение которого тератоген может вызвать в органе развитие порока, называется *тератогенным терминационным периодом* (Бочков Н.П., 1997) (рис. 5).

Чувствительность закладок разных органов к действию ксенобиотиков в разные сроки пренатального онтогенеза сильно варьируется, однако, по-видимому, наиболее важным является осознание того, что самые различные тератогены, воздействующие на определенные стадии, дают сходные морфозы (уродства). Из рис. 5 видно, что наиболее рано нарушается развитие центральной нервной системы и сердца.

Оказалось, что большинство тератогенов имеет некоторый порог воздействия, ниже которого вещество не проявляет своих тератогенных свойств (Лужников, 1994). Возможно, этот порог связан со способностью эмбриона репарировать или компенсировать действие тератогена. Так, было показано, что введение в пищу диоксина (ТХДД) беременным мышам в дозе 1 мкг/кг на десятый день беременности вызывало у 34,3% новорожденных anomalies почек, а в дозе 3 мкг/кг – у 55% расщепление нёба и у 95% – anomalies почек (Куценко, 2004).

Преорганогенез (недели)		Эмбриональный период (недели)						Плодный период (недели)							
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
От оплодотворения до образования двухслойного диска		[штрихованная область]						центральная нервная система							
		[штрихованная область]						сердце							
		[штрихованная область]						уши							
		[штрихованная область]						глаза							
		[штрихованная область]						руки							
		[штрихованная область]						ноги							
		[штрихованная область]						губы							
		[штрихованная область]						зубы							
		[штрихованная область]						небо							
		[штрихованная область]						наружные половые органы							
		смерть		врожденные пороки развития						функциональные дефекты и микроаномалии					

Рис. 5. Тератогенные терминационные периоды у человека для разных органов (по Бочкову, 1997)

Анализируя механизм действия тератогенов, можно сказать, что в зависимости от критического периода развития и от строения тератогена наблюдаются:

- мутации различного уровня;
- ингибирование репарационных процессов;
- нарушение процессов митоза;
- нарушение синтеза белка и РНК;
- нарушение поступления питательных веществ в клетки эмбриона;
- нарушение энергетического обмена;
- повреждение мембранного аппарата клеток (Перспективы..., 1986).

Фенотипический эффект редко, но, как мы указывали раньше, может иметь эволюционное значение, обуславливающее появление так называемого «многообещающего уroda», значительно отклоняющегося в своем развитии от нормы. Эти «уроды» могут быть преадаптированы к существованию в определенных условиях среды. Системная реорганизация онтогенеза реализуется либо через систему геномодификаторов, либо благодаря мутациям, существенно изменяющим функционирование структур типа эндокринных желез, продуцирующих различные гормоны и оказывающих влияние на развитие организма в целом.

Гольдшмидт приводит в качестве примера такие фенотипические эффекты, основывающиеся на действии гормонов, как акромегалия, гигантизм, карликовость, ахондроплазия. Н.Н. Воронцов, разделявший взгляд Р. Гольдшмидта, представил доказательство макромутационного возникновения безволосых видов млекопитающих за счет единственной макромутации типа *hairless*. Такие мутации могут быть ответственны за инициацию серии изменений преадаптивного характера. Справедливости ради необходимо отметить, что такие явления довольно редки, поэтому любые воздействия на развивающиеся организмы вызывают изменения неадаптивного вида.

Всегда особое внимание уделялось причинам возникновения тератогенеза у людей.

Многолетние исследования показали, что некоторые фармакологические препараты – антибиотики, кортикостероиды, ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот (цитостатики, противосудорожные средства) – проявляют тератогенный эффект у человека.

Использование метиленового синего и трипанового синего в качестве антисептика вызывает у эмбрионов человека тератогенез головного отдела – аномалии черепа, глаз, челюстей. Тератогенез могут вызвать и витамины, например, витамин А и витамин РР в высокой (нетерапевтической) дозе. Широко используемый раньше цитостатик метотрексат индуцировал у эмбрионов отсутствие лобной кости, сращение костей черепа, спонтанные аборт и задержку послеродового развития (Ильинских и др., 1990).

Ниже перечислены наиболее известные тератогены (Оксенгендер, 1991) для человека при их действии на беременных женщин (таблица 4).

Таблица 4

Тератогены и их действие на беременных женщин

Название тератогена	Тератогенный эффект действия
Талидомид	Утрата или ластообразные конечности (фенокопия фокомелии)
Аминоптерин	Аномалии черепно-лицевого отдела, множественные уродства внутренних органов
Азотистый иприт и его аналогии, применяемые для лечения злокачественных новообразований: допан, миелосан, эмбихин	Атрофия зрения, вплоть до полной слепоты, расщепление нёба
Ампицилин	Дефекты сердца (атрезия трехстворчатого клапана)
Стрептомицин и тетрациклин	Дефекты развития головного мозга, слепота
Фенобарбитал, триметадиион	Различные патологии сердца
Кортикостероиды	Пояснично-крестцовые сращения, расщепление нёба
Метил ртуть	Поражение головного мозга (микроцефалия, умственная отсталость)
Соли кадмия	Повреждение семенников у новорожденных мальчиков
Полигалогенезированные бифенилы	Мертворождение детей, пожизненные неврологические нарушения у новорожденных
Органические растворители	Недоразвитие ЦНС, «заячья губа»
Цитостатики	Спонтанные аборт, смерть новорожденных
Диоксины	Расщепление неба, кистообразование в почках у новорожденных
Хлорфеноксигербициды	У рабочих на производстве этих гербицидов – импотенция у мужчин, у беременных женщин, контактирующих с этими гербицидами – хлоракне, у новорожденных – «заячья губа», анэнцефалия.

Обширную группу химических тератогенов составляют антиметаболиты, т.е. вещества, сходные по своей химической структуре с естественными продуктами метаболизма и, в силу этого, избирательно блокирующие соответствующие ферменты-мишени. К веществам этой группы относятся некоторые производные пуринов и пиримидинов.

Многолетние исследования экспериментального тератогенеза показали, что тератогенный ответ вызывают:

- синтетические аналоги аденина и гуанина;
- соединения, препятствующие реакциям переаминирования при биосинтезе общего предшественника пуриновых нуклеотидов – инозинмонофосфата (ИМФ);
- антагонисты обмена фолиевой кислоты, вызывающие дефицит в метаболитах, необходимых для реакций трансформирования, дважды встречающиеся при биосинтезе ИМФ.

Анаболитические превращения и основные механизмы повреждающего действия этих соединений даны на рис. 6, 7.

Экспериментально было доказано тератогенное действие 6-меркаптопурина и 6-тиогуанина.

6-меркаптопурин проявил свою тератогенность в экспериментах на крысах, мышках, кроликах.

Многokrатное введение этого вещества с 5-го дня по 9-й день беременности в дозах 12, 50, 75 мг вызывает у крысиных зародышей различные аномалии глаз (микрофтальмия, афтальмия) и головного мозга (микроцефалия и гидроцефалия). При воздействии на кроликов 6-меркаптопурин проявил, как и для крыс, хронологическую специфичность действия. Так, на 10 – 14-й день эмбриогенеза 6-меркаптопурин выразена слабее, чем на 6 – 9-й день; у эмбрионов наблюдали различные пороки конечностей (Вишняков, 1969).

6-тиогуанин, так же как и 6-меркаптопурин, прерывает образование пуриновых нуклеотидов *de novo*, по своему действию значительно превосходит последний по эмбриотоксичности и тератогенности. Наряду с аномалиями, типичными для последствие 6-меркаптопурина, 6-тиогуанин индуцирует гипоплазию легких, амелию, адакти-

лию и эктродактилию. Это говорит о зависимости тератогенного действия от химического строения тератогена.

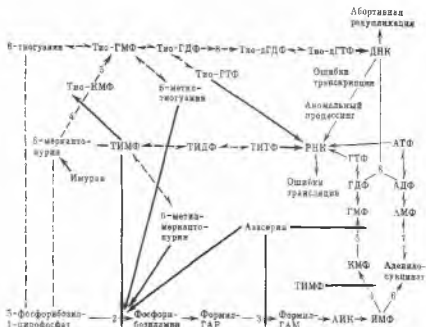


Рис. 6. Схема взаимопревращений и ингибиторных эффектов антагонистов пуриновых нуклеотидов:

- 1 - гипоксантин-гуанинфосфорилтрансфераза, 2 - фосфорилпирофосфат-амидотрансфераза, 3 - фосфорилпирофосфат-формилглицинамидин-синтетаза, 4 - инозинмонофосфатдегидрогеназа, 5 - гуанозинмонофосфат-синтетаза, 6 - аденилосукцинат-синтетаза, 7 - аденилосукцинат-лиаза, 8 - рибонуклеозиддифосфатредуктаза
(цит. по Дыбан и др., 1977)

Однако, несмотря на многолетние исследования, многое остается неясным. Мы сегодня очень мало знаем о путях реализации генетической информации на уровне организма, хотя на уровне клеток стало многое понятно. Воздействие тератогена вызывает нарушения генетической информации, которые ведут к изменению процессов транскрипции и трансляции и, следовательно, вызывают изменения метаболизма клеток, что отражается на органогенезе.

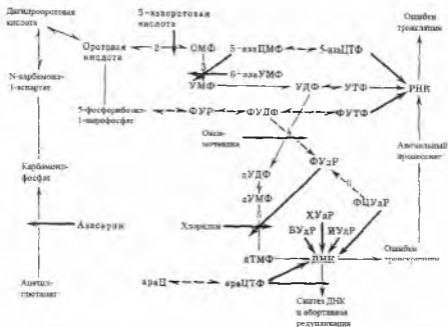


Рис. 7. Схема взаимопревращений и ингибиторных эффектов антагонистов пиримидиновых нуклеотидов:

1 - карбоамонфосфат-синтетаза, 2 - оротидин-5'-фосфат-пирофосфорилаза, 3 - оротидин-5'-фосфат-декарбоксилаза, 4 - рибонуклеозиддифосфатредуктаза, 5 - тимидилатсинтетаза, 6 - дезокситимидилатдеаминаза. Остальные обозначения на рис. 6 (цит. по Дыбан и др., 1977)

Многочисленные исследования показали, что, несмотря на эмбриотоксичность всех антагонистов пуринов, многие из них не проявляли тератогенного действия. Кроме того, было выявлено, что препараты, тератогенные для одного вида млекопитающих, не проявляют этих свойств для других видов.

Исследования соединений, препятствующих реакциям аминирования при биосинтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, выявили их тератогенность.

Азасерин индуцировал у эмбрионов крыс уродства скелета и anomalies неба. 6-диазо-5-оксонорлейцин более сильный тератоген, чем азасерин (Дыбан и др., 1977).

Ингибиторы синтеза пиримидинов, такие, как азапроизводные пиримидинов, например, 6-азауридин, показал и свою высокую тератогенность в экспериментах и при клиническом апробировании с целью искусственного прерывания беременности (Дыбан и др., 1977).

Оксимочевина – один из наиболее известных ингибиторов рибонуклеотидредуктазы – вызывал уродства конечностей, неба и хвоста. Характер и спектр anomalies зависел как от дозы, так и от срока введения.

Ингибиторы синтеза тимидилатов – фторзамещенные производные пиримидина, относятся к универсальным тератогенам, способным вызывать anomalies развития у животных разных видов. Их тератогенность коррелирует с противоопухолевым эффектом. Было показано, что проявление тератогенности этих соединений во многом зависит от особенностей генотипа матери и плода (Dagg, 1963).

Аминоптерин является ингибитором фолатного цикла. Его тератогенное действие проявляется только при воздействии на 6-й день беременности, при этом возникают самые различные anomalies (см. рис. 8).

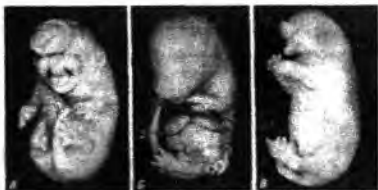


Рис. 8. Различные anomalies у эмбрионов крыс 19-го дня развития после однократного действия аминоптерина:

А – экзэнцефалия, анофтальмия, «заячья губа», Б – эктродактилия, синдактилия, эвентерация, В – микроцефалия, анофтальмия, атрезия ротовой полости и языка, редукция челюстей (цит. по Дыбан и др., 1977)

Итак, большинство антиметаболитов фолиевой кислоты способны индуцировать тератогенез, например, хлоридин. Это вещество вызывает анатомические пороки развития на протяжении большей части эмбриогенеза. Тип и частота уродства зависят от стадии эмбриогенеза и дозы вещества (Рис. 9, 10).



Рис. 9. Типичные уродства у эмбрионов крыс 17-го дня развития после однократного введения хлоридина на 9-й день беременности: А – доза 3 мг на крысу, внутривентрикулярно. Тяжелые уродства головного и спинного мозга, глаз, внутренних органов. Анофтальмия, экзэнцефалия, микрогнатия, гастросхизис, эвентерация, агнатия; Б – доза 10 мг на крысу: экзэнцефалия, микрофтальмия, анофтальмия (цит. по Дыбан и др., 1977).

Тератогенное действие галоидзамещенных пиримидинов проявляется в нарушении осевого скелета и конечностей. Было показано, что в основе тератогенного действия лежит их способность включаться в ДНК эмбриональных клеток.

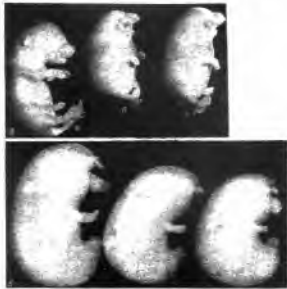


Рис.10. Типичные уродства у эмбрионов крыс 19-го дня развития после однократного введения хлоридина в дозе 10 мг на крысу на 11-й (А) и 13-й (Б) день беременности (цит. по Дыбан и др., 1977) А – а – нормальный зародыш, б, в – два уродливых зародыша: микроцефалия, экзофтальмия, гипогнатия, двусторонняя «заячья губа», расщелина твердого нёба, отоцефалия, фокомелия, отсутствие хвоста, отек, общая задержка развития; Б – выраженный отек, агнатия, деформация верхней челюсти, микроцефалия, пучеглазие, фокомелия

Существует серьезная проблема: как оценить тератогенную активность у какого-либо ксенобиотика. Реальная оценка потенциальной опасности тератогена для человека очень сложна. Это связано с невозможностью экспериментальной проверки данных о тератогенности, полученных на животных (так как существуют различия в физиологических механизмах, в реализации репродуктивной функции, вынашивания плода, а также существуют межвидовые различия в чувствительности к ксенобиотику).

По-видимому, лучший способ оценки активности тератогена – это определение его самого либо продуктов метаболизма в биологи-

ческих средах организма матери (кровь, моча) и биологических маркеров действия тератогенов. У мужчин, подвергнутых действию предполагаемого тератогена, безусловно, необходим анализ спермы, помимо прочих исследований; при проведении исследований такого рода необходимо учитывать, что многие тератогены поступают в организм ребенка через молоко матери.

Так как тератогены тем или иным способом повреждают репродуктивную активность, необходимо анализировать действие ксенобиотиков на репродуктивную активность мужчин и женщин. Здесь можно предположить как нарушения функциональные (нарушение гормональной регуляции, когда ксенобиотики выступают как антагонисты половых гормонов или как их конкуренты), так и морфологические (тогда исследуют цитотоксичность для гонад).

Одним из способов оценки тератогенной активности являются контроль над действием ксенобиотика в различных популяциях людей с целью последующего анализа. Для этого были разработаны критерии такого контроля:

- *уместность* (дефекты развития плода должны быть клинически значимыми, особо уделяется внимание множественным порокам развития);
- *временная корректность* (большинство уродств является следствием действия ксенобиотика на плод первые 2 – 4 месяца беременности и выявляются только после рождения);
- *чувствительность* (методы обследования должны быть чувствительны для выявления увеличения частоты случаев возникновения дефектов в два раза, требуется сравнение с подобными исследованиями, полученными в других регионах);
- *выявляемость причин увеличения частоты тератогенеза* (следует учитывать, что может быть изменен состав множественных пороков развития, повышена чувствительность приборов и диагностики);
- *учет возможности многофакторного действия* (Куценко, 2004).

Проведенные исследования такого рода, несмотря на длительность и сравнительно высокую стоимость, позволяют эффективно определять тератогенную активность. Многие лекарственные широко рекламируемые препараты в исследованиях такого рода выявили тератогенную активность, так, парацетамол используемый беременными матерями на 56 – 58 день беременности, индуцировал у плода «волчью пасть», а резерпин вызывал у плода брадикардию и часто приводил к постнатальной летаргии.

Учитывая тот факт, что тератогены так или иначе способны повреждать репродуктивную функцию, необходимо анализировать действие ксенобиотиков на репродуктивную систему человека. Сложность феномена репродукции делает его весьма уязвимым для ксенобиотиков. Трудность изучения тератогенеза состоит в том, что нарушение репродукции может быть следствием острого токсического действия на различные органы и системы одного из участников процесса в различные временные периоды, а проявляться лишь спустя многие месяцы, а иногда и годы дефектами зачатия, вынашивания, развития плода и несостоятельностью растущего организма.

Таким образом, нарушение репродуктивной функции может приводить к тератогенезу.

ГЛАВА 4

МУТАГЕННОСТЬ И МУТАГЕНЫ

Мутагенность – это способность различных факторов индуцировать мутации.

Мутации – это внезапные скачкообразные изменения генетического материала. Химические соединения, вызывающие мутации, называются *мутагенами*.

Любая природная популяция даже в стабильной среде испытывает давление мутаций. Мутации возникают у отдельных особей и при размножении последних могут включаться в генофонд популяции. Причины возникновения мутаций могут быть внутренними по отношению к организму и внешними. Именно мутации являются элементарным эволюционным материалом. Мутации могут быть полезными и нейтральными, однако, в большинстве случаев, мутации снижают общую приспособленность организмов, и доля таких мало приспособленных организмов, носителей мутантных генов, составляет генетический груз популяции. В природных популяциях уровень генетического груза поддерживается естественным отбором.

Бурное развитие промышленности, сельского хозяйства, научно-технический прогресс насыщают окружающую среду мутагенными факторами антропогенной природы. Особую тревогу вызывают химические мутагены, которые нашли в коммунальной среде, на производстве, среди пищевых продуктов и добавок, лекарств и веществ, используемых в сельском хозяйстве.

В условиях резко меняющейся среды встал вопрос об охране генофонда человечества.

Сегодня стало необходимым изучение возможных нежелательных эффектов резкого изменения исторически сложившейся популяционной организации нашего собственного вида, который на протяжении большей части его естественной истории был представлен сообществом слабовзаимодействующих субпопуляций весьма ограниченного генетически эффективного объема (Алтухов, 1983). Ныне та-

кой тип структуры встречается лишь в древних изолятах так называемых «малых» народов (Рычков, 1969; 1973; 1979).

Первые же результаты генетического мониторинга популяций человека показали, что в наши дни возросли не только число наследственных патологий в общей структуре заболеваемости, но и частота врожденных аномалий развития и других заболеваний с несомненной генетической компонентой (Бароян, Канторович, 1976; Neel, 1978). В Канаде и США это установлено для пороков сердца и сосудов, врожденного вывиха бедра и некоторых других аномалий развития (Vanister, 1973). Бесспорен рост числа раковых заболеваний, что является косвенным свидетельством мутационного повреждения генетического аппарата соматических клеток человека. В США данные по шести хорошо диагностируемым формам рака показывают, что в 1930 году их встречаемость была втрое ниже, чем в 1975 году. Между тем, известно, что смертность от раковых заболеваний достигает 18,4% в общей структуре смертности среди населения (Silverberg, 1977).

Весьма показательны данные о росте генетического груза. Так, если в 1956 – 1960 годах было зарегистрировано только 4% неполноценных новорожденных, то в 1962 – 1967 их было уже 5,6%, а в 1977 – 10,5% (Neel, 1978).

Безусловно, нельзя считать, что существующая величина генетического груза определяется только загрязнением окружающей среды. Здесь, возможно, есть и другие причины: улучшение диагностики, расширение анализируемых локусов, появление специализированных центров, ведущих подобного рода исследования. Но, тем не менее, увеличившаяся за последние десятилетия частота мутирования в человеческих популяциях заставляет думать о реальном увеличении числа факторов, индуцирующих мутагенез (Дубинин, 1994).

Различают спонтанный и индуцированный мутагенез. *Спонтанный мутагенез* является результатом любых событий, которые могут приводить к повреждениям генетических структур в течение жизненного цикла организма (Smith, 1992). Причиной возникновения спон-

танных мутаций, как правило, являются ошибки репарации, рекомбинации и репликации.

Однако в последние годы особенно подробно изучается *индуцированный мутагенез*. Исследование мутагенности актуально и потому, что мутации, возникающие в половых клетках, увеличивают генетический груз будущих поколений, снижая адаптационные возможности и приводя к преждевременному старению как мутантов, так и популяций в целом (Rattman, 1989). Кроме того, недавно выяснилось, что ряд заболеваний, всегда считавшихся физиологическими и инфекционными, по-видимому, является результатом спонтанных мутаций, например, атеросклероз (Hansen, 1990).

Существуют убедительные доказательства того, что мутагенез и канцерогенез тесно сопряжены. Так, например:

- у больных синдромом Блума, анемией Фанкони частота возникновения злокачественных образований многократно превышает средний показатель (Moustacchi, 1994);
- известны цитогенетические нарушения, обуславливающие развитие опухолей (Mitelman et. al, 1991);
- многие канцерогены являются мутагенами (Au et. al, 1991);
- есть сведения, что индукция генных мутаций и транспозиция активирует проонкогены и (или) потерю специфических генов-супрессоров неконтролируемого клеточного деления (Landley, 1989);
- известны моногенные доминантные мутации, вызывающие развитие раковых опухолей, например, ретинобластома (Flamm, 1978).

Все эти факты послужили основанием для рассмотрения результатов краткосрочных тестов на мутагенность в качестве прогностических показателей у исследуемых ксенобиотиков на канцерогенность. Следует учитывать тот факт, что существуют и такие мутагены, которые не обладают канцерогенной активностью. Кроме того, продолжительность тестов на канцерогенность составляет около двух лет, поэтому следует рассматривать программы, выявляющие мутагенность, как возможные просеивающие программы, и на канцерогенность ксенобиотиков.

Дальнейший наш анализ будет посвящен химическим мутагенам. Все химические мутагены можно разделить на природные и антропогенные. Широкое распространение мутагенов в окружающей человека среде привело к возникновению специального раздела генетики – *генетической токсикологии* – науке, изучающей мутагенность химических факторов антропогенной природы. Кроме того, генотоксикология разрабатывает методы и способы оценки генетической активности ксенобиотиков. Генетическая токсикология является составной частью экологической генетики (Инге-Вечтомов, 1989).

Существует несколько типов классификации мутаций:

- *по способности наследоваться следующими поколениями.* Выделяют соматические и генеративные мутации. Однако, данное деление условно, так как у растений с вегетативным размножением могут наследоваться и соматические мутации;

- *по локализации в клетке.* Мутации бывают ядерные и цитоплазматические. В жизни простейших цитоплазматические мутации играют не менее важную роль, чем ядерные;

- *по способности проявляться у гетерозигот.* Мутации бывают доминантные, рецессивные и мутации с неполным доминированием;

- *по причинам возникновения.* Мутации делят на спонтанные и индуцированные;

- *по характеру изменения генома.* Генные мутации – изменения генов. Хромосомные – изменения структуры хромосом. Геномные – изменения числа хромосом.

Механизмы, лежащие в основе возникновения мутаций различного типа, более или менее известны. Так, ошибки, возникающие в процессах репликации, репарации, рекомбинации, приводят к возникновению генных мутаций.

Различают два основных типа внутригенных мутаций: *замена оснований* и *мутации «со сдвигом рамки считывания»*. Замена оснований может происходить несколькими способами: заменой пурина на пурин, или пиримидина на пиримидин – *транзиции*, заменой пурина на пиримидин и наоборот – *трансверзии*.

Мутации «со сдвигом рамки считывания» возникают в результате вставки или выпадения одного или двух нуклеотидов.

Необходимо учитывать, что мутационное изменение генов – это процесс, длящийся во времени, и поэтому можно говорить о том, что в покоящихся спорах, семенах сначала возникает предмутационное состояние, которое реализуется при последующем синтезе ДНК. Кроме того, немногие предмутационные изменения превращаются в мутации. Большая часть их репарируется.

Хромосомные aberrации относятся к структурным мутациям. Характер мутации определяется физиологическим состоянием хромосом в момент контакта с мутагеном. Физиологическое состояние меняется в зависимости от фазы клеточного цикла и их продолжительности.

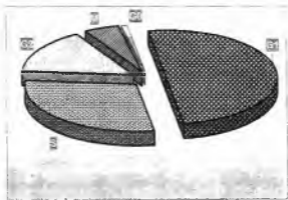


Рис. 11. Стадии клеточного цикла: М – митоз, G_1 – пресинтетическая стадия (ДНК – $2n$), S – синтез ДНК, G_2 – постсинтетическая фаза (ДНК – $4n$), G_0 – характерна для покоящихся или непролиферирующих клеток (ДНК – $2n$)

Для развития мутационного ответа особенно важны рубежи фаз. На границах фаз происходит разрушение или активация специфических ферментов и изменение баланса индукторов и активаторов, которые освобождают клетку от «тормоза», возникшего в данной фазе клеточного цикла, и обеспечивают движение в следующую фазу (Lewin, 1990).

Существуют вещества, способные вызывать мутации на всех стадиях клеточного цикла, их также называют S-независимые, например, стрептонигрин и блеомицин; к S-зависимым мутагенам относятся алкилирующие агенты. Мутагены, действующие на клетки в фазе G₁, индуцируют aberrации хромосомного типа, а в фазах S и G₂ и в профазе митоза индуцируют хроматидные aberrации.

Общий набор типов структурных мутаций не зависит от типа мутагена. Поэтому различают мутации, которые произошли в результате разрыва исходных хромосомных нитей и потери участка хромосомы (*делеции* различного типа) и из-за обменов участков хромосом как внутри хромосом (*инверсии*), так и между хромосомами (*транслокации*); кроме того, выделяют еще один тип мутаций – *дупликации*, которые возникли в фазу удвоения.

Геномные мутации возникают либо в результате повреждения аппарата деления, либо в результате отдаленной гибридизации. Геномные мутации, кратные собственному гаплоидному набору, называются *автополиплоидиями*, не кратные – *анеуплоидиями*. Увеличение числа хромосом при отдаленной гибридизации происходит в том случае, если в половые клетки попал диплоидный набор хромосом, такие мутации называются *аллополиплоидиями*.

Непостоянство числа хромосом как особый способ изменения генетического материала индуцируется немногими мутагенами, и, по видимому, на заре эволюции животного мира увеличение генома было одним из путей прогрессивной эволюции (Оно, 1973). Собственно эукариотические организмы с диплоидным набором когда-то, на заре эволюции, появились как ответ на постоянное стрессовое воздействие факторов окружающей среды, поэтому автополиплоидию можно рассматривать как мутации, позволяющие их носителям справиться с неблагоприятными условиями. Видимо, поэтому древние растения, дожившие до наших дней, оказались преимущественно полиплоидами (Бормотов, Лопатина, 1986).

Природные мутагены существовали всегда и всегда служили источником изменчивости. Их можно обнаружить везде – в воде, воздухе, почве и пище.

В воде мутагены существуют в виде растворов солей тяжелых металлов, мутагенность которых доказана (As, Cd, Cr, Co, Ni, Sr, Ru) (Барсукова, 1997). Кроме того, в воде могут находиться полициклические углеводороды, смываемые с природных месторождений нефти, и биогенные соединения, производимые живыми организмами и при разрушении умерших организмов.

Отмечены мутагенные свойства выбросов некоторых вулканов в воздух, как правило, это оксиды тяжелых металлов и сложные органические окислы и перекиси.

В воздухе некоторых болот Сибири, Африки и Южной Америки были отмечены мутагенные соединения, которые являются испарениями с поверхности болот; сами вещества являются биогенными продуктами микроорганизмов – разлагателей. Необходимо отметить, что и другие природные мутагены имеют биогенное происхождение – это токсины многих низших грибов (например, афлатоксины), кроме того, была показана генотоксичность груздей (Knuutinen, Wright, 1982); алкалоиды высших растений, например, колхицин (Ауэрбах 1978). Способны вызвать мутагенный ответ яды некоторых беспозвоночных. Животные получают мутагены либо с пищей, либо с водой.

Пищевые мутагены имеют двойную природу – это алкалоиды, вырабатываемые растениями, или мутагены, аккумулированные растениями из окружающей среды.

Анализируя средовые химические мутагены, часто невозможно определить, какое вещество из целого комплекса соединений проявило мутагенность. Многие соединения, полученные с пищей, становятся мутагенами только после активации микросомальной фракцией ферментов печени. Часто природные мутагены представляют собой бинарные или более сложные смеси. Способность отдельных агентов усиливать мутагенность генотоксиканта называется «*комутаген-*

ность» (Дубинин, 1986). По-видимому, в этом случае не имеет смысла использовать термин аддитивность, так как он предполагает некую линейную зависимость эффекта действия комутагенов от дозы, однако часто такой зависимости не наблюдается.

Иногда полученные результаты парадоксальны. Например, витамин С обладает мутагенными, антимутагенными и комутагенными свойствами. Было предположено, что мутагенность витамина С связана с тем, что он усиливает генотоксичность свободных радикалов (Середенин, Дурнев, 1992). Это парадокс, так как витамин С является абсолютным компонентом питания. Между тем, вводимый *per os* аскорбат вызывал фрагментацию ДНК в клетках желудка мыши. Кроме того, в экспериментах *in vitro* витамин С повышал кластогенность блеомицина в культуре лимфоцитов человека (Gebhard et.al., 1985). Витамин Е усиливал мутагенное действие этилметансульфоната в культуре лимфоцитов человека (Gebhard et.al., 1985). Витамин В₂ увеличивал генотоксичность Na₂CrO₄ в культуре клеток V 79 китайского хомячка (Sugiana et.al., 1992).

Обнаружено комутагенное действие кофеина на различные индукторы мутагенеза в культурах клеток, в соматических и зародышевых клетках млекопитающих (Дурнев, Середенин, 1998).

Таниновая кислота, входящая в состав зеленого и черного чая, является комутагеном митомицина С в половых клетках дрозофилы (Cunha et.al., 1994).

Соли металлов часто являются комутагенами органических соединений. Широко употребляемый в пищу NaCl в дозе 15-150 мг/кг усиливал образование микроядер в клетках желудка крыс, обработанных N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанином (Mereto, Ghia, 1995). Na₂SeO₃ усиливал мутагенность уретана в культуре клеток костного мозга мышей (Balansky, 1991). Ацетат свинца повышал мутагенность обработанных N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанином культур клеток китайского хомячка (Roy, Rossman, 1992). Ионы кадмия усиливали мутагенность 4-нитрохинолина-1-оксида и митомицина С (Yannada et.al., 1993).

Комутагенные свойства выявлены у некоторых лекарственных средств. Верапомил (антагонист кальция) усиливает цитогенетический мутагенез, индуцированный блеомицином, псиломицином, митомицином С (Scheid, 1991; Scheid, Traut, 1993).

Известна способность этанола подавлять репарационный синтез ДНК (Wilson et al., 1994). Особенно интересно отметить комутагенное действие фотосенсибилизаторов, к которым относятся кумарин и его производные, которые при совместном действии с ультрафиолетовым излучением способны образовывать три типа нарушений: моноаддукты (тимин-кумарин), диаддукты (тимин-тимин), летальные поперечные сшивки.

Несмотря на то, что существует большое количество работ, посвященных действию комутагенов, до сих пор нет однозначного заключения о связи между дозой комутагенов и эффектом действия, не выявлено также существование тканевой специфичности комутагенного действия.

Многие антропогенные ксенобиотики проявляют мутагенный эффект. Мутагенным действием обладают некоторые минеральные и органические удобрения, вносимые в почву в больших количествах (Санаев, 2001). Существует большое количество фактов о мутагенном действии пестицидов (Оксенгендлер, 1991), лекарственных препаратов (Дурнев, Середенин, 1998), пищевых добавок (Дурнев, Середенин, 1998; Ильинских и др., 1990), углеводов и продуктов неполного сгорания топлива (Дубинин, 1986). Среди проанализированных гербицидов, инсектицидов и фунгицидов, относящихся к гетероциклическим соединениям, 71,5% индуцировали хромосомные аберрации у растений (Дубинин, 1980). Особую тревогу вызывают соединения, мутагенные для млекопитающих и, следовательно, представляющие угрозу для человека и его генофонда.

Ниже в таблице 5 приведены некоторые химические вещества антропогенного происхождения, мутагенность которых доказана.

Антропогенные мутагены и их действие

Название соединения	Исследованные виды и тип воздействия	Характеристика мутационных изменений	Авторы
1	2	3	4
Формальдегид	Человек. Производство древесностружечных плит	Хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови	Дурнев, Середенин, 1998
Стирол, метил, винилхлорид, метакрил	Человек. Химическая промышленность	Хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови	Дурнев, Середенин, 1998
Минеральные масла	Человек. Обработка стекла	Хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови	Дурнев, Середенин, 1998
Гидрохинон (используется в фотографии)	Крысы. Экспериментальное воздействие в дозе 1г/кг	Пикноз ядер. Хромосомные aberrации в клетках костного мозга	Химические..., 1983
Прогаллол (используется в фотографии)	Собака. Экспериментальное воздействие в дозе 25г/кг	Хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови	Химические..., 1983
Резорцинол (используется в парфюмерии)	Мыши. Экспериментальное воздействие в дозе 250 мг/кг	Хромосомные aberrации в клетках костного мозга	Химические..., 1983
Каптан и тирам (используются в парфюмерии)	Крысы и мыши. Экспериментальное воздействие	Хромосомные aberrации в клетках костного мозга	Химические..., 1983
Инсектициды: бидрин, гептахлор, дихлофос, нафталин	Крысы. Экспериментальное воздействие	Хромосомные aberrации в клетках костного мозга	Химические..., 1983

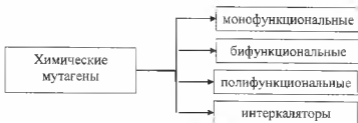
1	2	3	4
3,4-дихлорортопиаанид (гербицид)	Крысы. Экспериментальное воздействие	Хромосомные aberrации в клетках костного мозга	Химические..., 1983
Конго красный, используется как пищевой краситель	Микроорганизмы, мышцы. Экспериментальное воздействие	Достоверное возрастание частоты СХО по сравнению с контролем, микроделации	(Grover, Kaur, Mahajan, 1996)
Фураниол (2,5-диметил-4-гидроксил-3(2H)-фуранон)-ароматизатор пекарских изделий	Мыши, дрожжи, сальмонелла. Экспериментальное воздействие	Достоверное возрастание частоты СХО по сравнению с контролем, генные мутации	(Hiramoto, Hiromi, Shiori, 1996)
Сахарин	Человек. Длительное использование вместо сахара	Хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови	(Дурнев, Середенин, 1998)
MALD-метиоксиацетальдегид, вкусовая добавка	Мыши, клетки китайского хомячка	Хромосомные aberrации в клетках костного мозга, <i>in vitro</i> – делеции, повышение кластогенности	(Chiwchanwit Treetip, Au William, 1995)
PhIp, пищевой компонент	Мыши	Мутагенный эффект в клетках эпителия тонкого и толстого кишечника	(Zhang, Felton, Tucker, 1995)
Фенетил-изотиоцианат, пищевой компонент	Клетки китайского хомячка, <i>in vitro</i>	Хромосомные aberrации, возрастание частоты СХО по сравнению с контролем	(Musk, Smith, Johnson, 1995)

1	2	3	4
АСС (амино- α -карболин). Компонент пищевой промышленности	Мыши	Мутагенный эффект в клетках эпителия тонкого и толстого кишечника. Хромосомные aberrации	(Zhang, Felton, Tucker, 1995)
Синингрин (пищевая добавка)	Клетки китайского хомячка, <i>in vitro</i>	Хромосомные aberrации, возрастание частоты СХО	(Musk, Smith, Johnson, 1995)
«А-one» > 99% глутамата Na, пищевая приправа, ароматизатор	Тест Эймса (<i>Salmonella</i>), мыши	Генные мутации типа «сдвига рамки считывания», СХО	(Obaseiki-Ebor, McGhee, 1995)

На развитие мутагенного ответа влияют пол, возраст, генетические особенности организма. Мутагенез зависит от различных функциональных состояний организма: показатели здоровья, метаболизм в различное время суток и сезона (Ильинских и др., 1990). Было показано, что у людей мутагенная чувствительность повышается с возрастом, но после 60 лет мутагенная чувствительность не изменяется. Люди с повышенным кровяным давлением обладают большей мутагенной чувствительностью, чем люди с нормальным кровяным давлением. Мутагенная чувствительность женщин меньше, чем у мужчин. Во всех популяциях людей существуют организмы с более высокой генетической нестабильностью. Так, мониторинг с использованием микроядерного теста выявил группу людей со значительным уровнем клеток с цитогенетическими нарушениями, которые в экстремальных условиях демонстрировали более высокую чувствительность к мутагенам окружающей среды, чем люди с низким уровнем клеток с цитогенетической патологией. Колебание функциональной активности иммунной и нейроэндокринной систем в зависимости от сезона года, по-видимому, влечет за собой повышение или понижение естественной резистентности, вследствие чего меняется способность организмов противостоять мутагенным факторам.

На развитие мутагенного ответа влияет строение соединения.

По характеру действия мутагены разделяют на четыре группы (Ауэрбах, 1978).



Монофункциональные агенты имеют только одну функциональную группу, реагирующую с мишенью. К ним относятся:

Соединения, вызывающие транзиции.

Гидроксиламин – NH_2OH , азотистая кислота – HNO_2 .

Алкилирующие соединения.

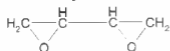
Это самая обширная группа химических мутагенов. Они вводят группы метильную (CH_3), этильную (C_2H_5), пропильную (C_3H_7). До сих пор слабо изучен их механизм проникновения в клетку. Ниже приводится список групп веществ, мутагенность которых доказана и известен в основном механизм действия.

Эпоксиды.

Например, этилен оксид



диэпоксидбутан



Алкилсульфонаты.

Например,

этилметансульфонат (ЭМС) – $\text{C}_2\text{H}_5\text{-OSO}_2\text{-CH}_3$,

метилметансульфонат (ММС) – $\text{CH}_3\text{-OSO}_2\text{-CH}_3$.

Диалкилсульфонаты.

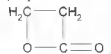
Например,

диэтилсульфонат – $\text{SO}_2(\text{OC}_2\text{H}_5)$.

β -лактаны.

Например,

β -пропиолактон



Диазосоединения.

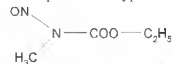
Например,

диазометан ($\text{CH}_3\text{N}=\text{N}$).

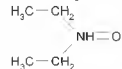
Нитрозосоединения.

Например,

N-нитро-N'-метилуретан



диэтилнитрозоамин



N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанин.

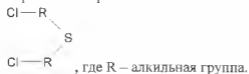
Алкилирующие агенты способны алкилировать O_6 – в гуанине, O_4 – в тимине, N_3 – в гуанине, N_1 , N_3 , N_{17} – в аденине, N_3 – в цитозине, N_4 – в тимине. Кроме того, необходимо отметить, что метилирование всегда более быстрое, чем этилирование, и атаке химических мутагенов в основном подвергаются пурины.

Характеризуя генотоксичность всех монофункциональных агентов, можно отметить их общую особенность – они менее токсичны, чем бифункциональные агенты, но более мутагенны.

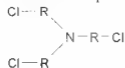
Бифункциональные агенты имеют только две функциональные группы, реагирующие с мишенью. К ним относятся алкилирующие соединения, канцеростатики, фотосенсибилизаторы.

Бифункциональные алкилирующие агенты.

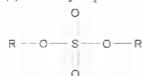
Сернистый иприт



Азотистый иприт



Диалкилсульфонат



Этиленимины



Диазосоединения



Механизм действия бифункциональных агентов сводится к следующему: модификация оснований в молекуле ДНК и разрыв нитей ДНК.

Модификация оснований может происходить следующим образом: присоединение аминоалкильной группировки к третичному атому азота кольца азотистого основания с образованием четвертичного иона. Скорость реакции определяется природой нуклеофильных группировок и pH среды, кроме того, ионизация функциональных групп способствует более активному алкированию.

Различные функциональные группы в ДНК обладают разной реакционной способностью, наиболее реактивны фосфаты и атомы азота пуринового кольца и цитозина, аминогруппы пуринов.

Удалось построить ряды алкилируемости

в ДНК: N_7 -гуанина > N_3 -аденина > N_1 -аденина > N_1 -цитозина,

в РНК: N_7 -гуанина > N_1 -аденина > N_1 -цитозина > N_3 -аденина.

Алкилирование в ДНК идет быстрее, чем в свободных нуклеотидах за счет передачи алкильного радикала с фосфата ДНК на N_7 -гуанина.

Последствие алкилирования – это возникновение термодинамически неустойчивого состояния. Это состояние обратимо, и может происходить восстановление исходной формы. Если алкильный радикал не отщепился, то возможен разрыв двойной связи кольца и образование карбониевых ионов (то есть происходит дециклизация). Вторым последствием алкилирования может быть отщепление гликозилазами азотистого основания и образование апуринового сайта.

Отмечена способность некоторых бифункциональных агентов вызывать разрыв сахаро-фосфатного остова.

Канцеростатики – это агенты, способные вызвать повреждение хромосом. Они, как правило, высокотоксичны. Такой цитостатик, как митомицин С, способен вызвать образование аддуктов гуанина.

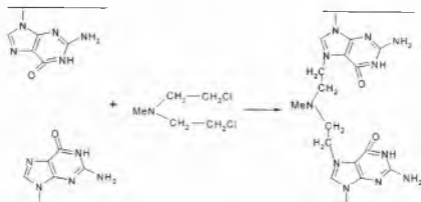
Так же действуют его производные и производные порфирамицина. Характерной особенностью канцеростатиков является то, что они действуют только при попадании внутрь клетки. Кроме того, сами канцеростатики способны долго храниться в клетках.

Одним из первых алкилирующих агентов, используемых как канцеростатик для лечения опухолей, стал эмбихин, который применяется как самостоятельно, так и в комплексной терапии. В присутствии воды эмбихин медленно циклизуется в азиридиновый катион, который и взаимодействует с ДНК. Более эффективен и менее токсичен хлорбутин (пара-бис-(2-хлорэтиламино)фенилмасляная кислота), который образует азиридиновые соли, достигающие места действия прежде, чем они успевают вступить в какие-либо побочные реакции.

Эмбихин и циклофосфан ингибируют синтез ДНК, образуя поперечные шивки, что препятствует репликации. Поперечными шивками соединяются атомы азота двух остатков гуанина в положении 7.

Эмбихин взаимодействует с ДНК следующим образом:

ДНК

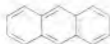


(Альберт, 1982).

К фотосенсибилизаторам относятся соединения, усиливающие мутагенное действие ультрафиолетовых лучей, например, кумарины.

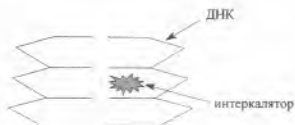
Интеркаляторы – это соединения, способные внедряться между основаниями и раздвигать их. К интеркаляторам относятся все акридиновые красители, а также к ним относятся: 2-антрилгунидин, этидий, 3,6-диаминоакридин (профлавин), аминофенантридины (хингамин, актиномицин D, даунорубицин, ногаломицин).

Молекулы интеркаляторы имеют в своем составе гетероциклы и содержат атомы азота и серы и обязательно – двойные связи. Например,



Эти соединения не блокируют репликацию, но снижают суперспирализацию ДНК и, следовательно, скорость репликации и транскрипции. Кроме того, подобные мутагены способны вызвать мутации типа «сдвига рамки считывания» за счет выпадения или вставки нук-

леотидов. Это связано с тем, что интеркаляторы располагаются следующим образом между азотистыми основаниями:



Полифункциональные агенты

Это многочисленный класс мутагенов, наименее изученный. Они способны действовать несколькими способами:

- вмешиваться и нарушать синтез ДНК;
- вмешиваться в синтез предшественников ДНК;
- вмешиваться в репарационные процессы;
- вмешиваться в рекомбинационные процессы.

К таким мутагенам относятся некоторые антибиотики, например, тетрациклин, стрептомицин, аналоги азотистых оснований. Среди антибактериальных препаратов также были обнаружены соединения с мутагенной активностью. Так, диоксидин оказался способным вмешиваться в репарационные процессы. Высокой мутагенной активностью обладают нитрофурантоин, норфлоксацин (Калюченко, 2004). К этой группе соединений относится огромный класс гетероциклических соединений, например, гетероциклические пестициды (Санаев, 2001) или различные гетероциклические азолы (Селезнева, 2007).

Подводя итоги всему вышесказанному, можно отметить следующее: широкое использование различных соединений может вызвать мутагенный ответ, поэтому необходимы мониторинговые исследования, позволяющие быстро и адекватно оценить тип мутаций, индуцированных ими, и прогнозировать мутагенность соединений на основании результатов анализа просеивающих программ, выявивших мутагенную активность у аналогов исследуемых соединений.

ГЛАВА 5

КСЕНОБИОТИКИ И ИХ ТРАНСФОРМАЦИЯ В ОРГАНИЗМЕ

Независимо от того, какой тип биологической активности проявляет тот или иной ксенобиотик, необходимо отметить, что путей попадания в организмы животных и растений немного. В зависимости от этого в эволюции развивались различного типа адаптации, позволяющие защититься от действия ксенобиотика, они специфичны для каждого царства, класса и вида живых организмов, но, безусловно, существуют и общие механизмы защиты.

Пути попадания ксенобиотика в организм могут быть различными:

- через пищеварительную систему;
- через органы дыхания;
- через покровы;
- через мембраны.

У одноклеточных организмов путь ксенобиотика один – через оболочку и поверхностные мембраны клетки.

У растений ксенобиотики попадают внутрь вместе с водой, а если вещество нерастворимо в воде, они должны контактировать с поверхностными слоями клеток или с корневыми волосками, затем, при наличии высокой липофильности, через мембраны проникают внутрь клеток и через проводящую систему – к различным органам растений. Огромную роль играет способность соединений абсорбироваться на клеточной оболочке. Воздушные аэрозоли могут поступать внутрь растений через устьичные клетки и далее в проводящую систему.

Животные способны активно избегать чужеродных соединений, однако часто складываются ситуации, когда ксенобиотики находятся в основной среде обитания как поллютанты. Так, загрязняющие водоемы ксенобиотики могут несколькими способами воздействовать на гидробионтов: через жабры, через рот, через покровы тела. Сухопутные животные могут контактировать с ксенобиотиками также не-

сколькими способами – через рот (с водой и пищей), через кожу, через раневые поверхности, через дыхательную систему.

В процессе эволюции многие виды могли контактировать с ксенобиотиками, это происходило из-за миграций, связанных с глобальным изменением климата, из-за катастроф – извержение вулканов, землетрясений, из-за экологических вторжений, поэтому закреплялись любые мутационные изменения, позволяющие справляться с негативным воздействием на организм чужеродных веществ. Эти приспособления происходили на нескольких уровнях: на организменном, органном, тканевом и клеточном.

Первыми организмами, которые приобрели адаптации к воздействию чужеродных веществ, были прокариоты, соединявшие в себе свойства организма и клетки.

Сегодня механизмы, с помощью которых прокариоты адаптируются к ксенобиотикам, оказались наиболее изученными. У микроорганизмов существуют два пути адаптации.

Первый – *физиологические адаптации* – это путь изменения метаболизма, когда происходит активация специфических систем, которые либо создают препятствия для проникновения ксенобиотика в клетку, либо активно трансформируют его, снижая его негативное воздействие. Скорость изменения ксенобиотика зависит от самых различных факторов, таких, как физико-химические условия окружающей среды и особенности метаболизма микроорганизма.

В клетках микроорганизмов существуют две группы механизмов трансформации ксенобиотика:

- механизмы, связанные с активацией специфических ферментных систем, подчиняющихся физико-химическим закономерностям катализа;
- механизмы неспецифической активации систем поддержания внутриклеточного гомеостаза.

Так в 80-90-х годах появились сведения о поддержании гомеостаза клеток прокариот при действии на них ксенобиотиков за счет активного выброса чужеродных веществ. Выброс осуществляется спе-

цифическими белками, условно именуемыми «помпами» («pumps») (Nikaido, 1996; Aeschliman and et.al., 1999). Молекулярный анализ и компонентный состав «помп» грамположительных и грамотрицательных бактерий резко отличается.

Второй путь – это *генетические адаптации*, которые приводят к возникновению штаммов, резистентных к действию ксенобиотиков (Карасевич, 1976). Здесь возможно несколько способов:

1) Фиксация мутаций, приводящих либо к изменению сродства чувствительного участка обмена к яду, либо к изменению фермента, способного утилизировать ксенобиотик или трансформировать его (Карасевич, 1976).

2) Возникновение и фиксация мутаций, приводящих к возникновению штаммов, у которых синтез ферментов репарации идет постоянно, а не индуктивно (Албертс, 1993).

3) Приобретение мутантных генов с помощью механизмов специфической и неспецифической рекомбинации – трансдукция, трансформация, транспозиция (Инге-Вечтомов, 1989).

4) Приобретение плазмид, несущих гены устойчивости к ксенобиотикам, например, устойчивость к антибиотику ампицилину у *Escherichia coli* возникла при передаче ей от *Salmonella typhimurium* R-фактора, несущего ген β -лактамазы (Карасевич, 1976).

5) Возникновение мутаций, например, делеций, в результате чего утрачивается ген, отвечающий за синтез специфических пермеаз, переносящих токсикант внутрь клеток (Tristram, Neal, 1968).

6) Появление в процессе эволюции мутантов, более устойчивых к воздействию химических веществ за счет более сложного строения клеточной стенки. Так, грамотрицательные бактерии в целом более устойчивы к антибактериальным веществам, чем грамположительные. Такая устойчивость связана с дополнительной внешней мембраной, так как это дополнительный барьер проницаемости. Низкая текучесть наружной мембраны уменьшает скорость диффузии липофильных агентов в периплазматическое пространство. В то же время

узость, формируемая пориновыми белками трансмембранных каналов, снижает проникновение через них гидрофильных веществ.

В процессе эволюции возникли и более сложные коадаптированные системы регуляции гомеостаза. Кооперативное действие защитных систем доказывается обнаруженными в 80-е годы в периплазматическом пространстве β -лактамаз с преимущественным сосредоточением под выходами из пориновых каналов, по которым движутся молекулы субстрата. В настоящее время обсуждается возможность упорядоченного расположения «помп» в оболочке, точнее, транспортеров в цитоплазматической мембране в непосредственной близости от выхода из пориновых каналов в периплазму (Kuhler and et.al, 1997; Lix. and et.al, 1995).

Выброс ксенобиотика против градиента концентрации обеспечивается или «протондвижущей» силой, или гидролизом АТФ. Системы выброса можно назвать широко специализированными, так как они выбрасывают самые различные химические соединения: беталактам, тетрациклины, фторхинолоны, фузидиевую кислоту и красители (Aeschliman et.al., 1999; Moore et.al., 1999). Обнаружены и высоко специфические системы выброса.

Судьба ксенобиотика, попавшего внутрь клетки, целиком зависит от его строения и от наличия эффективных ферментативных систем, поддерживающих гомеостаз, как указывалось выше. В результате действия репаративных систем происходит:

- дезаминирование;
- гидроксילирование;
- окисление;
- декарбоксилирование;
- фосфорилирование;
- дезалкилирование;
- гликозилирование.

Очень часто токсические соединения являются и мутагенами, в этом случае включаются добавочные системы. В зависимости от механизма действия мутагена повреждаются те или иные метаболитичес-

кие шунты, включаются или блокируются различные пути поддержания клеточного гомеостаза. Особое место занимают генотоксиканты, которые являются либо аналогами азотистых оснований, либо модифицированными нуклеотидами. Репарация действия химических мутагенов осуществляется высокоэффективными механизмами эксцизионной репарации. Например, модифицированные основания, такие, как O^6 -метилгуанин, 7-метилгуанин, 3-метиладенин, гипоксантин, O^6 -алкилгуанин, часто встречаются в природе, по-видимому, поэтому у большинства прокариот существуют специфические ферменты – ДНК-гликозилазы (например, 3-метиладенин – гликозилаза), которые способны узнать модифицированное основание. Данные ферменты вырезают это основание за счет разрушения N-гликозильной связи. Образующиеся АП-сайты затем репарируются уже видоспецифично. Однако существует большое количество генотоксикантов, например, алкилирующие агенты, которые вызывают мутации не только у прокариот, но и у эукариот. При действии такими соединениями происходит алкилирование и азотистых оснований, и нуклеотидов. При этом индуцируется синтез специфических ферментов, которые называются метилтрансферазы или алкилтрансферазы. В частности, метилтрансферазы переносят метильную группу либо на свободное основание (в клетке всегда есть пул свободных азотистых оснований), либо на себя саму, в частности, O^6 -алкилгуанин-ДНК-гликозилаза переносит алкильную группу на свой цистеин (Knippers, 1997).

Метаболизм ксенобиотиков эукариот различается у растений и у животных.

В растениях трансформация токсикантов протекает особым образом. Известно, что растения в большинстве случаев, а высшие растения всегда, не способны покинуть место, где появился химический фактор, действующий как токсикант или как мутаген. Семечко, волею судьбы занесенное в почву, содержащую высокоактивные ксенобиотики, имеет две перспективы – либо прорасти, либо погибнуть. Именно поэтому естественный отбор благоприятствовал развитию механизмов, позволяющих растениям выживать *in situ*. Безусловно, рас-

пределение растений в биоценозе отражает в той или иной степени наличие факторов, угнетающе воздействующих на растительные организмы. В сущности, об этом и гласит сформулированный Шелфордом закон толерантности: невозможность произрастания вида определяется как недостатком, так и избытком любого из факторов, имеющих уровень, близкий к пределам переносимости данным видом (Культиасов, 1982).

Растения обнаруживают толерантность к самым различным ксенобиотикам, что связано с наличием специфических метаболических систем, защищающих растение от повреждающего воздействия (Новожилов, 1977; Саренбаев, Полимбетова, 1986).

Наличие или отсутствие систем защитных реакций, например, к гербицидам может проявляться на уровне семейств; так, галоидфенокислоты эффективны в отношении семейств *Brassicaceae*, *Malvaceae*, *Asteraceae*, а семейство *Poaceae* – устойчивы к ним (Чкаников, Соколов, 1973). Существует и видовая устойчивость к действию гербицидов; так, большинство представителей семейства *Solanaceae* чувствительно к действию гербицида 2,4-дихлорфеноуксусная кислота, однако картофель устойчив (Чкаников, Соколов, 1973). Более того, показано, что сорта одного вида обладают разной чувствительностью к гербицидам (Деева и др., 1988).

Токсичность гербицидов определяется несколькими факторами:

- способами поступления токсиканта в растение;
- физико-химическими свойствами соединения (растворимость в воде, стерические факторы, заряд молекулы и т.п.);
- степенью гидратации и рН клетки;
- метаболическим состоянием объекта;
- наличием или отсутствием систем репарации и модификации (Рангалис, 1978).

В ряде случаев устойчивость к гербициду обратно коррелирует со скоростью его проникновения в растение, со способностью ткани удерживать его (Чкаников, Соколов, 1973) и со способностью образовывать комплексы с белками (Радшеева, Радцеев, 1982). Огромную

роль в проникновении гербицида внутрь клеток растений играет его липофильность (Chamel, 1986; Durner et.al., 1986).

Под воздействием гербицидов резко изменяются метаболические процессы в сторону активации систем защиты клеток растений:

- меняется проницаемость мембран клеток (Grossmann et.al., 1986);
- изменяется синтез белков и нуклеиновых кислот (Григоренко и др. 1986; Деева, 1987);
- изменяется уровень фитогормонов (Grossmann et.al., 1986);
- изменяются состав и функции белков и жирных кислот мембран митохондрий и хлоропластов (Маштаков и др., 1985; Плотникова, Хорькова, 1985; Weber, Lüttige, 1988).

Как было показано, большинство ферментативных систем окисляет или гликозилирует ксенобиотики (Чкаников, 1987). Кроме всего, необходимо учитывать способность растений выделять ксенобиотики в окружающую среду (Чкаников, Соколов, 1973).

Механизм устойчивости к гербицидам и тяжелым металлам, при всей сходности, имеет ряд существенных отличий. Так, ионы металлов могут:

- быть связанными ферментами клеток корней с последующим переводом их в неусвояемую форму на поверхности мембран;
- связываться и переводиться в нерастворимые комплексы, отлагающиеся в клеточной оболочке. Для этого клетки синтезируют металлотионины и фитохелатины;
- эксцирироваться в окружающую среду при гуттации и отторжении органов (Барсукова, 1997).

Необходимо отметить, что последний механизм неспецифичен и описан для растений, подвергнутых воздействию самых различных ксенобиотиков.

В конечном итоге, действие ксенобиотиков на растения обнаруживается в следующих процессах:

- изменение пролиферативной активности;
- изменение синтеза белков, липидов и органических кислот;

- ингибирование и индукция специфических ферментов;
- изменение проницаемости клеточных мембран;
- угнетение фотосинтеза, угнетение или усиление дыхания;
- угнетение ростовых процессов.

Становится понятным, что наличие такого разнообразия биологических ответов относится к растениям вообще. В частности же, для каждого растения в процессе эволюции были выработаны свои специфические механизмы адаптации. В этом отношении интересно проанализировать детоксикацию растениями различных фенольных соединений. Все способы и механизмы метаболизма фенольных ксенобиотиков, как и в случае с гербицидами, можно свести к трем.

Первая группа включает в себя окисление и гидролиз.

Вторая группа – это конъюгация экзогенного фенольного соединения или метаболитов их превращения, возникающих после действия механизмов первой группы, с эндогенными соединениями, в результате чего образуется новое вещество с большим молекулярным весом, например, путем гликозилирования или путем образования связи с низкомолекулярными пептидами (Арзиани, 1983; Угрехелидзе, Дурмишидзе, 1984; Заирометов, 1988).

Третья группа – это вторичная конъюгация, в результате которой продукты, образованные в первых двух путях, переводятся в нерастворимые формы или пигменты, которые направляются в вакуоли (Моновейчук и др., 1988; Озолина, Мочалкин, 1975).

Животные, в отличие от растений, способны более активно выбирать среду обитания, однако массированное загрязнение окружающей среды и повсеместное заселение земного шара человеком привели к тому, что животные и сам человек не успевают приспособиться к изменению окружающей среды, что отражается и на их выживании, и на плодовитости. Необходимо отметить, что адаптивные возможности человека в отношении действия ксенобиотиков ограничены (Экология..., 1990).

Все ксенобиотики, попав в организм животного, подвергаются биотрансформации, которая осуществляется с помощью биологиче-

ски активных макромолекул, но большей частью – специфическими ферментами (Юрин, 2002). Ксенобиотики, оказавшись в организме, преодолевают ряд тканевых барьеров.

Если ксенобиотики попали перорально, то они всасываются в кровь через слизистые оболочки полости рта, желудка и кишечника. При этом успех их проникновения во внутреннюю среду зависит от ряда физико-химических параметров – от их растворимости в липидах и степени диссоциации молекул. Пути ксенобиотика в организме могут быть различными (см. рис. 12).



Рис. 12. Трансформация ксенобиотиков в организме.

Весь путь ксенобиотика – это путь через мембраны соответствующих тканей. Если вещество не растворимо в жирах, то возможно ограниченное проникновение его через поры. При этом соединение либо депонируется, либо выводится в неизменном виде, например, стрихнин (Альберт, 1989а), либо подвергается метаболической трансформации. Трансформация происходит в две фазы. На первой фазе в результате реакций окисления, восстановления и гидролиза

происходит образование промежуточного продукта, на второй – в результате реакций фосфорилирования, гликозилирования, метилирования, сульфатации, глюкуронидации происходит образование конъюгата (Куценко, 2003).

У животных разных видов трансформация даже одних и тех же ксенобиотиков происходит по-разному. В результате трансформации меняется биологическая активность соединения, например, если рассмотреть такой тип биологической активности, как токсичность, то может произойти: ослабление, усиление токсичности или изменение характера действия токсичности (Голиков и др., 1986). Например, гидролитическое отщепление от молекул зарина и замана иона фтора приводит к снижению их токсичности, так как они в этой модификации не способны ингибировать ацетилхолинэстеразу (Бадюгин, 1992).

Усиление токсических свойств играет огромную роль в фармакокинетике, когда «пролекарство» становится лекарством в результате контакта с белками крови (Оксенгендлер, 1991), однако большинство соединений после взаимодействия с альбуминами крови теряют свою токсичность (Альберт, 1989а). Некоторые вещества после трансформации становятся канцерогенами, например, нитрозоамины (Оксенгендлер, 1991).

В основном ферменты, осуществляющие первую фазу биологической трансформации, локализованы в печени, часть из них локализована в цитозоле клеток, а часть связана с мембранами. Некоторые вещества проходят вторую фазу в печени, некоторые в других органах. Продукты второй фазы (конъюгаты) выводятся либо почками (где они могут быть подвержены добавочному метаболизму), либо через кишечник, где также возможна добавочная трансформация, либо бактериальная, либо клетками стенок кишечника.

Ферменты, связанные с мембранами, часто могут быть сходными у животных даже различных классов; так, ферменты насекомых, участвующие в биотрансформации, сходны с ферментами микросомальной фракции печени млекопитающих.

Необходимо отметить, что ферменты первой фазы изучены достаточно подробно. Известны следующие ферменты: оксидазы (цитохром Р-450, флавиносодержащие оксидазы), пероксидазы, алкогольдегидрогеназы, эпоксидгидролазы, эстеразы, амидазы, флавопротеинредуктазы.

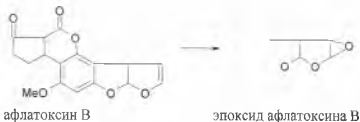
Оксидазы рассматриваемой группы, как правило, обладают низкой субстратной специфичностью, вызывая трансформацию самых различных веществ, поэтому их часто называют оксидазами смешанных функций. Р-450 относятся к группе гемопротеинов типа цитохромов *b*-пигментов, активно связывающих окись углерода. Свое название эти ферменты получили за то, что максимум поглощения света пигментом, связанным с CO_2 , наблюдается при длине волны 450 нм. Р-450 представляют собой семейство мембрано-связанных ферментов, которые с помощью иммунологических методов можно разделить на ряд подсемейств.

Некоторые ткани содержат несколько различных изоформ Р-450, однако есть и тканеспецифичные формы. Наличие специфических форм Р-450 обусловлено генетическими механизмами, а повышенное содержание в различных тканях изоферментов Р-450 индуцируется действием на организм различных ксенобиотиков: лекарств, ядов, экотоксикантов. Ксенобиотики не только индуцируют Р-450, но способны и ингибировать активность этих ферментов. Реакции микросомального окисления, протекающие при участии Р-450, как правило, зависят от содержания O_2 и НАДФН в среде. Поскольку Р-450 являются гемопротеинами, их активность отчасти регулируется процессами метаболизма железа. Нарушения метаболизма голодание, понижение соотношения НАДФН/НАДФ⁺ – могут приводить к снижению активности Р-450.

Окисление ксенобиотиков при участии Р-450 является основным механизмом их трансформации в первой фазе. Р-450 катализирует окисление практически всех классов органических молекул. Субстратами могут служить и хлороформ, и сложные гетероциклические соединения, например, антибиотик циклоспорин. При пони-

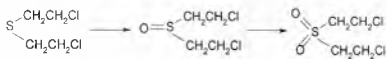
женном парциальном давлении кислорода в тканях P-450 могут катализировать восстановление четыреххлористого углерода, некоторых галогенированных углеводородов с образованием свободных радикалов (Юрин, 2002).

Реакции эпексидирования осуществляет группа ферментов, которые называются *эпексидгидролазы*. Примером действия ферментов может служить метаболизм афлатоксина В, в результате которого образуется канцероген эпексид афлатоксина.



Расщепление жиров может происходить как за счет P-450, так и при участии *гидролитических ферментов*.

Окисление тиоэфиров также происходит в печени, например, окисление сернистого иприта.

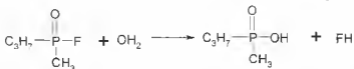


Пероксидазы превращают перекиси в воду и спирт.

Дегидрогеназы. Обширная группа ферментов, к которым относятся и алкогольдегидрогеназа печени, которая обладает невысокой субстратной специфичностью. Субстратом для этого фермента служат этанол, метанол, и ароматические спирты.

Флавоинпротеинредуктазы – это группа ферментов, участвующая в трансформации хиноинов, однако при этом происходит образование высокотоксичных свободных радикалов.

Гидролазы – ферменты, осуществляющие расщепление эфиров, амидов кислот, эпоксидов и некоторых фосфорорганических соединений. Например, они способны осуществить гидролиз зарина:



Несмотря на эффективное действие этой системы, ей присущ ряд недостатков:

- слабость или отсутствие многих ферментов в жизненно важных органах (сердце, головной мозг);
- меньшая защита организма при других путях проникновения (слизистые, раны, инъекции);
- усиление токсичности некоторых веществ.

Вторая фаза трансформации ксенобиотиков – этап биологической конъюгации промежуточных продуктов метаболизма с эндогенными молекулами, такими, как глутатион, глюкуроновая кислота и т.д. Специфические системы транспорта конъюгированных дериватов обеспечивают их выведение из организма. В ходе биопревращений липофильный и, следовательно, трудно выводимый ксенобиотик становится гидрофильным продуктом, что обуславливает возможность его быстрой экскреции (Оксенгендлер, 1991).

Ферменты, осуществляющие вторую фазу, можно объединить в 5 групп.

1. Ферменты, приводящие к образованию эфирной и амидной связи с промежуточными метаболитами:

- ацетил КоА;
- амино-N-ацетилтрансфераза;
- сульфотрансфераза;
- уридинфосфат(УДФ)-глюкоурилтрансфераза.

2. Ферменты, осуществляющие конъюгацию с глутатионом:

- глутанин-S-трансфераза.

3. Ферменты, осуществляющие конъюгацию с цистеином:

– цистеин-конъюгирующие β -лиазы.

4. Метилтрансферазы:

– катехол-О-метилтрансферазы.

5. Ферменты симбионтов кишечника.

Ферменты второй фазы имеют ряд достоинств: они функционируют при любом пути поступления в организм и завершают детоксикацию, начатую ферментами первой фазы.

Трансформация ксенобиотиков детерминируется наследственностью организма, однако существуют и экзогенные факторы, способные влиять на метаболизм ксенобиотика. Физическими факторами являются любые факторы, угнетающие жизнедеятельность или создающие некомфортные условия для организмов: переохлаждение, ультрафиолетовое и радиоактивное излучения, высокая температура, высокая влажность. Все химические факторы можно объединить в три группы: индукторы ферментов трансформации, ингибиторы ферментов, химические соединения, разрушающие организм (Кущенко, 2003).

Органы-мишени токсического действия можно разделить на три группы по наличию в них ферментативных систем, способных усиливать негативное действие ксенобиотика:

– органы-мишени, обладающие всем набором ферментов для трансформации ксенобиотика; однако бромбензол и его аналоги в печени после обработки ее ферментами (P-450) превращаются в ареноксины, которые повреждают орган; или α -нафтиламин, который в печени превращается в канцероген;

– органы-мишени, не имеющие ферментов для трансформации самого ксенобиотика, но способные модифицировать первичные продукты метаболизма ксенобиотика, осуществленного печенью. Например, в печени нет ферментов катаболизма конъюгатов глутатиона, так как эта трансформация осуществляется почками, которые и повреждаются вследствие этого (так воздействуют на организм млекопитающих ароматические углеводороды);

– органы-мишени, не участвующие в метаболизме ксенобиотика, но обладающие высокой чувствительностью к образованным в других органах метаболитам; например, пирролизидиновые алкалоиды, превращенные в печени в пирролы, которые разрушают эндотелий сосудов легких.

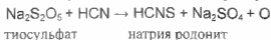
В связи с вышеизложенным можно сказать, что понимание механизмов повреждающего действия ксенобиотиков позволит разработать систему, способную снять негативные эффекты ксенобиотика. До сих пор относительный успех был достигнут только в отношении соединений, имеющих порог действия, то есть только в отношении токсикантов (Оксенгендлер, 1991).

Если известен механизм действия токсиканта и мишень, то появляются возможности для создания антидотов (противоядий). Мишенями токсикантов могут быть любые органы и ткани, однако есть тканеспецифичное действие ксенобиотиков, например, соли свинца являются нейротропным ядом.

Взаимодействие токсиканта и антидота может быть прямым и опосредованным. Антидоты прямого действия – это соединения, вступающие в непосредственный контакт с ядом, в результате чего происходит:

1) фиксация яда (сорбция) до попадания его в кровяное русло, так действуют, например, активированный уголь и каолин;

2) образование нетоксического соединения в результате химического антагонизма между ядом и антидотом, например,



Характерной чертой такого механизма антидотного действия является его избирательность. Способность образовывать прочные, не диссоциирующие водорастворимые соединения со многими токсическими катионами присуща многим хелатам. Такими свойствами обладает ЭДТА, образующий комплексы, устойчивость которых растет в ряду:



Поэтому кальцинированные соли ЭДТА являются противоядием при отравлении свинцом и ртутью (Архипова и др, 1975).

Существуют природные препараты – пектины и фитины, способные связывать ионы тяжелых металлов (Абрамова, 1967).

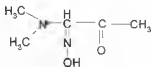
Антидоты непрямого действия не реагируют с токсикантами, но устраняют или предупреждают нарушения в организме, возникающие при интоксикации. При отравлении мускарином (яд мухомора) антидотом является атропин, который блокирует тот тип холинорецепторов, возбуждение которых определяет токсическое действие мускарина.

Вторым путем непрямого действия является реактивирование поврежденной ядом биоструктуры. К таким антидотам относятся реактиваторы холинэстераз, которые восстанавливают активность ферментов, ингибированных ядом.

Например, ФОС:



ингибирует холинэстеразу, его антидотом является изонитрозин



(Голиков, Заугольников, 1970)

Необходимо отметить, что во всех случаях важная роль принадлежит такому фактору, как время, так как при длительном существовании комплекса «яд-фермент» он трансформируется так, что нельзя разрушить его и восстановить активность фермента.

Третий механизм – это антидоты, которые замещают утраченные или поврежденные под действием токсиканта биоструктуры. Так, при отравлении гидразином (N_2H_4) и его производными, которые возникают при производстве пластмасс, каучука, некоторых красителей, взрывчатых веществ и некоторых лекарственных препаратов, мишенью для этих токсикантов является глутамат декарбоксилаза – фермент, который катализирует превращение глутаминовой кислоты в

ГАМК. Гидразин и его производные взаимодействуют с коферментом глутаматдекарбоксилазы – пиридоксальфосфатом, биохимическим предшественником которого является пиридоксин – витамин В₆ и пиридоксаль, тем самым тормозится образование ГАМК. Кроме того, гидразин и его производные связывают ГАМК-трансаминазу, моноаминоксидазу, диаминоксидазу, что приводит к торможению окислительного дезаминирования катехоламинов и сератонинов и накоплению их в адренэргических структурах. Последнее ведет за собой избыточную реакцию адренорецепторов и дезорганизует цепь передачи нервных импульсов.

Антидотом является пиридоксин в комплексе с глутаминовой кислотой. Они частично связывают яд и ускоряют выведение его из организма. Иногда используют высокоэффективное лекарство «гамма-лон» – препарат ГАМК (Абрамова, 1964).

Четвертый механизм – это антидотное влияние на течение реакции биотрансформации токсикантов.

Около 30% бензола, попавшего во внутреннюю среду организма, после трансформаций превращается в токсичные фенольные метаболиты – гидрохинон, пирокатехин, оксигидрохинон, остальная часть бензола либо выделяется в неизменном виде, либо депонируется в тканях. Метаболиты бензола вызывают отравление. Происходит избирательное повреждение клеток крови, в особенности гранулоцитов, что связано, как предполагают, с наличием в их цитоплазме окислительных ферментов: оксидаз, каталаз, пероксидаз, липаз и фосфатаз.

Введение антиоксидантов (метионин, цистеин, аскорбиновая кислота) снижало уровень фенольных метаболитов (Оксенгендлер, 1991).

Антидотное вмешательство в процессы трансформации токсикантов может быть осуществлено путем отвлечения соответствующих ферментов другими субстратами. Так, при отравлении ФОС используют панкреатин, в состав которого входят амилаза и трипсин. Вступая в реакции форсфорилирования, эти ферменты «принимают дейст-

вие ФОС на себя», конкурируя с холинэстеразой за связь с высокотоксичным ингибитором (Абрамова, Болтушкина, 1967).

Необходимо отметить механизм, связанный с синтезом особых белков (антител). Большинство токсикантов не являются антигенами, но если это вещество ковалентно присоединить к макроносителю – белку, то такой конъюгат способен вызвать иммунный ответ на действие токсиканта, причем специфический. Таким способом можно получать и практически использовать антитела к различным классам химических соединений. Образование антител к токсикантам идет по схеме, предложенной Ковалевым И.Е. и Маленковым А.Г. (1980).



В последние годы остро встала проблема защиты животных и растений от антропогенных генотоксикантов. Наиболее конструктивной защитой от действия мутагенов является их устранение из среды обитания. Однако в настоящее время такое не представляется возможным, именно поэтому сегодня интенсивно ведется поиск антимутагенов.

До появления человечества в природе в процессе эволюции для каждого вида развились весьма эффективные механизмы репарации. Однако скорость производства ксенобиотиков столь высока, что естественные системы не успевают справляться, в результате чего частота возникновения мутаций резко возросла. Кроме того, необходимо учитывать, что между мутагенными и канцерогенными свойствами ксенобиотиков прослеживается высоко достоверная связь (Mc Cap, Ames, 1976). Поэтому в последние годы большое количество исследований было направлено на поиск и синтез антимутагенов.

Существует большое количество как природных, так и синтетических антимутагенов.

Первая попытка классифицировать антимутагены была предпринята У.К. Алекперовым (1984). Он разделил все существующие антимутагены на шесть групп:

- соединения, влияющие на синтез нуклеиновых кислот;
- соединения, влияющие на синтез белков;
- аминокислоты и другие метаболиты;
- витамины и ферменты, ингибиторы свободно-радикальных процессов;
- комплексные природные соединения;
- фармакологические препараты.

Такая система позволяет, по мнению автора, учитывать возможный механизм действия.

В 1988 году вышла работа S. De Flora и C. Ramd, в которой авторы разделили все существующие антимутагены в соответствии с предполагаемым механизмом действия на две группы: внеклеточные и внутриклеточные.

Внеклеточные ингибиторы мутагенеза (дисмутagens)

✓ Ингибиторы поглощения мутагенов и их предшественников:

- препятствующие проникновению в организм и клетку, например, защита тела при помощи водных процедур; жирные кислоты; ароматические кислоты;

- ускоряющие выведение мутагена из организма, например, растительные волокна.

✓ Ингибиторы эндогенного формирования мутагенов:

- ингибиторы реакции нитрозирования, например, аскорбиновая кислота, токоферолы, фенолы;

- изменяющие внутрикишечную флору, например, ферментированные молочные продукты.

✓ Деактивирование мутагенов:

- в результате физиологических реакций, например, сохранение физиологического pH в жидкостях тела;

- в результате химических реакций, с помощью тиолов и антиоксидантов;

- в результате ферментативных реакций, за счет потребления овощей с пероксидазной активностью (например, употребление хрена).

Внутриклеточные ингибиторы мутагенеза.

✓ Модуляторы метаболизма (блокирующие агенты):

- ингибиторы репликации (например, ретиноиды);

- вещества, ускоряющие переход мутагенов в клетки, не являющиеся мишенями (тиолы);

- ингибиторы активации промутагенов (модуляторы первой фазы трансформации ксенобиотиков);

- индукторы механизмов детоксикации (фенолы, тиолы).

✓ Инактивирующие реакционно-способные молекулы:

- вещества, взаимодействующие с электрофилами (в результате химических реакций – компоненты, содержащие серу, в результате ферментативных реакций – индукторы второй фазы трансформации ксенобиотиков);

- ловушки кислородных радикалов (различные антиоксиданты);

- вещества, защищающие нуклеофильные участки ДНК.

✓ Модуляторы репликации и репарации ДНК:

- увеличивающие точность репликации ДНК (хлорид кобальта, арсенит натрия);
- повышающие эффективность репарации ДНК (цинк амальдегид, кумарин, амбеллиферон, ванилин, тиолы);
- ингибирующие ошибки репарации (ингибиторы протеаз).

Несмотря на то, что данная классификация наиболее обширна, в настоящее время в нее не вошли соединения такие, как интерферон и убихинон (Гончаров, 1993; Засухина, Синельникова, 1993). Классификация не включила в себя и аденилатциклазные комплексы, участвующие в антимутагенезе. Этот механизм предполагает, что антимутагенное действие ряда соединений реализуется через систему посредников (вторичных мессенджеров) (Семенов и др., 1994). Кроме того, эта система не включает вещества, стабилизирующие структуру ДНК и проявляющие таким образом антимутагенную активность (Семенов, 1995).

К настоящему времени опубликованы результаты многочисленных исследований, выявивших антимутагенные свойства многих пищевых компонентов и фармакологических препаратов – см. обзор (Дурнев, Середенин, 1998).

Поиски антимутагенов и антидотов в настоящее время затруднены, так как до сих пор не существует разработанной теории, позволяющей объяснить связь между физико-химическими свойствами соединений и их биологической активностью.

Большинство ферментных систем обезвреживания ксенобиотиков индуцибельны, но многие постоянно участвуют в эндогенном метаболизме. Например, система цитохрома Р-450 участвует в метаболизме холестерина с образованием желчных кислот и стероидных гормонов, в перекисном окислении липидов; система метилтрансфераз – в синтезе креатина, холина, мелатонина, обмене катехоламинов, метилировании ДНК; система ацетилтрансфераз – в метаболизме гексозаминов, нейраминной кислоты, в синтезе ацетилхолина; сульфотрансфераза – в метаболизме желчных кислот. Все вышеперечисленное говорит о расширении функций ферментных систем в процессе эволюции.

ГЛАВА 6

КЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАНЫ КАК ФАКТОР, ВЛИЯЮЩИЙ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КСЕНОБИОТИКА

Взаимодействия клетки с окружающей средой осуществляются через специальные барьеры. Таким образом, биологическая активность ксенобиотиков определяется не только их физико-химическими свойствами и структурой, но и особенностью строения клеточных барьеров. Сами барьеры очень разнообразны, однако у них есть общее, присущее всем клеткам наличие плазматической мембраны (рис. 13).

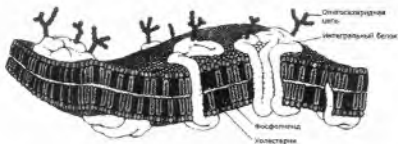


Рис. 13. Молекулярная структура плазматической мембраны. Интегральные белки либо плавают на липидном бислое, как айсберги, либо «сидят на нем верхом»; они передвигаются посредством латеральной диффузии. Олигосахаридные боковые цепи гликопротеидов образуют «лес антенн» на поверхности клетки (по Де Дюв, 1987)

Несмотря на многообразие биологических мембран, основные принципы структурной организации всех мембран животного, растительного и бактериального происхождения одинаковы. Согласно получившей широкое признание «жидкостно-мозаичной» модели, первоначально предложенной в 1972 году Сингером и Николсоном, биомембрана представляется как текучий фосфолипидный бислой, в который погружены белки (рис. 13). Впоследствии стало, однако, оче-

видным, что молекулярная организация мембран гораздо сложнее, чем это следует из «жидкостно-мозаичной» модели. В частности, показано, что не все мембранные белки свободно диффундируют в жидком липидном бислое (Геннис, 1997). Некоторые участки мембран отличаются по своей структуре от классического липидного бислоя вследствие липидного полиморфизма. Была предложена «метаморфно-мозаичная» модель – смотри рис. 14 (de Kruijf В., 1997).

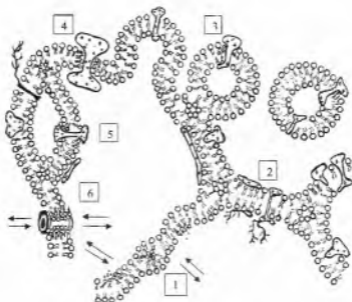


Рис. 14. «Метаморфно-мозаичная» модель по de Kruijf В. (1997), включающая в себя следующие процессы:

1. трансмембранный перенос полярных молекул и ионов (Ca^{2+} и т.д.), связанный с возникновением промежуточных образований типа обращенных мицелл;
2. сочленение мембран друг с другом;
3. слияние мембран и экзоцитоз;
4. трансмембранный перенос белка;
5. компартиментализация в протяженных мембранных системах;
6. образование пор в мембране

В пределах одной мембраны могут соседствовать участки с разным липидным составом и функциями. В настоящее время считают,

что сложная динамическая структура биомембран, для которой характерны искривления, фазовые переходы, вариации толщины, образование небислойных структур, определяется специфическими взаимодействиями мембранных белков с липидами. Такие взаимодействия во многом обеспечивают эффективное выполнение мембранами разнообразных клеточных функций, возникающих в ходе метаболизма (Гринштейн, Кост, 2001).

Среднее содержание белков в мембранах составляет примерно 60% (по массе сухого вещества), при этом в состав биомембран также входят липиды – 30% и углеводы – 10% (Геннис, 1997). Естественно, соотношение между этими компонентами может значительно меняться в зависимости от природы мембран. Так, содержание белков в мембранах может варьироваться от 20% в миелине до 80% в митохондриях (Болдырев и др., 1990). Липиды – фосфолипиды, гликолипиды, холестерин – составляют костяк мембраны и ответственны за целостность мембранной структуры. Углеводы обнаруживаются в составе мембранных белков (гликопротеинов и протеогликанов) или липидов (гликолипидов). Кроме того, в мембранах содержится относительно большое количество (~30%) связанной невымерзающей воды (Геннис, 1997; Болдырев и др., 1990).

Уникальность функций каждой мембраны в значительной степени определяется свойствами мембранных белков, входящих в ее состав. Белки – разнообразные ферменты, транспортные белки, рецепторы, поры, каналы и др. – вносят существенный вклад в формирование структуры клеточных мембран (Болдырев и др., 1990; Геннис, 1997; Гринштейн, Кост, 2001).

Белковая молекула может фиксироваться в бислое с помощью различных типов взаимодействий, включая электростатические (на уровне полярных головок липидов) и гидрофобные (в толще бислоя).

Мембранные белки подразделяют на два типа: периферические и интегральные. Периферические белки отличаются от интегральных меньшей глубиной проникновения в бислой и степенью воздействия на состояние и подвижность углеводородных цепей липидов.

Периферическими называют белки, легко вымываемые из мембран растворами солей или даже дистиллированной водой. Такие белки способны обратимо связываться с бислоем и часто совершают челночные перемещения между мембраной и ее окружением. Некоторые из этих белков связываются непосредственно (или через посредника, в частности, Ca^{2+}) с заряженными группами липидов мембран за счет электростатических взаимодействий. Следует отметить предпочтительное связывание таких белков с мембранами определенного липидного состава; так, например, для фосфолипазы А2 критичным является присутствие в мембране фосфатидилхолиновых липидов, а для протеинкиназы С – фосфатидилсериновых. В то же время эти белки могут взаимодействовать с ближней гидрофобной областью бислоя.

Существует также ряд белков, адсорбирующихся на мембранных гликолипидах и гликопротеинах посредством «углевод-белкового» и/или «белок-белкового» взаимодействия (Геннис, 1997; Гринштейн, Кост, 2001).

Интегральные белки связаны с мембраной за счет более прочных гидрофобных взаимодействий. Их делят на внутренние (трансмембранные) и наружные, имеющие гидрофобный якорь. Интегральные белки можно извлечь из мембраны только при разрушении липидного бислоя детергентами или органическими растворителями.

Трансмембранные белки могут содержать один или несколько полипептидных участков, пересекающих бислоем, что характерно для АТФ-аз, бактериородопсина, родопсина и др. Эти участки, как правило, целиком построены из гидрофобных аминокислот и часто имеют α -спиральную конфигурацию (Болдырев и др., 1990; Геннис, 1997).

Многие интегральные белки животного происхождения связываются с плазматическими мембранами клеток за счет гидрофобного якоря, при этом большая часть молекулы гликозилирована и локализуется с наружной стороны мембраны (Болдырев и др., 1990; Геннис, 1997).

Некоторые из этих белков крепятся к мембране посредством ковалентно связанного гликозил-фосфатидилинозитольного (GPI) якоря. Подобный способ связывания реализуется в случае щелочной фосфа-

тазы, 5'-нуклеотидазы, ацетилхолинэстеразы и др. Другие белки взаимодействуют с мембраной за счет трансмембранного пептидного якоря – последовательности гидрофобных аминокислот, расположенной вблизи N- или C-конца молекулы белка (Гринштейн, Кост, 2001).

Биологическая роль различных мембранных ферментов может в значительной степени определяться их способностью к связыванию с мембраной.

Во-первых, связывание с мембраной обеспечивает локализацию ферментов в определенной части клетки и в той области мембраны, где концентрируется субстрат.

Во-вторых, адсорбция ферментов на мембране создает возможность для сопряжения процессов катализа и трансмембранного переноса.

В-третьих, для многих ферментов при связывании с мембраной обеспечивается доступность водонерастворимых субстратов. Это могут быть интегральные ферменты, участвующие в «процессинге» мембранных белков (например, секретазы мембранных белков), а также периферические ферменты: фосфолипазы, протеинкиназа С и др. Наконец, при связывании формируется оптимальное микроокружение, обеспечивающее нативную конформацию и каталитическую активность мембранных ферментов (Гринштейн, Кост, 2001).

Липидный состав мембран характеризуется высоким полиморфизмом, т.е. существует много факторов, определяющих липидный состав.

1. Смесь липидов должна быть способна образовывать стабильный бислой.
2. Липидный полиморфизм способствует стабилизации сильно искривленных участков, образованию контакта между мембранами и связыванию с определенными белками (см. выше).
3. Некоторые липиды участвуют в реакциях биосинтеза, например, в клетках *E.coli* фосфатидилглицерол поставляет глицеролфосфатный фрагмент при синтезе периплазматических олигосахаридов.

4. Некоторые липиды являются важными биорегуляторами, например, фосфатидилинозитол в плазматических клетках эукариот, или ганглиозиды, играющие важную роль в росте клеток.

5. Отдельные липиды необходимы для нормального функционирования ряда ферментов (см. выше).

6. Некоторые липиды выполняют функции рецепторов в мембранах, например, ганглиозиды.

7. Существуют липиды, выполняющие тканеспецифические функции, например, долихол, убихинон, менахиноны, являющиеся полиизопреноидами; фактор активации тромбоцитов и др. (Геннис, 1997).

Именно способность биологических мембран создавать барьер с селективной проницаемостью позволила на заре эволюции первым клеткам поддерживать гомеостаз и существовать.

У растений и бактерий существуют клеточные стенки, которые также являются барьером, способным ограничивать поступление определенных веществ в клетку; необходимо также отметить, что у всех представителей животного царства клеточная стенка отсутствует.

Современное состояние окружающей среды привело к необходимости разработки гипотез, способных с той или иной степенью достоверности оценивать потенциальную опасность соединений, и первые попытки создания таких гипотез столкнулись с рядом трудностей, когда параметры биологических систем оказалось невозможно математически формализовать. Так, было обнаружено, что избирательное действие некоторых соединений связано с:

- морфологическими особенностями, приводящими к преимущественному накоплению веществ (например, относительно большая поверхность тела насекомых по сравнению с таковой у млекопитающих приводит к большей площади контактов с распыляемым ксенобиотиком);

- биохимическими особенностями (появление в эволюции эффективно работающих систем трансформации ксенобиотика);

- цитологическими особенностями (строение клеток, клеточных оболочек) и особенностями строения наружных мембран у клеток разных тканей.

На последние особенности и было обращено особое внимание, так как именно молекулярные механизмы взаимодействия веществ с клеточными барьерами и определяют их способность проникать внутрь клеток и вмешиваться в метаболизм.

В.М. Карасик (1962) показал, что ксенобиотик может только тогда проявить свое специфическое действие, когда в его строении будет сходство и родство по отношению к какому-либо биолиганду или биомолекуле. И первыми биолигандами, с которыми сталкивается ксенобиотик, являются белки и фосфолипиды поверхностных мембран или биолиганды клеточных оболочек растений и бактерий.

Факторы, влияющие на способность соединений проникать внутрь клеток и вмешиваться в их метаболизм, можно объединить в группы, представленные на следующей схеме:



Клеточная стенка обеспечивает клеткам растений и бактерий высокую прочность. У многоклеточных растений клеточную стенку синтезируют ферменты плазматической мембраны. Клеточные стенки растений состоят из микрофибрилл целлюлозы диаметром 10-20 нм, представляющих собой частично О-метилованную кальциевую соль галактуроновой кислоты, которые погружены в аморфный матрикс гемицеллюлозы и пектинов (Siegel, 1967).

Клетки грибов окружены клеточной стенкой, представляющей собой мозаику из различных углеводов с отдельными включениями

белков. Основным углеводом является поли-N-ацетилглюкозаамин (хитин). Однако у дрожжей клеточная стенка состоит из полиангида глюкозы (глюкана) и маннанпротеиновой кислоты.

Знание особенностей цитофизиологии и биохимии грибов позволило создать высокоэффективные фунгициды, например, пентахлорнитробензол, которые снижают содержание хитина в клеточной стенке, и клетки лопаются вследствие высокого осмотического давления (Альберт, 1989а).

В бактериальных стенках, особенно у грамположительных бактерий, так же существует высокое осмотическое давление, которое сдерживает толстая клеточная стенка (25% от сухого веса клеток), состоящая из муреина и тейхоевой кислоты. Муреин является специфическим субстратом для лизоцима (слезы человека и яичный белок содержат большое количество лизоцима) (Овчинников, 1987). Разрушение бактериальной стенки приводит к гибели бактерий.

Стенки грамотрицательных бактерий устроены сложнее, у них есть вторая мембрана, состоящая из липопротеинов и липосахаров. У них нет тейхоевых кислот, а муреин составляет только 5 – 20% всей массы стенки. Бактериальные споры имеют стенки, построенные так же, как и клеточные стенки бактерий, но, кроме того, покрыты комплексом кальция с дипиколинатом, который снаружи покрыт белками с множественными дисульфидными мостиками (Альберт, 1989а).

Следующим барьером на пути проникновения ксенобиотика внутрь клеток является плазматическая мембрана, которая у животных выступает в роли единственного и основного клеточного барьера.

Транспорт соединений через мембраны может осуществляться несколькими способами и зависит от клеточного метаболизма и типа мембраны, контактирующей с веществом. Мембраны можно условно разделить на четыре типа.

Мембраны 1 типа – транспорт осуществляется путем диффузии, и скорость переноса прямо пропорциональна разнице концентраций по обе стороны мембраны. Через такие мембраны легче всего распределяются соединения с выраженной липофильностью. Оказалось, что часто

проницаемость мембран даже одного типа клеток зависит от каких-то специфических свойств исследуемых тест-объектов – см. таблицу 5.

Таблица 5

Проницаемость природных мембран (Альберт, 1989а)

Вещество	Коэффициент распределения – Р (оливковое масло/вода) $\times 10^5$	Проницаемость моль/сек/мкм/ разность молярных концентраций, $\times 10^{20}$			
		растения		эритроциты	
		наземные	водные	млекопитающие	птицы
Глицоль	50	1100	12 000	2100	не рассчитана
Мочевина	15	15	1000	78 000	очень низкая

Вещества с высокой липофильностью легко растворяются в мембранах, но не способны выйти из нее. Так, проникновение глицерина внутрь клеток требует затрат большого количества энергии для разрыва водородных связей между молекулами глицерина и воды и внедрения глицерина в липидный слой. Затем глицерин быстро выходит из мембран во внутриклеточное пространство. Напротив, липофильные молекулы, например, молекулы фенобарбитала, быстро проникают в мембраны и крайне медленно выходят из нее.

Толщина мембран первого типа примерно 5 нм, они состоят в основном из липидов, смешанных с белками. Скорость проникновения через них липофильных веществ прямо пропорциональна коэффициенту распределения (Р). Кроме того, было установлено, что скорость переноса также зависит от их относительной молекулярной массы, заряда и температуры (Альберт, 1989а).

Мембраны 2 типа. К ним относятся мембраны, содержащие специфические переносчики, обеспечивающие облегченную диффузию. Через эти мембраны легко проникают соединения с высокой степенью ионизированности или гидрофильные, которые задерживаются мембранами первого типа. Транспортируемые молекулы обратимо соединяются с мембранным переносчиком, а так как толщина мембраны

очень мала, переносчик при связывании с молекулой ксенобиотика и высвобождении его испытывает незначительные конформационные изменения. Иногда достаточно изменения заряда, чтобы транспортируемая молекула освободилась внутри клетки (Геннис, 1997).

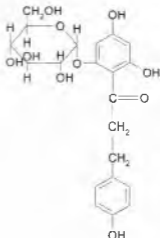
Для мембран этого типа характерно следующее:

- способность переносчика к насыщению, даже когда градиент концентрации благоприятствует диффузии;
- высокая химическая специфичность переносчика даже в случае стереоизомеров;
- возможность ингибирования переносчика структурами, напоминающими субстрат;
- отсутствие потребления энергии метаболизма при транспорте.

Известно, что эритроциты млекопитающих содержат переносчик D-глюкозы и при этом обеспечивают транспорт D-маннозы, D-ксилозы, галактозы и некоторых синтетических сахаров, так как минимальное требование, которому должна соответствовать структура молекулы сахара, транспортируемого в клетки кишечника млекопитающих, чтобы ее могли узнать переносчики, – это наличие шестиуглеродного пиранозного «скелета» с гидроксильной группой у второго атома углерода.



глюкоза



флоридзин

Однако L-изомеры данной переносчик отличает и не пронесит в клетку. Флоридзин способен ингибировать транспорт глюкозы, но при этом не способен проникать внутрь клеток (Финеан и др., 1977)

Специализированная система переносчиков существует для многих аминокислот, пуриновых и пиримидиновых оснований и их нуклеозидов (Альберт, 1989а).

Широко известны гуанозин-имидазолиновые рецепторы, открытые в клетках самых различных тканей. Эти рецепторы распознают имидазолиновые или оксазолиновые химические структуры. Их стимулирование ведет к гипотензивному действию или к антиаритмии у млекопитающих. В настоящее время выделено 12 подтипов имидазолиновых рецепторов, которые функционально делятся на два типа. Показано, что если рецепторы первого типа ограниченно распределены в вентролатеральном костном мозге млекопитающих, где они отвечают за кровяное давление, то рецепторы второго типа обнаруживаются в митохондриальной мембране в пределах большого ряда клеток (Ernsberger et.al., 1995). Специфичность работы данных рецепторов определяется наличием «имидазольного ядра», что имеет глубокий эволюционный смысл, так как многие природные биологически активные соединения включают в себя кольцо имидазола (Овчинников, 1987). Таким образом, минимизировались энергозатраты на фиксацию в геноме информации о данном типе рецепторов, что согласуется с некоторыми принципами макроэволюции (Грант, 1991).

У бактерий и эукариот можно обнаружить сходные рецепторные системы, например, рецепторы, опосредующие ответы, которые влияют на экспрессию генов. У прокариот, как и у эукариот, связывание рецептора с биолигандом инициирует каскад событий, специфических для каждого вида организма.

Сами ответы можно объединить в несколько групп:

- связывание лиганда с рецептором индуцирует открывание канала, образуемого рецептором; так действует, например, рецептор γ -аминомасляной кислоты;

- связывание лиганда с рецептором индуцирует протеинкиназную активность (протеинкиназа представляет собой цитоплазматический домен рецептора), например, так происходит взаимодействие митогенных пептидных гормонов с рецепторами;

- рецептор образует комплекс с G-белками GTF-связывающих белков. G-белки имеют уникальные мишени – эффекторные белки, вызывающие специфический клеточный ответ.

Наличие рецепторов на мембране позволяет клетке наиболее оптимально взаимодействовать с ее окружением. Функции этих рецепторов различны:

- осуществление и регуляция адгезивных свойств клетки;
- участие в системах «сигнал-ответ»;
- импорт макромолекул в цитоплазму.

Многие из них могут быть сгруппированы в суперсемейства структурно родственных, но функционально различающихся белков. Например, рецепторы, взаимодействующие с G-белками, образуют одно из нескольких суперсемейств рецепторов, участвующих в системах «сигнал-ответ» (Гендис, 1997).

Мембраны 3 типа способны осуществлять транспорт против градиента концентрации, то есть имеют системы активного транспорта. Например, мембраны клеток почечных канальцев способны всасывать вещества определенного типа, зачастую против градиента концентрации. К системе активного транспорта относится «K-Na насос» млекопитающих или захват бактериями неорганических ионов, сахаров и аминокислот.

Все ионные насосы могут называться *первичными активными переносчиками*. Благодаря их работе осуществляется перемещение заряда, и на мембране создается напряжение и трансмембранный градиент.

Вторичные активные переносчики используют такие градиенты в качестве движущей силы для транспорта растворимых веществ, например, лактопермеаза *Escherichia coli* использует протонный электрохимический градиент, генерируемый дыхательной электротранспортной цепью, для накопления лактозы в клетке. Это – пример сим-

порта, когда через мембрану одновременно переносятся два разных вещества в одном направлении, например, протоны и лактоза. *Антипорты* осуществляют транспорт веществ в противоположных направлениях, например, «белок полосы 3» эритроцитов осуществляет сопряженный транспорт ионов Cl^- и HCO_3^- в противоположных направлениях через эритроцитарную мембрану (Геннис, 1997).

Необходимость использования больших количеств энергии для поддержания активного транспорта предъявляет высокие требования к интенсивности метаболизма клетки. В отдельных случаях на активный транспорт может затрачиваться вся энергия, вырабатываемая в клетке. У отдыхающего человека около 30 – 40% всей энергии метаболизма растрачивается на активный транспорт.

В качестве переносчиков выступают специфические белковые компоненты клетки.

Роль этих белковых компонентов наиболее ярко проявляется в генетическом контроле транспортных систем. Дефект в системе кодирования одного из этих белков приводит к специфическим нарушениям в транспортной системе.

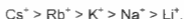
У человека идентифицировано более двадцати «транспортных болезней», например, к ним относятся почечная глюкозурия (нарушение всасывания сахаров), болезнь Гартмана (аминокислот), иминоглицинурия (аминокислот), семейный рахит (фосфатов), наследственный сфероцитоз (Na^+ , K^+), нарушение всасывания витамина B_{12} . Однако, молекулярная природа недостающих компонентов в транспортной системе больных до сих пор еще не выяснена.

В целом процесс можно представить следующим образом: специфическое узнавание и связывание вещества с переносчиком, транслокация через мембрану на небольшое, но неизвестное в настоящее время расстояние, диссоциация комплекса «вещество-переносчик». Наличие в мембране ферментативной активности (например, АТФ-азной), сопряженной с транспортом, а также уровень этой активности определяются специализацией данной мембраны (Финеан и др., 1977).

Мембраны 4 типа – это мембраны, содержащие поры.

Определенный прогресс в понимании, какой может быть организация трансмембранных каналов, связан с изучением «антибиотиков-каналообразователей». К ним относятся грамицидин А, амфотерицин В и аламетицин.

Пространственное строение грамицидина А хорошо согласуется с его способностью быть каналообразователем. Две молекулы грамицидина в конформации π_{LD} образуют своеобразный полый цилиндр. Такие каналы являются селективными порами с радиусом Стокса-Энштейна порядка 0,4 нм, которые в силу своих размеров оказываются проницаемыми для воды, ионов одновалентных металлов и небольших нейтральных молекул типа глюкозы (Овчинников, 1987). Ионы Cl^- не способны транспортироваться через грамицидиновый канал и не способны блокировать его, хотя этот анион достаточно мал. Поэтому можно сказать, что грамицидиновый канал является «катион селективным», его проницаемость для катионов металлов убывает в следующем ряду:



Антибиотики-каналообразователи оказались удобной моделью для изучения процессов транспорта, однако в природных мембранах эту задачу образования пор выполняют белки. По-видимому, все белки, участвующие в процессах транспорта, какого бы рода они ни были, являются олигомерами (по меньшей мере, димерами), которые, образно говоря, образуют канал и работают по типу «захват-отдача» (Зенгбуш, 1982).

Ионные каналы никогда не работают совместно с источником энергии, т.е. осуществляемый ими транспорт всегда пассивный. Проходя по порам, ионы теряют большинство или все ассоциированные с ними молекулы воды. Другой особенностью, отличающей ионные каналы от простых пор, заполненных водой, является то, что они открыты не все время. Каналы имеют «ворота», которые открываются на короткое время, а затем закрываются.

В большинстве случаев «ворота» открываются в ответ на специфическое возбуждение мембраны. В зависимости от характера возбуждения мембраны, каналы разделяют на «потенциал-зависимые воротные каналы», механически открываемые каналы – «лиганд-зависимые воротные каналы». Сигнальными лигандами могут служить либо внеклеточные посредники – нейротрансмиттеры, либо внутриклеточные посредники – ионы, нуклеотиды, GTP-связывающие регуляторные белки. На сегодняшний день известно около 50 видов ионных каналов (Албертс и др., 1994).

По мере возрастания молекулярного веса в гомологичных рядах снижается способность молекул проникать через поры и усиливается способность растворяться в мембранах. Такие мембраны отмечены для клеток капилляров млекопитающих и для клеток паренхимы почек.

Для понимания эволюционных приспособлений, позволяющих осуществлять метаморфозы мембран, интересно изучить действие бактериальных токсинов, которые высвобождают в цитоплазму эукариотической клетки ферменты, разрушающие ее. Рассмотрим действие токсинов на примере дифтерийного токсина. Этот токсин представляет собой одиночный полипептид, синтезируемый бактерией. Он связывается с рецепторами определенных клеток и образует в мембране клетки канал, размер которого достаточен, чтобы прошел сегмент токсина, обладающий ферментативной активностью. Подобными свойствами обладают токсины столбняка, ботулизма и холеры (Генвис, 1997).

Безусловно, у разных клеток наружные мембраны представляют собой подчас сложную мозаику из различного типа мембран, что определяется функциями клетки и особенностями ее метаболизма, например, то, что плазмалемма участвует в рециклировании мембран.

Подводя итог вышесказанному, можно добавить, что все функции мембран-барьерная, транспортная, осмотическая, энергетическая, рецепторно-регуляторная и др. – одновременно являются и различными сторонами механизма регуляции внутриклеточного обмена веществ.

ГЛАВА 7

ТОКСИЧНОСТЬ И СТРОЕНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Генетические и биохимические механизмы поддержания гомеостаза у живых клеток очень древние. Уже у прокариотических клеток в геноме содержится тысячелетиями отшлифованная информация, позволяющая им справляться с повреждающими факторами окружающей среды. Поэтому успех влияния на патологические организмы связан в первую очередь, с пониманием механизмов избирательной токсичности. Однако дальнейшие достижения в этом направлении возможны только при раскрытии закономерных связей между структурой соединения и их биологической активностью.

Биологическая активность соединений зависит от двух процессов:

- вещество должно быть транспортировано от места введения до места действия;
- вещество должно связаться или среагировать с рецептором или мишенью.

Чем меньше известно о связи между структурой и транспортом соединения, тем труднее предсказать биологический ответ. Для многих токсикантов известны пути и механизмы их транспорта к «органу-мишени».

Ранее мы отметили, что путей попадания в организм три: через дыхательный тракт, при вдыхании загрязненного воздуха; через желудочно-кишечный тракт, при приеме пищи и напитков; через кожу при перкурантном проникновении. После абсорбции через любое отверстие организма токсикант поступает в кровь и лимфу. Большинство ядов в крови существует частично в свободном состоянии, а частично – в связанном с эритроцитами. Несмотря на то, что сегодня многое известно о ядах, остаются факты, не позволяющие разработать общую теорию отравления. Например, ионы тяжелых металлов переносятся эритроцитами; так переносятся мышьяк, цезий, свинец, натрий и пятивалентный хром, однако трехвалентный хром переносится белками плазмы.

Почему и как в эволюции возник такой избирательный транспорт, каковы механизмы избирательности? Для многих веществ это до сих пор остается невыясненным. Возможно, транспорт ксенобиотиков определяется их структурой и некоторыми физико-химическими свойствами, что в конечном итоге и определяет их биологическую активность.

Баренбойм Г.М. и Маленков А.Г. (1986) выделяют несколько структурных показателей ксенобиотика, которые будут влиять на биологическую активность последнего:

- топологические, не изменяющиеся при деформации молекулы;
- топографические, отражающие пространственные соотношения между отдельными компонентами молекулы;
- химические, которые проявляются при превращении молекулы с изменением элементарного состава или числа и типа связей в химическом соединении;
- квантово-химические, характеризующие электронную структуру молекулы;
- физические, которые характеризуют свойства молекулы (температура кипения и плавления, поглощение и рассеивание света, молекулярный объем и т.п.);
- физико-химические, проявляющиеся только при взаимодействии молекул данного вещества с молекулами другого вещества, не приводящем к изменению его элементарного состава или типа и числа связей (растворимость, гидратация и др.).

Рассмотрим последовательно исследования, позволяющие понять роль некоторых свойств ксенобиотиков в развитии токсического ответа. Развитие компьютерных технологий позволило не только быстро строить топологически верное изображение молекул ксенобиотиков, но и рассчитывать их физико-химические свойства: молекулярную массу, молекулярный объем, общую энергию молекулы, величины энергии гидратации, суммарного дипольного момента, липофильности и т.д.

В последние годы появилось много данных, свидетельствующих о том, что скорость абсорбции молекул действующего вещества, его способность входить в контакт с мембранными рецепторами или растворяться в мембранах определяется его молекулярной массой и молекулярным объемом.

Анализируя *токсический эффект и молекулярную массу токсиканта*, выявили зависимость следующего рода – чем выше молекулярная масса органического токсиканта, тем выше его токсичность. Так, добавление каждой новой метиленовой группы ($-CH_2-$) в молекулу углеводорода способствует возрастанию сил электростатического притяжения между токсикантом и рецептором. Возрастание молекулярной массы спиртов от этилового до амилового делает последний в 20 раз токсичнее этилового спирта. Было показано, что увеличение углеродной цепочки кетонов, альдегидов и органических кислот усиливает их раздражающее действие на слизистые оболочки млекопитающих и способность вызывать отек тканей (Оксенгендлер, 1991).

Ряд исследований в локальных тестах на лимфоузлах показал, что существует линейная зависимость между *молекулярным объемом и токсичностью* в ряду бромалканов (Basketter et.al., 1992). Однако линейная зависимость, выявленная авторами, наблюдалась в небольшом ряду алканов – 1бромнонан – 1бромоктадекан.

Линейная зависимость между токсичностью и числом атомов углерода до девяти обнаружена у органических сульфидов, однако, начиная с десяти, эта зависимость уменьшалась (Оксенгендлер, 1991).

Были обнаружены и иные корреляции, так, выявлена отрицательная корреляция между величиной молекулярного объема и раздражимостью кожи человека (Potts, Guy, 1992).

По-видимому, для многих соединений трудно ожидать положительную линейную корреляцию между молекулярным весом и токсичностью. Так, воздействие на *Staphylococcus aureus* сульфурильными производными имидазола разного молекулярного веса выявило отрицательную корреляцию между молекулярным весом и способностью имидазolidов ингибировать рост колоний (Селезнева и др., 2004).

Возможно, молекулярный вес и объем для сложных органических соединений, имеющих структурное сходство с природными соединениями, отражает не столько абсорбцию вообще, а скорее, контакт со специфическими мембранными рецепторами. Доказательством этого предположения служат исследования токсичности индола, бензимидазола и их производных для *Staphylococcus aureus*. Было показано, что в развитии токсического ответа большее значение принадлежит структуре соединения, а не их молекулярному весу. Так, метилированные производные индола и бензимидазола были токсичнее для *Staphylococcus aureus*, чем индол и бензимидазол, а для *Escherichia coli* наблюдалась обратная зависимость (Милкин и др., 2004).

При исследовании токсичности некоторых сульфурильных производных триазола было обнаружено, что с ростом молекулярного веса растет их способность ингибировать прорастание семян *Allium cepa* (Белоусова и др., 2004), однако такой зависимости не было обнаружено при анализе влияния аналогичных производных индола на прорастание семян *Allium cepa* (Белоусова, Селезнева, 2004).

Для органических соединений еще более сложного строения, типа адамантана и его производных, не было выявлено корреляции между молекулярным весом и токсичностью для имаго дрозофилы (Шутова, 2006); между тем для инфузорий выявлена слабая корреляция между токсичностью тех же адамантанов и их молекулярным весом (Шутова и др., 2005). Отсутствие линейной корреляции между токсичностью и молекулярным весом говорит о том, что на способности веществ сорбироваться на поверхности мембран оказывают влияние и другие физико-химические свойства. Нарастание молекулярной массы вызывает ряд изменений таких показателей, как величина суммарного дипольного момента, энергия гидратации, коэффициента проницаемости и липофильности. Кроме того, безусловно, объемные молекулы, включающие большое число функциональных групп, усиливают стерический фактор в процессе контакта молекулы ксенобиотика с мембранными рецепторами.

Проблема поиска значимости физико-химических параметров разрабатывается в различных направлениях, однако часто модели зависимости являются механистическими, так как большинство исследователей (см. обзоры Оксенгендлер, 1991; Barrat, 2000) не учитывают особенностей взаимодействия организма с химическими компонентами среды обитания, сложившихся в процессе эволюции. Тем не менее, такой подход возможен, но имеет свои ограничения, с которыми и сталкиваются исследователи (Barrat, 2000). Сегодня существуют базы данных по определению биологической активности на основании физико-химических свойств. Они строятся по трем принципам:

- оценка токсичности по одному точно известному физико-химическому механизму для большого числа хорошо известных химических соединений;
- оценка общей токсичности для гомологов без знания точного механизма воздействия;
- оценка токсичности для негомологов, при использовании знания токсического воздействия некоторых химических групп (Barrat, 2000).

На основании этих принципов построены несколько экспериментальных компьютерных баз данных, которыми успешно пользуются в последнее десятилетие фармакологи, к ним относятся QSAR и NNA (Barrat, 2000). Особый интерес представляет собой программа DEREK, содержащая в себе химическую базу данных, состоящую из описания молекулярных структур, называемых «структурами опасности», которые коррелируют со специфическим токсическим ответом (Barrat, 2000). Однако при огромном количестве проанализированных соединений многие предсказания имеют низкую валидность, иногда не подтверждающуюся в эксперименте, что связано, как правило, с морфологическими и биохимическими особенностями различных тест-объектов. Так, Flynn (по Barrat, 2000) проанализировал у 97 химических соединений в тестах *in vitro* на человеческой коже с помощью регрессионного анализа значимость таких физико-химических параметров, как *липофильность, молекулярный объем, температура плавления*, и обнаружил, что зависимость токсичности от перечисленных

параметров падала в исследованном ряду. Кроме того, он выявил высокую значимость таких параметров, как $\log K_p$ (коэффициент проницаемости, которая для кожи увеличивалась линейно с увеличением липофильности ($\log P$ в системе «октанол : вода»). Было обнаружено, что если анализируемые низкомолекулярные по весу соединения ковалентно связывались с белками кожи, то их проницаемость уменьшалась, а токсическое воздействие на кожу увеличивалось (Barrat, 2000).

При исследовании токсичности 3-4-х замещенных фенолбензоатов степень тотальной эритемы (размер покрасневшего участка кожи) в тестах при однократной инъекции («адьювант-тест», когда вещество смешивается с нейтральным красителем) положительно коррелировала с липофильностью и отрицательно – с молекулярным объемом (Barrat et.al., 1994).

Была установлена корреляция между способностью соединений образовывать ковалентные связи (химическая реактивность) с белками кожи и их способностью сенсibilизировать кожу. Однако впоследствии оказалось, что химическая реактивность становится величиной постоянной для всех линейных первичных бромалканов, начиная с C_2 , а сенсibilизация кожи к бромалканам прямо коррелирует с липофильностью, но начиная с C_{10} корреляция становится нелинейной, причиной этого является тот факт, что величина $\log K_p$ не увеличивается без конца с увеличением липофильности. Очень высокие значения $\log P$ для химических веществ с высокой октанольной растворимостью и низкой водной растворимостью приводят к тому, что соединения растворяются в липидах мембран, но не могут перемещаться в водной фазе. Таким образом, когда $\log P$ увеличивается, $\log K_p$ достигает максимума и затем начинает уменьшаться (Basketter et.al., 1992). Также для паразамещенных фенолов обнаружена низкая взаимосвязь между липофильностью и проницаемостью в тестах с использованием кожи лысых мышей (Hinz et.al., 1991).

При исследовании антибактериальной активности липофильных соединений, таких как N,N' -тиокарбонил- и N,N' -сульфурилдиазолы,

была выявлена положительная корреляция между молекулярным объемом и способностью ингибировать рост *Staphylococcus aureus* и не выявлена корреляция с липофильностью (Белоусова, Селезнева, 2007).

Анализируя свойства соединений вызывать изъязвления кожи в тестах с 4-часовым воздействием, обнаружено, что такими свойствами обладают органические и неорганические кислоты, фенолы и некоторые электрофилы. Изъязвление кожи является результатом способности веществ проникать в кожу и вызывать клеточную гибель, то есть проявлять цитотоксичность. Оказалось, что органические кислоты с низкой липофильностью и очень большим молекулярным объемом или с высокой температурой плавления не способны вызвать изъязвление кожи, например, оксолиновая кислота. Однако алифатические карбонильные кислоты с короткой углеродной цепью, такие, как гексановая кислота, являются слабыми кислотами, но вызывают сильное изъязвление кожи (Barrat, 2000).

В последние годы исследователи серьезно заинтересовались связью между *токсичностью и величиной суммарного дипольного момента*. Это связано с тем, что некоторые нейтральные низкомолекулярные органические вещества могут модулировать электрический разряд и, таким образом, менять ионную проницаемость фосфолипидных мембран (Johnson, Bangham, 1969; Cherry et.al., 1970), что происходит из-за изменений диэлектрической константы мембран и связано с дипольным моментом проходящего вещества. Дипольный момент возникает в органических молекулах вследствие неравномерного распределения плотности заряда.

Для того чтобы воздействовать на электрические свойства мембран, ксенобиотик должен быть способен изменять гидрофильно-гидрофобные свойства мембран, что позволяет ему растворяться в определенных участках мембран. Следовательно, дипольный момент молекул является одним из параметров, влияющих на биологическую активность соединений, как вышеназванные параметры – молекулярный объем, липофильность и т.д.

Так, была выявлена положительная корреляция между антибактериальной активностью N,N'-тиокарбонил- и N,N'-сульфурилдиазолов и величиной их дипольного момента (Белоусова, Селезнева, 2007). Для некоторых сульфурильных производных бензимидазола и бензотриазола выявлена отрицательная корреляция между величиной их дипольного момента и токсичностью для растений (*Allium cepa*) (Селезнева, 2007).

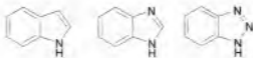
В многофакторном эксперименте была выявлена высокая корреляция величины дипольного момента и $\log P$ у 46 соединений, вызывающих глазные нарушения. Исключение составил метилацетат, так как его повреждающее действие происходило из-за метаболизма, в результате которого он превращался в формальдегид, являющийся высокоактивным химическим веществом. Повреждающее действие, возникающее в результате подобного рода метаболизма, не может быть объяснено гипотезой нарушения мембранного потенциала. Корреляция подобного рода между липофильностью и величиной дипольного момента была обнаружена у алифатических спиртов, вызывающих повреждение глаз (Barrat, 2000).

Итак, проанализированные физико-химические параметры не дают возможности создания однозначного прогноза в отношении биологического ответа, вызываемого ими, так как токсический ответ формируется и зависит от:

- концентрации соединения;
- метаболизма ксенобиотика;
- избирательности контакта со специфическими мембранными рецепторами;
- состояния тест-системы.

Очень часто избирательность действия определяется не всей молекулой, а ее реакционно-активной частью, содержащей активные химические группы в строго определенном пространственном положении; кроме того, немаловажную роль играет pH среды, растворитель, т.к. вещества в различных растворителях проявляют различную

токсичность. Так, исследование гетероциклических азолов, таких, как индол, бензимидазол и бензотриазол



индол бензимидазол бензотриазол

показало, что они в водных растворах и в спиртовом растворе (100% изопропиловый спирт) в концентрации 0,001 мг/мл высокотоксичны для *Staphylococcus aureus*. Однако они резко теряют свою токсичность в 96° этаноле. Здесь мы сталкиваемся с особым метаболизмом, когда исследованные токсиканты использовались как протекторы, позволяющие бактериям справиться с токсическим действием этанола (Селезнева и др., 2003).

По-видимому, важную роль в развитии токсического ответа играет информация. С одной стороны, это эволюционная информация, зафиксированная генетически и выражающаяся в способности узнавать ксенобиотик и метаболизировать его, с другой стороны; это информация, заключенная в строении самого соединения, так называемая «структурная информация» (Брехман, Кубланов, 1983).

Местоположение активных групп, центров (*дескрипторов*), расстояние между ними обеспечивает взаимодействие молекул с рецептором.

Молекулярная сложность и биологическая активность ксенобиотика определяется числом дескрипторов его молекулы, которые участвуют в фиксации вещества на рецепторной структуре. Брехман и Кубланов (1983) предлагают учитывать несколько факторов:

- цикличность или линейность молекулы;
- дескрипторы положения (как близко располагаются, радикалы на концах молекулы), обеспечивающие высокую степень конгруэнтности при фиксации соединения на поверхности рецептора.

Так, высокоэффективное воздействие холиномиметиков, веществ, взаимодействующих с холинорецепторами и являющихся эфирами аминоспиртов и органических кислот, определяется расстояни-

ем между четвертичной аминогруппой и эфирной связью (оно должно точно соответствовать двум углеродным атомам). Если это расстояние меньше, то соединение теряет активность. Увеличение расстояния между азотом и эфирной связью позволяет соединению взаимодействовать с анионным центром рецептора, но соединение приобретает ингибирующие свойства (Маркова и др., 1979).

Отражением связи между положением дескрипторов в молекуле и активностью является то, что *планарные соединения*, как правило, обладают большей биологической активностью, чем их непланарные аналоги. В планарных соединениях положение высокоэффективных групп жестко зафиксировано, и, следовательно, взаимодействие планарных соединений с мембранными рецепторами более эффективно, что выражается в их большей биологической активности, например, в токсичности.

Так, исследование связи между планарностью и антибактериальной активностью для *Staphylococcus aureus* у N,N'-тиокарбонил- и N,N'-сульфурилдиазолов: N,N'-тиокарбонилдимидазола ((Im)₂CS), N,N'-тиокарбонилдитридазола ((Tr)₂CS), N,N'-тиокарбонилдибензимидазола ((BzIm)₂CS), N,N'-тиокарбонилдибензотриазола ((BzTr)₂CS), N,N'-сульфурилдимидазола ((Im)₂SO₂), N,N'-сульфурилдитриазола ((Tr)₂SO₂), N,N'-сульфурилдибензимидазола ((BzIm)₂SO₂), N,N'-сульфурилдибензотриазола ((BzTr)₂SO₂) – показало, что тиокарбонильные производные достоверно токсичнее их сульфурильных аналогов.

Проведенный полный двухфакторный дисперсионный анализ показал, что антибактериальная активность исследуемых соединений достоверно ($p < 0,05$) убывает в следующих рядах:



Построив с помощью программы «HyperChem» пространственные модели анализируемых азолов, авторы обнаружили, что все тиокарбонильные производные представляют собой планарные структу-

ры, как и их исходные азолы, в то время как сульфурильные производные потеряли эту планарность. На рис. 15 в качестве примера обнаруженной зависимости представлены структуры: N,N' -тиокарбонилдибензотриазола, N,N' -сульфурилдибензотриазола.

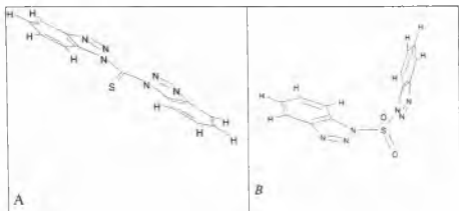


Рис. 15. Структуры диазолов. А – N,N' -тиокарбонилдибензотриазола, В – N,N' -сульфурилдибензотриазола

Часто введение высокоактивной группы изменяет физико-химические параметры молекулы так, что она становится не только более высокотоксичной, но и токсичной избирательно. Было показано, что для повышения антибактериальной активности 2,4-диаминопиримидинов необходимо, чтобы в объемный липофильный заместитель входила гидрофильная группа. Лучшим соединением такого рода явился триметоприм. Этот препарат подавлял ДГФР (дегидрофалатредуктазу) грамположительных и грамотрицательных бактерий, оставляя неповрежденными ферменты млекопитающих. Открытие этого эффективного препарата явилось результатом предварительного прогноза, так как это соединение в расчетах показало коэффициент проницаемости (ρK_p) приблизительно равным 7 – 8, что говорит о его эффективности при прохождении через клеточную мембрану (Альберт, 1989b).

Введение в молекулы галоидов дополнительных атомов Cl, F, J усиливает их растворимость в воде и их токсичность. На свойства вещества оказывают влияние тип атома галоида и его местоположение в молекуле, а также число атомов, введенных в молекулу.

Так, токсичность простых углеводородов растет в следующем ряду: $\text{CH}_4 < \text{CHCl}_3 < \text{CCl}_4$. Токсичность возрастает при введении в молекулу углеводорода следующих галоидов: $\text{J} < \text{Cl} < \text{F}$. Это связано с тем, что растет энергия связей: $\text{C-J} < \text{C-Br} < \text{C-Cl} < \text{C-F}$ (Корбакова, Тимофеевская, 1967).

Токсичность многих известных ксенобиотиков, включающих фтор, зависит от метаболизма ксенобиотика. При анализе токсичности эфиров фторкарбоновой кислоты $\text{F-(CH}_2)_n\text{-COO-C}_2\text{H}_5$ оказалось, если n – нечетное число, то соединение ядовито, а если четное, то неядовито. Это связано с тем, что при метаболизме соединения с n -четным числом процесс окисления идет до нетоксичной β -фторпропионовой кислоты, а если n -нечетное число, то образуется высокотоксичная фторуксусная кислота (Сондерс, 1961).

Токсичность молекул углеводорода, куда введена сера, зависит от валентности атома серы. Благодаря этому были созданы соединения с избирательной токсичностью. Так, если в молекуле сернистого иприта сера двухвалентная, то в сульфамидных препаратах, например, норсульфазоле и др. (Машковский, 1994b), сера шестивалентна. Однако сера, входящая в тиоловые группы, сообщает веществам, содержащим эти группы, радиопротекторные свойства, например, цистамину.

Что касается катионов тяжелых металлов, то они превращают соединения в высокотоксичные. Анионы солей тяжелых металлов могут также принимать участие в развитии токсического ответа – это анионы NO_2^- , F^- , AsO_4^{3-} , CN^- , AsO_2^- , однако было показано, что для растений анионы Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- не участвуют в развитии токсического ответа (Амосова и др., 2002).

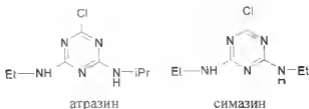
Биологическая активность многих сложных соединений меняется от введения в их структуру таких высокофункциональных групп, как $-\text{NH}_2$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CH}_3$. Активность этих групп сильно зависит от того,

как они присоединены (например, через атом N, C, O) и в каком количестве.

У растений обработка семян *Allium cepa* низкими концентрациями (0,005 мг/мл) адамантана слабо стимулировала их всхожесть, использование аминоксанта в той же концентрации вызывало ингибирование прорастания семян. Аминоксанта также подавлял прорастание семян и кресс-салата в этой же концентрации, в то время как адамантан не влиял на прорастание семян этого растения (Шутова, Артамонова, 2002). Аминоксанта оказался токсичнее, чем адамантан, и в тестах с использованием имаго *Drosophila melanogaster* (Шутова, 2004).

Введение NO₂- группы в диимидазол усиливало его токсичность для личинок дрозофилы по сравнению с токсичностью чистого диимидазола (Селезнева и др., 2003).

Растворимость ряда сульфамидопиримидиновых препаратов при введении метильной группы резко повышается. Введение метильной группы в триазиновые гербициды также резко увеличивает их растворимость, вместе с этим возрастает их токсичность; так, атразин более ядовит, чем симазин



Изменение биологической активности при введении метильной группы отмечено для многих высокоактивных веществ; так, можно усилить действие кортикостероидов и стероидных половых гормонов введением в их молекулы метильной группы.

Изменение свойств молекул вследствие введения метильной группы связано с тем, что -CH₃ – один из немногочисленных заместителей, всегда проявляющий электродонорные свойства, как по индуктивному механизму, так и за счет сопряжения. Метильная группа,

связанная с углеродом или с атомом азота, повышает основность, но такие изменения основности невелики и не превышают единицы рК (Альберт, 1989а). В экспериментах, где в качестве тест-систем для анализа токсичности были выбраны бычьи сперматозоиды и имаго дрозофилы, было показано, что С-метилимидазол менее токсичен, чем N-метилимидазол (Селезнева, Белоусова, Калужная, 1998).

У ароматических азотосодержащих гетероциклов, например, у пиридина, замещение атома водорода в группе —ОН, —NH₂ или —СО-NH на метильную группу резко повышает растворимость в воде. Однако заместители, способные образовывать водородные связи, например, —NH₂, уменьшают растворимость таких соединений в воде из-за образования водородных связей с высокополярным атомом азота гетероцикла, так как сила взаимодействия между молекулами таких соединений больше, чем их сила взаимодействия с молекулами воды. В результате увеличивается энергия кристаллической решетки и вещество выпадает в осадок. Это явление редко встречается у ациклических соединений. Влияние метильной группы на растворимость гетероциклических соединений — следствие способности этой группы нарушать образование ассоциатов, связанных водородной связью, а не прямой эффект ее электронного влияния (Альберт, 1989а).

Возможно, поэтому исследование цитотоксичности для лимфоцитов периферической крови человека некоторых бензимидазолидов (N-метилбензимидазола, 5,6-диметилбензимидазола, N-бензимидазолида метансульфонокислоты, 5,6-диметил-N-бензимидазолида метансульфонокислоты) выявило следующее: чем больше метильных групп введено в бензимидазолид, тем менее он токсичен ($p < 0,01$) (Селезнева, 2008).

Таким образом, характерные свойства токсикантов часто определяются химическими особенностями отдельных группировок и атомов, в то же время основные в структурном отношении части их молекул могут оказаться биологически инертными.

На биологическую активность оказывает влияние стерическое соответствие ксенобиотиков рецепторам мембран. Именно простран-

ственная структура обуславливает поддержание заданных параметров фиксации и прохождения биологически активных веществ через мембранные структуры.

Мембранные рецепторы возникли и шлифовались в процессе эволюции длительное время. Возникла определенная упорядоченность в соответствии «рецептор – действующее вещество». И существовали, по-видимому, критерии, которые легли в основу этого соответствия:

- принцип многофункциональности;
- принцип экономности;
- принцип функциональной избирательности.

В эволюции форму нельзя отделить от функции, так как форма определяет функцию, а от функции зависит форма (Лима-де-Фариа, 1991).

Функция рецептора и вещества, взаимодействующего с ним, осуществляется в результате специфического и согласованного взаимодействия между этими молекулами. Сама согласованность взаимодействия не может быть объяснена результатом случайных совпадений, поддерживаемых естественным отбором. На молекулярном уровне многие взаимодействия предетерминированы самим строением молекул, о чем, в сущности, писал в свое время Берг (1977). Безусловно, такого типа взаимодействия могли в процессе эволюции стать основой возникновения новых функций, и в этом смысле возникшая в процессе эволюции химическая коммуникация, которая легла в основу межклеточных взаимодействий, впоследствии под действием факторов окружающей среды могла модифицироваться. В этом плане естественный отбор направлен на усиление роли «экологического взаимодействия» между молекулой индуктора и молекулой-мишенью. Это привело к тому, что возникший в процессе эволюции гомеостаз внутренней среды, с одной стороны, канализировал клеточный метаболизм, но и ограничил пластичность, с другой стороны, в результате чего возможен негативный ответ при взаимодействии на «мишень-рецептор» топологического аналога специфического метаболита.

Те организмы, которые в той или иной мере могли избегать токсиканта, были канализированы более жестко, чем те, которые были

неподвижны и выживание которых зависело только от пластичности метаболизма. Это можно отнести и к животным, и к растениям. Тем не менее, необходимо помнить, что адаптации никогда не бывают оптимальными и полными, именно поэтому часто токсический ответ возникает при действии на организм топологического аналога биологически активного соединения. Одним из основных следствий, вытекающих из последнего положения, является то, что стереохимическая специфичность – одно из основных свойств живого.

В химии существует несколько типов изомерий:

- оптическая изомерия;
- геометрическая изомерия;
- конформационная изомерия.

Оптическая изомерия возникает в том случае, когда в молекуле имеется хиральный центр или молекула в целом является хиральной (Кольман, Рем, 2000).

Наиболее частой причиной оптической изомерии является присутствие асимметричного атома углерода, т.е. атома с четырьмя различными заместителями. В этом случае возникали энантиомеры с различной конфигурацией, чаще всего они носят название L- и D-формы. Основное различие между ними состоит в том, что они вращают плоскость поляризованного света в противоположных направлениях. Например, аминокислоты зукариот являются L-аминокислотами. D-аминокислоты встречаются очень редко, их обнаружили в стенках некоторых бактерий, и они входят в состав муреинов. Животные не в состоянии использовать белки, построенные из D-аминокислот.

Своеобразие метаболизма приводит к тому, что L- и D-изомеры одного и того же соединения по-разному действуют на живые системы. L-изомеры, как правило, более активны, чем D-изомеры. У препаратов адреномимического действия такое различие может составлять от 45 до 1000 раз (Глоиков и др., 1973).

Геометрическая изомерия наблюдается у соединений с двойной связью или же у соединений, включающих циклическую (в частности, полиметиленовую) систему. Изомеры такого типа называются цис-

трансизомерами. Цистрансизомеры различаются по физическим и химическим свойствам, например, они имеют различные температуры плавления и константы диссоциации.

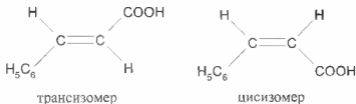
Цистрансизомерия важна в метаболизме липидов. Так, заместители при двойных связях в природных жирных кислотах всегда находятся в цис-положении. Напротив, ненасыщенные интермедиаты при β -окислении занимают транс-положение. Это обстоятельство усложняет расщепление ненасыщенных жирных кислот (Кольман, Рем, 2000).

Малеиновая кислота (цисизомер) и фумаровая кислота (трансизомер) являются геометрическими изомерами.



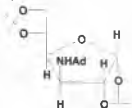
Малеиновая кислота химически более активна и токсична, чем фумаровая.

Цисизомер коричной кислоты – весьма эффективный фитотоксин, трансизомер такой биологической активностью не обладает (Оксенгендлер, 1991).

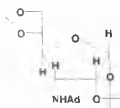


Исследуя токсичность аминокрамантанов для *Drosophila melanogaster*, которые являются цистрансизомерами: 3-(N-адамантиламино)-3 дезокси-1,2,5,6-ди-O-изопропилиденксилофураноза и 3-(N-адамантиламино)-3 дезокси-1,2,5,6-ди-O-изопропилиденаллофураноза было обнаружено, что одно вещество на порядок токсичнее другого. Эти различия еще сильнее выражены при действии веществ на прорастание семян лука (*Allium cepa*), так как цисизомер в концентрации

0,005 мг/мл стимулирует, а трансизомер ингибирует всхожесть (Шутова, 2006).



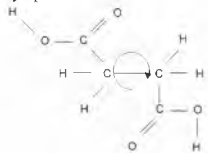
3-(N-адамантил-амино)-3-
дезоксид-1,2,5,6-ди-О-
изопротилиденксилофураноза



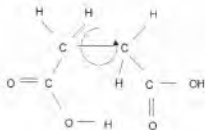
3-(N-адамантил-амино)-3-
дезоксид-1,2,5,6-ди-О-
изопротилиденаллофураноза

Конформационная (поворотная) изомерия – это изомерия, отражающая пространственное расположение атомов относительно оси или связи, соединяющей два соседних атома в молекуле. В результате вращения таких атомов или структур возможно образование лабильных структур – конформаций. Такие соединения носят название конформеров. Например, янтарная кислота может находиться в двух конформациях.

Возможно существование в обеих формах, но конформация 1 из-за сильного отталкивания двух COOH-групп является предпочтительной и поэтому встречается чаще. Макромолекулы, такие, как белки и нуклеиновые кислоты, имеют стабилизированные внутримолекулярными взаимодействиями конформации (Кольман, Рем, 2000).



конформация 1



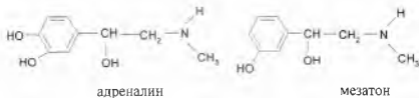
конформация 2

При образовании конформатов ферментов реакционная способность молекул выражено изменяется, когда необходима исключительно строгая комплементарность взаимодействующих рецепторных и ферментативных белков с ксенобиотиками, медиаторами, гормонами.

Способность ацетилхолина стимулировать один из двух видов холинорецепторов (мускариновых или никотиновых) определяется его нахождением в двух различных конформациях, а холинолитический эффект различных атропинподобных соединений определяется их конформационным сходством с медиатором-антагонистом (Голиков и др., 1973).

Возвращаясь к высказанным Лима де Фариа (1991) постулатам – «Форма определяет функцию, а от функции зависит форма» – можно отметить, что огромная роль в развитии биологического ответа принадлежит дуализму асимметрия-симметрия. Асимметрия порождает функцию, а симметрия исключает ее. Так, в осуществлении фотосинтеза асимметрия является обязательной предпосылкой функции. В активном центре имеются две спиральные структуры, расположенные симметрично по обе стороны центральной белковой молекулы. Однако при фотосинтезе электроны, несмотря на указанную симметрию, транспортируются только вдоль одной из этих спиралей (Лима-де-Фариа, 1991).

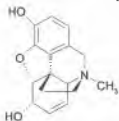
Отмеченное свойство живых систем является причиной того, что все ассиметричные соединения более биологически активны, чем их симметричные гомологи; это свойство широко используется фармакологами. Например, так был получен биологический аналог адреналина – мезатон.



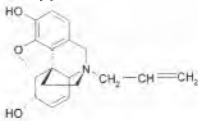
Мезатон отличается от адреналина одной гидроксильной группой, но именно это делает его устойчивым к действию желудочного

сока и создает возможность применять внутрь. И именно поэтому этот препарат действует более долго и более дифференцированно влияет на показатели кровяного давления, так как катехоламин-ортометилтрансфераза не способна использовать его как субстрат, ее субстратом является адреналин, который этот фермент инактивирует (Оксенгендлер, 1991).

Чем более выражена асимметрия, тем сильнее изменяется анализируемая биологическая активность. В качестве примера можно привести два соединения: морфин и налорфин.



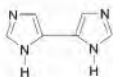
морфин



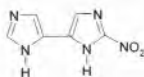
налорфин

Морфин – анальгетик с наркотическим действием, вызывающий нарушение самых различных функций. Большие дозы морфина вызывают интоксикацию, сопровождающуюся нарушением ритма сердца вплоть до развития коматозного состояния. Для снятия его токсического действия используют антидот налорфин, который является структурным аналогом морфина и имеет более выраженную асимметрию (Оксенгендлер, 1991).

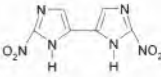
Анализ антибактериальной активности нитропроизводных диимидазола: 4,4'-нитро-2,2'-диимидазол и 4-нитро-2,2'-диимидазол, отличающихся по числу нитрогрупп, выявил, что асимметричное соединение (4,4'-нитро-2,2'-диимидазол) более сильно ингибирует рост *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, чем его симметричный аналог.



диимидазол



4-нитро-2,2'-диимидазол

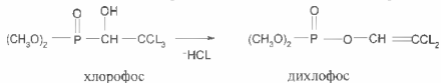


4,4'-нитро-2,2'-диимидазол

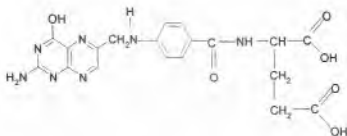
Анализ влияния исследуемых диимидазолов на личинок и имаго *Drosophila melanogaster* также выявил более высокую токсичность асимметричного производного диимидазола, которое проявило и более высокую токсичность в тестах с использованием *Allium cepa* (Селезнева и др., 2003).

По-видимому, асимметрия особо важна в канализированных процессах и в эволюции создавала более точное взаимодействие между молекулами природного биологически активного соединения и рецептором. Однако любая однажды отселектированная структура не является абсолютно адаптивной вследствие того, что адаптация – процесс динамический. Как только возникает более «асимметричная» и, следовательно, более «благоприятная» структура в результате изменений условий среды, система меняет параметры и становится неустойчивой. Вновь возникшая асимметрия усиливает канализацию, которая возвращает систему в исходное положение. Если системы гомеостаза «не срабатывают», то наблюдается летальный эффект.

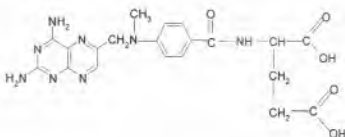
Возможно, поэтому одним из способов усиления токсичности в процессе метаболизма ксенобиотиков является усиление асимметрии. Сама асимметрия может достигаться различными путями, но, так или иначе, всегда изменяется топология. Например, асимметрия усиливается при метаболизме инсектицида хлорофоса в организме насекомых, возникающий дихлофос во много раз токсичнее хлорофоса.



Существует большое число структурных аналогов токсикантов, которые используют как высокоэффективные лекарственные препараты. Эти аналоги, пройдя метаболизм, превращаются в антиметаболиты – это вещества (структурные аналоги токсикантов), которые конкурируют с токсикантами за связь с мишенью. В качестве примера можно рассмотреть два антагониста – фолиевую кислоту и метотрексат (Овчинников, 1987).



фолиевая кислота



метотрексат

Фолиевая кислота необходима для клеточной пролиферации, для синтеза белков и нуклеиновых кислот. В медицине ее используют для стимуляции кроветворения. Антагонистом фолиевой кислоты является метотрексат, и поэтому последний используется как высокоэффективный цитостатик для химиотерапии злокачественных опухолей. Метотрексат тормозит активность фолатредуктазы, это нарушает превращение фолиевой кислоты в тетрагидрофолиевую кислоту, которая, в свою очередь, и участвует в синтезе нуклеиновых кислот. Однако применение метотрексата поражает и обычные клетки. Против токсического действия метотрексата можно использовать фолиевую кислоту.

Итак, подводя итог проведенному анализу, можно сказать следующее: биологическая активность как функция не может осуществляться без участия специфической структуры. Сама биологическая активность – энергозатрачиваемый процесс, в основе которого лежат глубокие молекулярные процессы, связанные энергетическими потоками между взаимодействующими структурами, которые создают каналлированность процесса. Вмешательство внешних факторов при-

водит к состоянию, когда возможно появление новой структуры. Возможно, в процессе эволюции такого рода взаимодействия приводили к эффективному закреплению энергетически выгодных событий «фермент-субстрат». Однако необходимо было закрепление таким образом, чтобы процесс стал автокаталитическим; но такой процесс был бы неуравновешенным, так как эта «квазисистема» была бы неустойчивой и требовала соединений, продолжающих реакции такого рода, когда возникший продукт взаимоотношений «фермент-субстрат» служил интермедиатом следующего катализа, тогда канализация была эффективно закреплена. Такая система становится равновесной только при появлении реакций (функций) обратной связи.

Однако, чтобы подобного рода системы могли самоорганизовываться, они должны были наследовать физические свойства, допускающие метаболизм, то есть превращение высокоэнергетических реагентов в бедные энергией продукты и самовоспроизведение с «шумом» (Эйген, Шустер, 1982).

ГЛАВА 8

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КСЕНОБИОТИКОВ И ИНДУЦИРУЕМЫЕ НИМИ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОТВЕТЫ, СВЯЗАННЫЕ С ИЗМЕНЕНИЕМ ИНФОРМАЦИИ

До недавнего времени все исследования, связанные с влиянием ксенобиотиков на процессы хранения и передачи генетической информации, проводились в рамках теории мутагенеза и генотоксикологии. Однако значительный прогресс в исследованиях биологии индивидуального развития позволил наметить некоторые возможности в понимании реализации информации на долгом пути «ген – признак».

Клетки, занявшие определенное местоположение в системе развивающегося зародыша, получают некую позиционную информацию, которая представляет собой соотношение различных белковых продуктов, неравномерно распределенных вдоль развивающегося зародыша, и как бы «обозначает судьбу» его частей. Градиенты веществ «морфогенов» активируют в различных клетках разные наборы генов, поэтому клетки приступают к выполнению программы детерминации и дифференцировки (Корочкин, 2002).

У эукариот дифференциальная экспрессия генов носит многоуровневый характер. Система генов, управляющих развитием, организована по иерархическому принципу (см. рис. 16).

Как видно из предложенной схемы, воздействие на онтогенез приводит к возможности появления различного рода патогенезов.

Клетки, которые под действием ксенобиотиков накопили различного рода повреждения ДНК, обычно сильно изменяются и уничтожаются клетками-киллерами иммунной системы или погибают сами. Огромную роль в поддержании гомеостаза играют межклеточные взаимодействия, обеспечиваемые четырьмя группами факторов, информация о которых также содержится в ДНК. Это – адгезивные молекулы, внеклеточный матрикс, растворимые медиаторы и онкогены. Кроме перечисленных факторов, в многоклеточных организмах гомеостаз поддерживается балансом между клеточной пролиферацией и апоптозом – запрограммированным «самоубийством» клеток.

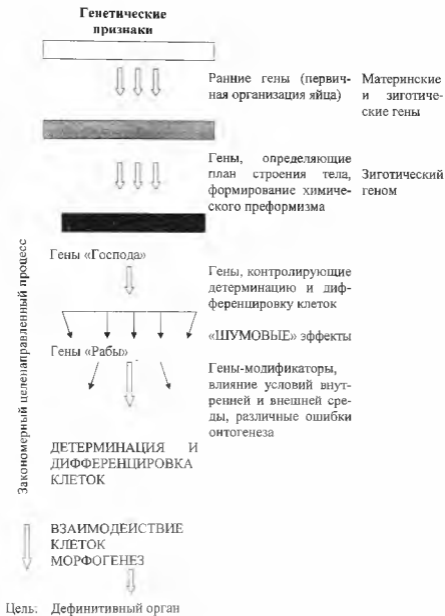


Рис. 16. Схема генетического контроля индивидуального развития на разных этапах (по Корочкину, 2002)

Нарушение на любом этапе эмбриогенеза может привести к самым различным последствиям. Эти нарушения связаны либо с изменением самого носителя информации, либо с изменением передачи и воспроизведения информации, что приводит к тератогенезу, канцерогенезу или мутагенезу.

Исследования последних десятилетий показали, что в основе многих патогенезов лежат различные информационные повреждения, особая роль среди них принадлежит нарушениям генетической информации. Как ранее мы показали, часто канцерогенез и тератогенез могут быть следствиями мутационного процесса, индуцированного ксенобиотиками.

Тератогенез мутационной природы известен давно. Многие дефекты развития у человека связаны с повреждением такого количества клеток, которое эмбрион не может компенсировать. Исследования тератогенеза показали, что многие пороки генетически детерминированы возникшими в геноме мутациями. Однако до сих пор понимание тератогенеза далеко от завершения, что связано с рядом проблем:

- высокая гетерогенность как в клиническом, так и в генетическом плане;
- относительная редкость нозологических форм (Перспективы, 1982).

Наиболее изученными оказались тератогенезы с нарушением числа или формы хромосом.

При анализе действия ксенобиотиков было обнаружено, что именно они являются причиной возникновения 30% врожденных пороков развития. Для этих пороков более или менее изучены механизмы возникновения:

- нарушение синтеза белков, участвующих в процессе репликации ДНК (так действуют антагонисты фолиевой кислоты);
- повреждение механизмов репарации за счет ингибирования ферментов репарации;
- нарушение структуры белков веретена деления (например, в результате действия колхицина и ему подобных соединений);

- вмешательство в метаболизм нуклеиновых кислот (как это способны делать афлатоксин, гидроксиламин и т.д.).

Ранние исследования экспериментального тератогенеза позволили понять, что тератогенный эффект связан с воздействием или на передачу, или на реализацию генетической информации. Огромную роль в развитии тератогенного эффекта играет структура соединения. Сопоставление особенностей тератогенного действия двух родственных соединений пуринового ряда показало зависимость этого эффекта от химического строения тератогена. Так, 6-тиогуанин и по эмбриотоксичности, и по тератогенности превосходит 6-меркаптопурин, в то время как 6-метилмеркаптопурин, 8-азогуанин, 2,6-диаминопурин, 6-хлорпуринрибозид, гуанин-7-оксид и 6-оксиаминопуринрибозидксантин-7-оксид проявляли эмбриотоксичность, но никогда – тератогенность. Анализ активности фторзамещенных пиримидинов показал, что их тератогенность сильно связана со структурными особенностями соединений, что определяло эффективность их вмешательства в процессы морфогенеза. Так, 5-фтордезоксцитидин менее токсичен, но более тератогенен по сравнению с 5-фторурацилом и 5-фтордеоксиуридином (Дыбан и др., 1977).

Не менее интересно ответить на вопрос, почему некоторые соединения обладают канцерогенностью. Безусловно, попытки ответить на это вопрос предпринимаются постоянно. Так, исследование двух групп ароматических азосоединений показало, что неканцерогены отличаются от канцерогенов наличием двух полярных сульфонатных групп, в то время как канцерогены имеют только одну (рис. 17) (Barrat, 2000). Это наблюдение очень сходно с результатами Ashby, Tennant (1988), в которых также показано, что ароматические азосоединения теряют канцерогенность, если есть сульфонатная группа на каждом ароматическом кольце.

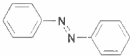
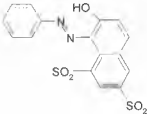
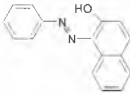
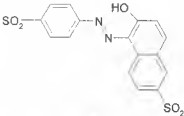
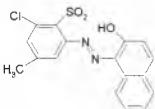
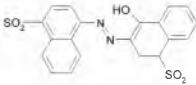
канцерогены	неканцерогены
<p style="text-align: center;">A</p> 	<p style="text-align: center;">D</p> 
<p style="text-align: center;">B</p> 	<p style="text-align: center;">E</p> 
<p style="text-align: center;">C</p> 	<p style="text-align: center;">F</p> 

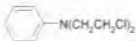
Рис. 17. Химические структуры и канцерогенность некоторых ароматических азосоединений (по Barakat, 2000)

Анализируя соединения, структуры которых приведены на рис. 17, Barakat (2000) показал, что химическое соединения «С» наиболее полярно, имеет сульфонатную группу, и поэтому доступно для биологических модификаций, в то время как канцерогены «А» и «В» не имеют этой группы, вследствие чего соединение «С» имеет наименьшую токсичность по сравнению с «А» и «В». Это подтверждается тем фактом, что опухоли у крыс, которым скармливали «С», сначала не были злокачественными. Среди неканцерогенов «F» более липофильно, чем «D» и «E», так как имеет большее число углеродных

атомов и, следовательно, более доступно биологической модификации. Проанализировав многочисленные исследования, Barrat (2000) предлагает проводить предварительный структурный анализ гомологов, считая, что это существенно сократит время мониторинговых исследований и число используемых животных.

Многие мутагены оказались канцерогенами. К ним относятся некоторые алкилирующие агенты, интеркаляторы и другие. Первичной мишенью для этих соединений является ДНК. Было доказано, что канцерогены способны образовывать ковалентные связи с ДНК. Обнаружили, что в клетках опухоли наблюдаются хромосомные aberrации различного типа, изменение генной экспрессии и т.п. (Гуляева и др., 1999).

В 1964 впервые было доказано, что полициклические углеводороды после серии метаболитических превращений связываются с нуклеиновыми кислотами, вызывая канцерогенез (Альберт, 1989b). Поэтому, анализируя корреляцию между физико-химическими свойствами соединений и их мутагенностью, можно косвенно выявить связь между этими параметрами и способностью ксенобиотиков индуцировать канцерогенез. Сразу необходимо оговориться, что существует серия соединений, у которых при усилении канцерогенных свойство ослабляются мутагенные и наоборот. Такова серия анилиновых ипритов (Альберт, 1989b).



Самым сильным мутагеном и самым слабым канцерогеном оказалось 4-феноксипроизводное, тогда как для 3,5'-диуреидо-аналога (-NH-CO-NH_2)₂ – было установлено противоположное.

Канцерогенной активностью обладают вещества с самым различным строением; кроме того, они различаются по механизмам действия. Некоторые канцерогены взаимодействуют с наследственным материалом, некоторые изменяют генетическую экспрессию. Известно, что канцерогены в процессе биотрансформации превращаются в сильные электрофилы или сами являются таковыми и способны взаимодействовать

вать с нуклеофильными участками биополимеров (ДНК, РНК, протеины и пептиды). Они, алкилируя экзоциклические атомы кислорода в гуанине и, в меньшей степени, атомы азота, вызывают ошибки репликации типа замены пары основания или сдвига рамки считывания. Этот факт частично объясняет явление видовой и тканеспецифичной чувствительности к канцерогенам (Гуляева и др., 1999).





По-видимому, структура ксенобиотика позволяет ему воздействовать на потоки информации, вызывая перерождение клеток в раковые; однако пока остается открытым вопрос о закономерностях такого воздействия.

Поиск связи между структурой соединения и его мутагенностью все еще продолжается. Работ в этом плане гораздо меньше, чем работ, посвященных анализу корреляций между токсичностью и физико-химическими свойствами соединений. Причины связаны с тем, что токсикология – более старая наука.

Исследования показали, что мутагенными свойствами обладают алкилирующие соединения, аналоги оснований ДНК, интеркаляторы, нитро- и нитрозосоединения. Обнаружение того факта, что мутагены по действию делятся на моно-, би- и полифункциональные агенты, выявило также, что монофункциональные агенты характеризуются как способностью индуцировать хроматидные разрывы, так и S-образной кривой зависимости между концентрацией мутагена и числом поврежденных метафаз в лимфоцитах периферической крови человека. Полифункциональные агенты способны индуцировать не только хромосомные разрывы, но и хромосомные обмены, для них существует экспоненциальная зависимость «доза-эффект» (Бочков, Чеботарев, 1984).

Анализ гомологов, отличающихся различными химическими группами, показал, что введение алкильных групп чаще всего повышает вероятность для данного соединения приобрести мутагенную активность.

Мы обнаружили, что метильные производные индола и бензимидазола индуцируют достоверно большее число хромосомных aberrаций в клетках корневой меристемы *Allium cepa*, чем их исходные бензолиды.

Название соединения	Индол	N-метилиндол	Бензимидазол	N-метил-бензимидазол
Структурная формула				
Число aberrантных ана-телофаз в %	22,64	34	17,58	20,58

(Примечание: число aberrантных ана-телофаз в контроле составило 4,96%)

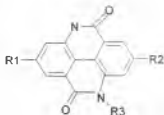
Введение метильной группы ($-CH_3$) в молекулу бенз-1,2-антрацена превращает его в канцероген. Однако анализ гомологов выявил, что канцерогенность сильно изменяется в зависимости от того, какой атом углерода оказался метилированным. Самыми сильными канцерогенами оказались вещества, содержащие метильные группы в 9-м и 10-м положениях, слабым канцерогеном – соединение, метилированное по 8-му атому углерода, и неканцерогенами – соединения, метилированные по 1', 2', 3', 4' положениям. Было выдвинуто предположение, что между 9 и 10 атомами углерода имеется наибольшая электронная плотность, и, как следствие этого, наибольшая химическая активность (Беджер, 1966).

Зависимость мутагенного ответа от положения метильной группы в кольце имидазола была показана в работе Селезневой с сотрудниками (1999). Так, при воздействии на имаго дрозофилы в течение суток C-метилимидазолом (C-melm) и N-метилимидазолом (N-melm) в дозе LD_{50} большую мутагенность проявил C- метилимидазол.

Вещество	Индукцированные доминантные летали в %	
	у самок	у самцов
C-melm	25,60 ± 4,94	38,60 ± 4,03
N-melm	7,20 ± 1,49	5,80 ± 3,56
контроль	1,80 ± 0,47	1,80 ± 0,47

Однако эти соединения в этой же дозе индуцировали равное число рецессивных летальных мутаций у самцов *Drosophila melanogaster* в стандартном тесте Меллер-5.

При исследовании диазапиренов было показано, что в мутагенной активности существенную роль играют химические группы: -ОН, -NH₂, -NO₂ (Абилев и др., 1992).



Диазапирен

Анализ мутагенной активности гетероциклических и ароматических соединений другими исследователями также обнаружил зависимость мутагенных свойств от места введения химически активных групп. Так, было показано уменьшение мутагенности 2,4-диаминоалкилбензолов с увеличением размера алкильной или алкоксильной группы в С₁ положение. Введение нитрогруппы в 5-е положение фуранозного кольца приводило к появлению мутагенных свойств (Shahin, 1987).

Была обнаружена прямая связь между мутагенной активностью и наличием заместителей (нитро- и карбоксильных групп) в *пара*-положении. Если в молекуле бифенила два ароматических кольца являются подвижными друг относительно друга и их вращение могут увеличивать заместители в *орто*-положении, сводя на нет влияние *пара*-нитрогрупп (как в молекулах 4,4'-динитро-2'-карбоксибифенила; 4,4'-динитро-2,2'-дикарбоксибифенила), то для молекул с конденсированными ароматическими кольцами влияние заместителей в других положениях на *пара*-нитрогруппы не настолько радикально (молекулы 2-нитрофлуоринон-5-карбоновой кислоты; 2,7-динитрофлуоренон-5-карбоновой кислоты; 5-амид-2,7-динитрофлуоренон-карбоновой кислоты; 2-нитрофлуоренон-5,7-дикарбоновой кислоты, 2,4-динитрофлуоренон-5,7-дикарбоновой кислоты являются активными мутагенами) (Абилев и др., 1993).

*Орто*заместители в молекуле бифенила приводили к усилению мутагенеза; таким эффектом обладают карбоксильные группы. Как в случае с нитрогруппами, это влияние не распространяется на тетра-нитрозамещенные производные бифенила (Баскин и др., 1993).

В молекулах ацетилпирена и ацетиламинопирена перенос ацетил- и нитрогруппы из *пара*-позиции в другую приводит к уменьшению мутагенной активности, причем чем дальше от *пара*-положения удаляются заместители, тем меньше наблюдается мутагенная активность. Для электронодонорной ацетиламино- и нитрогруппы характерны те же тенденции. Для гетероциклического аналога показано, что наличие нитрогрупп в *пара*-положении придает молекуле мутагенные свойства, в то же время две нитрогруппы в положениях 1 и 6 и даже четыре нитрогруппы в положениях 1, 3, 6, 8 не приводят к появлению мутагенной активности (Любимова и др., 1995; Баскин и др., 1994).

Авторы предположили, что введение заместителей в *пара*-положение в молекулах с конденсированными ароматическими кольцами может приводить к изменению конформации молекулы при сближении заместителей (*мета*- и *орто*-положения). Полученные авторами результаты хорошо согласуются с данными о том, что введение любых заместителей в 5' и 5 положение нафтофуранового кольца снижает мутагенную активность последнего (Debrath, Hanson, 1992).

Исследование мутагенной активности нитропроизводных диимидазола в тестах на *Drosophila melanogaster* показало, что симметричные соединения – 2,2'-диимидазол и его нитропроизводное 4,4'-нитро-2,2'-диимидазол – индуцируют больше доминантных летальных мутаций у имаго дрозофилы, чем несимметричное нитропроизводное – 4-нитро-2, 2'-диимидазол, как в дозе LD₅₀, так и в дозе, не являющейся токсичной для дрозофилы.



2, 2'-диимидазол

Однако при воздействии на личинок второго возраста в течение одного часа была выявлена иная зависимость. Максимальной мутагенной активностью обладало несимметричное нитропроизводное диимидазола.

Известно, что развитие мутагенного ответа зависит от способности организма репарировать повреждения. Так как несимметричное производное было более токсичным, оно сильнее индуцировало репаративные системы у имаго, получающих соединение перорально, в то время как личинки контактировали с соединениями всей поверхностью тела; и за время контакта не происходило индукции репаративных систем, так как часть вещества попадала в организм, не подвергаясь метаболической трансформации (Селезнева и др., 2003).

Возможно, больший или меньший в количественном отношении мутагенный эффект зависит от скорости и способа попадания вещества в клетку.

При исследовании структурных особенностей мутагенов было обнаружено, что планарные молекулы проявляют большую мутагенность, чем их непланарные аналоги.

Проанализировав мутагенность бифенила, флуоренона, фенантренхинона и их аналогов, Абилев (2003) показал, что циклизация молекул превращает неактивные структуры в активные за счет закрепления ароматических колец в одной плоскости. Автор предполагает, что планарность обеспечивает интеркаляцию анализируемых соединений между основаниями ДНК: так, большинство из обнаруженных им мутаций относились к «мутациям со сдвигом рамки считывания», и часть мутаций возникала за счет образования аддуктов. Кроме того, автор предполагает, что планарность исследованных соединений увеличивает сродство к нитроредуктазам и другим ферментам, участвующим в метаболизме. В работе было показано, что заместители, нарушающие планарность за счет увеличения вращения вокруг С-С связи, снижали мутагенную активность (рис. 18).



Рис. 18. Примеры влияния циклизации на мутагенную активность нитро-полициклических ароматических соединений (по Абилеву, 2003)

Итак, многими авторами выявлено наличие связи между мутагенностью и структурными характеристиками соединений. Однако такого рода характеристики практически не формализуются, и, в связи с этим, их трудно использовать для предварительного прогноза мутагенности вновь синтезированных соединений; поэтому целесообразно выявление корреляций между характеристиками, имеющими цифровое выражение, такими, как молекулярный вес, молекулярный объем, энергия гидратации, величина суммарного дипольного момента, температура плавления, величина липофильности. Исследования такого рода немногочисленны, а между тем, они помогли бы понять не только как возникает тот или иной тип биологического ответа, но и какую роль в процессе эволюции имели характеристики, влияющие на способность соединений проникать внутрь клеток и вмешиваться в метаболизм нуклеиновых кислот, вызывая различного рода мутации.

Особый интерес представляют собой соединения, имеющие сходное строение с природными аналогами и отличающиеся некоторыми активными группами. Мы исследовали цитогенетическую активность бензимидазола и бензотриазола, которые являются топологическими аналогами высокоактивных природных соединений – пу-

ринов и фитогормонов, и их сульфурильных производных для *Allium sera*. Исследовали следующие бензазолиды: I – бензимидазол, II – N-бензимидазолид метансульфоокислоты, III – N-бензимидазолид бензолсульфоокислоты, IV – N-бензимидазолид толуолсульфоокислоты, V – бензотриазол, VI – N-бензотриазолид метансульфоокислоты, VII – N-бензотриазолид бензолсульфоокислоты, VIII – N-бензотриазолид толуолсульфоокислоты.

Таблица 6

Способность бензазолидов индуцировать хромосомные aberrации



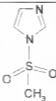
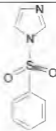
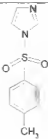
Исследуемые соединения	Типы хромосомных aberrаций				Общая частота aberrантных ана-телофаз
	отставания	обломки	простые и двойные мосты	сложные случаи	
контроль	3,67	0	1,29	0	4,96
I	4,99	0	12,59	0	17,58
II	7,58	0	11,37	0	19,95
III	5,67	0	13,87	0	19,54
IV	5,88	0	13,56	0	19,44
V	4,55	1,41	10,57	0,7	17,23
VI	4,61	0	2,61	0	7,22
VII	3,16	0,75	5,22	0	9,13
VIII	3,15	0	7,96	15,3	26,41

Бензотриазолиды индуцировали все типы aberrантных ана-телофаз, а бензимидазолиды не индуцировали перестроек типа «отставания хромосом» и суммарно индуцировали больше aberrантных ана-телофаз, чем бензотриазолиды. Корреляционный анализ между мутагенностью соединений и их физико-химическими параметрами выявил положительную корреляцию только для такого параметра, как величина дипольного момента ($r=0,7$), в то время как общая токсичность отрицательно коррелирует с величинами молекулярной массы и дипольного момента ($r=-0,7$) и молекулярного объема ($r=-0,8$) (Селезнева, 2007).

Исследуя наличие связи между физико-химическими свойствами, строением вещества и его мутагенностью, мы провели серию экспериментов на *Drosophila melanogaster*, используя различные производные имидазола. Результаты суммированы в таблице 7.

Таблица 7

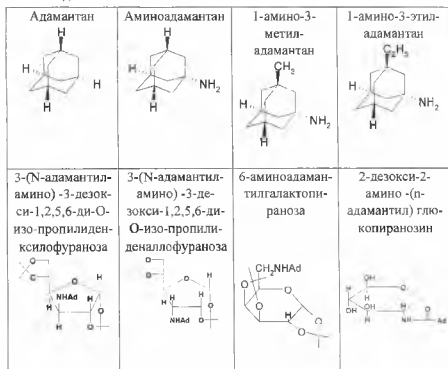
Способность имидазолидов индуцировать доминантные летальные мутации у имаго *Drosophila melanogaster*

Название азола	Имидазол	N-метил-имидазол	N-имидазолид метансульфокислоты	N-имидазолид бензолсульфокислоты	N-имидазолид толуолсульфокислоты
Структурная формула					
Число индуцированных доминантных леталей у самок (%)	17	10	14	4,1	5
Число индуцированных доминантных леталей у самцов (%)	18,9	16,8	21,5	6,3	8,5

Проведенный корреляционный анализ выявил высокую отрицательную корреляцию между величинами молекулярного веса (-0,8),

липофильностью (-0,9) и суммарного дипольного момента (-0,9) и величинами индуцированных доминантных летальных мутаций.

Сходные результаты были получены Шутовой (2007). В работе выявлена высокая отрицательная корреляция (-0,7) между липофильностью и способностью производных адамантана, таких как аминок-адамантан, 6-амино-адамантилгалактопираноза, 3-(N-адамантиламино)-3-дезоксид-1,2,5,6-ди-O-изопропилиденксилофураноза, 3-(N-адамантиламино)-3-дезоксид-1,2,5,6-ди-O-изопропилиденаллофураноза, 1-амино-3-метиладамантан, 1-амино-3-этиладамантан, 2-дезоксид-2-амино (N-адамантил) глюкопиранозин, индуцировать доминантные летали у дрозофилы. Ниже приводятся структурные формулы исследованных адамантанов.






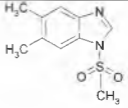
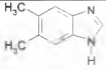
Однако результаты, полученные автором, ставят больше вопросов, нежели отвечают на поставленные. В этой же работе показано, что при тестировании соединений на растительных «тест-объектах»

наиболее значимым физико-химическим параметром, с которым была высокая отрицательная корреляция в развитии мутагенного ответа (хромосомные aberrации в клетках корневой меристемы лука) является величина энергии растворимости, а не липофильности.

Очевидно, в развитии мутагенного ответа большую роль играют пути попадания мутагена в клетку и строение клеточной стенки.

Для исследования прямого действия мутагена на эукариотическую клетку, когда мутаген не испытывает трансформации на организменном уровне, используются культуры клеток.

При воздействии бензимидазолами, имеющими разное число метильных групп, на лимфоциты периферической крови человека, мы выявили ряд интересных корреляций. Мы исследовали мутагенную активность бензимидазола и его производных (Селезнева, 2008).

 <p>Бензимидазол (BzIm)</p>	 <p>N-бензимидазол метансульфо-кислоты (BzImSO₂CH₃)</p>
 <p>N-метилбензимидазол (NmeBzIm)</p>	 <p>5,6-диметил-N-бензимидазол метансульфо-кислоты (dimeBzImSO₂CH₃)</p>
 <p>5,6-диметил бензимидазол (dimeBzIm)</p>	

Все исследованные бензимидазолиды проявляют антимиотическую активность и индуцируют хромосомные aberrации; чем больше метильных групп введено в соединение, тем более оно мутагенно ($p < 0,01$) (см. таблицу 8.)

Таблица 8

Цитогенетическая активность бензимидазола и его производных

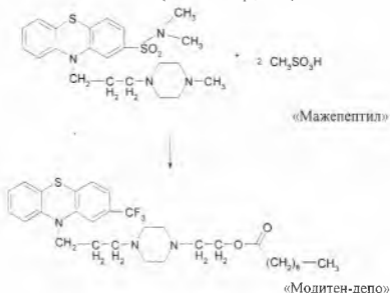
Соединения	Число проанализированных клеток	Процент aberrантных метафаз	Процент blast-трансформированных клеток
контроль	7305	0	92,80 ± 1,90
BzIm	2995	5,01 ± 0,69	70,10 ± 1,35
NmeBzIm	2314	5,83 ± 0,31	64,30 ± 1,24
dimeBzIm	3973	6,30 ± 0,71	68,90 ± 2,01
BzImSO ₂ CH ₃	3117	6,01 ± 0,18	65,80 ± 1,18
dimeBzImSO ₂ CH ₃	3954	7,1 ± 0,22	65,90 ± 1,56

Выявлена высокая отрицательная корреляция между величинами дипольного момента ($r = -0,82$) и энергии гидратации ($r = -0,71$) и цитотоксичностью бензимидазолидов. Мутагенность бензимидазолидов коррелировала положительно с величинами молекулярной массы ($r = 0,82$), молекулярного объема ($r = 0,94$) и с величиной энергии гидратации ($r = 0,7$).

По-видимому, введение метильных групп приводит к возникновению топологического сходства с известными метаболитами, такими, как пурины. Вследствие того, что в основе избирательного действия сложных органических соединений особую роль играет структура биорецептора как стереохимически детерминированной структуры, следует, что фиксация на нем «топологических изомеров» облегчала проникновение соединений в клетку и вызывала соответствующий биологический ответ.

Возможно, изменение мутагенных свойств связано со способностью ферментов узнавать соединение и модифицировать его.

Еще в 70-х годах XX века было показано, что химическая модификация лекарственного препарата фенотиазинового ряда, в результате которой препарат «Мажепептил» – 2-диметилсульфамидо-10-[3-(1-метилпиперазинил-4)-пропил]-фенотиазин – превращается в «Модитен-депо» – 2-трифторметил-10-{3-[1-(β-каприноилоксиэтил)-пиперазинил-4]-пропил}-фенотиазин, имеющий с «Мажепептилом» общую фармакологическую активность, делает последний более длительным по действию. Кроме того, если «Мажепептил» индуцирует доминантные летальные мутации в зародышевых клетках мыши и хромосомные aberrации в культуре лимфоцитов человека, то у «Модитен-депо» отсутствует генетическая активность (Ревазова и др., 1975)



Любые модификации нуклеозидов и воздействие ими на живые объекты, как правило, приводят к мутагенному ответу (Аузрбах, 1978). Природные пурины – ксантин, гипоксантин, ксантозин – индуцируют гетероплоидию (Mehra, Dhimal, 1986).

Исследование мутагенной активности 3,5,6,-тритолуил-1,2-ди-ацетилгексапиранозы (ТДАГ), 3,5,6,-тритолуил-1,2-ацетилгексапиранозил-1-бензотриазола (ТАГБ), 3,5,6,-тритолуил-1,2-ацетилгексапиранозил-1-тимина (ТГТ) в тестах Меллер-5 на самцах имаго

Drosophila melanogaster и в тестах на доминантные летальные мутации на самцах и самках имаго *Drosophila melanogaster* показало, что все толуильные производные гексапиранозы индуцируют мутации. Особый интерес представляет собой факт мутагенности ТДАГ, так как это соединение не включает в себя тимидин или его топологический аналог, но при этом вызывает мутагенный ответ (Селезнева, 1999).

При исследовании топологических аналогов нуклеозидов 1-β-D-рибофуранозилбензотриазола, 1-β-D-рибофуранозилбензимидазола, 1-β-D-эритрофуранозилбензимидазола в тестах на *Drosophila melanogaster* обнаружили, что в тесте Меллер-5 соединения не отличались по мутагенности, а в тестах на выявление доминантных летелей максимальной мутагенностью обладал 1-β-D-рибофуранозилбензотриазол (Селезнева, 2000).

По-видимому, конформационные особенности мутагена являются определяющими в работе ферментов микросомальной фракции, в результате деятельности которых одни соединения повышают свою мутагенность, другие теряют.

Невозможность тестирования огромного количества соединений на мутагенность привела к созданию программ, позволяющих выявить связь между строением соединения и его генотоксичностью. Ранее мы уже отмечали программу DEREK. Эта система, помимо токсичности, позволяет прогнозировать мутагенность и канцерогенность соединений (Ridings et al., 1997). Часто используются программы MULTICASE и TOP-KAT, базирующиеся на статистических алгоритмах между токсичностью и структурой соединения. Однако валидность прогнозов в отношении мутагенности для этих программ неизвестна.

В последние годы эффективно используется методология QSAR (Тарасов и др., 2002). Проводимый по QSAR анализ направлен на выявление дескрипторов, участков молекул химических соединений, корреляционно связанных с мутагенной активностью. В случае позитивной связи с мутагенной активностью соединений эти дескрипторы

получили название «биофоров», а в случае негативной – «биофобов». В качестве дескрипторов могут выступать определенные группы атомов или физико-химические параметры. Однако существуют и проблемы включения QSAR-анализа в общую процедуру оценки уровня генетической опасности. Это проблема валидности выбранных дескрипторов. Так, проведенный с помощью компьютерной программы MULTICASE анализ канцерогенности ряда соединений для грызунов позволил выявить 28 дескрипторов, 26 из которых – биофоры, а 2 – биофобы. При этом оказалось, что 13 биофоров из 26 связаны с мутагенностью в тесте Эймса, другие были немутагенами по этому тесту (Klopman, Rosenkranz, 1994).

Именно поэтому, несмотря на существующие успехи в компьютерном прогнозировании свойств вновь синтезированных соединений, большинство авторов считает, что необходима экспериментальная проверка.

Ко всему вышеизложенному следует добавить, что влияние структуры на мутагенную активность зависит от нескольких параметров:

- тип проведения анализа (результаты анализа *in vitro* и *in vivo* часто различны);
- различия в чувствительности к мутагенному действию у разных видов (часто то, что мутагенно для животных, немутагенно для растений; и мутагены для прокариот иногда не являются таковыми для эукариот);
- концентрация анализируемых химических соединений (при высоких концентрациях токсичность соединений маскирует мутагенный эффект);
- растворитель, который может маскировать (например, своей токсичностью) мутагенность соединения.

Вероятно, оценка физико-химических параметров как возможных дескрипторов, определяющих мутагенность, может быть облегчена с помощью набора «батарей-тестов» с высокой валидностью. В этом направлении уже достигнуты определенные успехи, хотя предложен-

ные авторами программы не всегда могут быть применимы (Тарасов и др.). Батареи должны отвечать следующим принципам:

- взаимодополняемость проб, включаемых в батарею;
- каскадность в применении различных методов;
- интегральность оценки результатов.

Это диктует необходимость комплектования батарей из краткосрочных тестов, отличающихся как по конечному результату (повреждение ДНК, точковые мутации, хромосомные aberrации, митотические рекомбинации, индукция микроядер, обмен сестринскими хроматидами, анеуплоидия, доминантные летали, клеточная трансформация, ингибирование межклеточной коммуникации), так и по филогенетическому уровню (прокариоты, низшие эукариоты, высшие эукариоты: растения, насекомые, клеточные культуры млекопитающих и человека, целостные организменные системы). Такой подход позволяет выявить агенты, различающиеся по механизму действия.

Понимание связи между мутагенной активностью и строением соединения в целом позволит разработать целый комплекс мероприятий, позволяющих оценить потенциальную опасность воздействия любого ксенобиотика, как вновь синтезированного, так и природного, с которым живые организмы еще не встречались в процессе эволюции, и составить прогноз изменения генофонда любого вида, подвергшегося воздействию мутагена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одной из самых серьезных проблем настоящего является разработка системного подхода для оценки биологической активности ксенобиотиков.

Детальный анализ каждого типа биологической активности выявил ряд закономерностей, которые были ранее описаны как «законы Б. Коннера»:

- «Все связано со всем»;
- «Все должно куда-то деваться»;
- «Природа «знает» лучше»;
- «Ничего не дается даром».

Факты, получаемые отдельными научными дисциплинами – токсикологией, онкологией, экотоксикологией, экогенетикой, – не позволяют целостно взглянуть на проблему биологической активности, а между тем уже сегодня в банке данных Chemical Abstract Services (США) имеются сведения о почти 8 миллионах различных химических соединений. Несколько десятков тысяч из этого количества находят широкое применение в многообразных сферах жизни и постоянно используются людьми.

Таблица 9

Использование человеком химических веществ
(Худолей, Мизгирев, 1996)

Классы соединений	Соединения обычного употребления	Пестициды (активные ингредиенты)	Лекарства (активные ингредиенты)	Наполнители для лекарственных препаратов	Пищевые добавки	Препараты, поддерживающие тонус
Количество	50 000	1500	4000	2000	2500	300

Человечеству не хватит ни времени, ни средств на анализ биологической активности всех синтезированных соединений. Следовательно, необходим поиск закономерностей, на основе которых должна возникнуть и возникнет теория, связывающая биологическую активность любого соединения с его физико-химическими свойствами. В основе данной теории лежит факт осознания того, что, как и все эволюционные события, возникновение биологического ответа на воздействие химическими факторами окружающей среды предeterminировано строением химических соединений и их свойствами. Обнаруженные «случайные» совпадения являются таковыми вследствие незнания нами определенных закономерностей.

Канализованность процессов эволюции и процесса онтогенеза указывает на существование специфичности и закономерности в ответе живых систем при воздействии химическими соединениями.

Как видно из представленных результатов многих исследователей, уже намечаются пути поиска казуальности «структура – биологическая активность».

Однако существует большое количество проблем, связанных с осознанием роли информации, которую несет в себе та или иная химическая структура, что впоследствии влияет на появление у живых систем адаптаций к химическому воздействию.

Огромную роль в формировании первичного избирательного узнавания химического соединения рецепторами на поверхности мембран, а затем развития биологического ответа в соответствии с взаимодействием, играет топологическое взаимодействие вещества с мишенью. И, следовательно, так возникает информационный компартимент. Именно поэтому биологическая активность зависит от топологии молекулы (ее формы и размера).

Известно, что для проявления определенных типов биологической активности необходимым требованием для одних является объемность и трехмерная структура, для других – планарность. Так, многие высокоэффективные гетероциклические азолы (имидазол, триазол, индол, бензимидазол, бензотриазол) планарны. В отличие от них,

алифатические и ациклические соединения не планарны, не планарны и сахара, которые в зависимости от среды имеют форму либо кресла, либо ванны. Стерические препятствия, возникающие между группами, находящимися по одну сторону двойной связи, могут приводить к нарушению планарности и изменению физико-химических свойств молекулы и ее биологической активности. И плоские, и трехмерные структуры часто обладают избирательной биологической активностью, что используется для получения высокоэффективных биологически активных веществ, например, фармакологических препаратов.

К сожалению, работы, посвященные анализу роли планарности или трехмерности в развитии определенного типа биологического ответа, немногочисленны, кроме того, по-видимому, в формализации взаимодействия «структура – эффект» форма молекулы трудно учитываема. Именно поэтому исследуются гомологические ряды соединений, для которых и строятся уравнения, учитывающие роль определенных параметров химических соединений в развитии определенного типа биологической активности. Работы такого рода интенсивно ведутся для соединений, воздействующих на определенные рецепторы, структура которых в той или иной степени изучена (Альберт, 1989б).

Интерес к исследованиям такого рода будет возрастать, так как это развивает возможности понимания механизмов действия ксенобиотиков.

В заключение можно сказать, что многие рассмотренные положения в данной работе могут быть проанализированы иначе, но автору кажется, что данный подход позволяет не только объективно оценить существующие причинно-следственные связи между строением ксенобиотиков и биологическим ответом, но и обсудить существование известного детерминизма в проблеме биологической целесообразности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Абилев С.К. Выявление и прогнозирование мутагенной активности химических соединений окружающей среды // Автореф. диссерт. на соискание уч. степ. д.б.н. – Москва, 2003. – 49 с.

Абилев С.К., Любимова И.К., Мигачев Г.И. Зависимость мутагенной активности гетероциклических аналогов пирена от их химической структуры // Генетика. – 1992. – Т.28. – №8. – С. 52-59.

Абилев С.К., Любимова И.К., Мигачев Г.И. Влияние структурных особенностей нитропроизводных флуоренона и бифенила на фреймшифт-мутагенез в тестерных штаммах *Salmonella typhimurium* // Генетика. – 1993. – №10. – С. 1640-1645.

Абрамова Ж.И. Вопросы специфической профилактики некоторых профессиональных интоксикаций // Матер. научн. сессии, посвящ. 40-летию НИИ гигиены труда и профессиональных заболеваний. – Л., 1964. – С. 102-105.

Абрамова Ж.И. Об использовании природных антиоксидантов для профилактики и лечения отравления ядами различного типа действия. // Общие вопросы промышленной токсикологии – М., 1967. – С. 146-149.

Абрамова Ж.И., Болтушкина Л.А. Защитный эффект панкреатина при экспериментальном отравлении фосфорорганическими инсектицидами // Вопросы лечения профессиональных заболеваний и интоксикаций – Л. – 1967 – С. 107-111.

Акоев И.Г., Алексеева Л.В. Пол, реактивность, резистентность. – М.: Знание, 1975 – 64 с.

Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. – М.: Мир, 1994. – Т.1. – 516 с.

Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. – М.: Мир, 1993. – Т.2. – 539с.

Алекперов У.К. Антимутагенез. Теоретические прикладные аспекты. – М.: Наука, 1984. – 100 с.

Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. – М.: Наука, 1983. – 281 с.

Альберт А. Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии. – М.: Мир, 1989а. – Т.1. – 399 с.

Альберт А. Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии. – М.: Мир, 1989б. – Т.2. – 429 с.

Амосова А.А., Селезнева Е.С., Теньгаев Е.И. Оценка токсичности солей тяжелых металлов // Сб. Тр. VIII Всерос. Конгресса «Актуальные проблемы экологии человека». – Самара, 2002. – С. 11-13.

Анищенко Т.Г., Гудкова Е.В. Половые различия резервных возможностей гипофизарно-адрено-кортикальной системы у крыс // Бюлл. exper. биологии и медицины. – 1991. – № 4. – С. 348-350.

Аржанова В.С., Елпатьевский П.В. Трансформация и степень устойчивости горно-лесных экосистем в условиях азротехногенного воздействия // Проблемы устойчивости биологических систем. – Харьков, 1990. – С. 337-339.

Арзиани Б.А. Детоксикация экзогенных простых фенолов в растениях: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Тбилиси, 1983. – 25 с.

Архипова О.Г., Зорина Л.А., Соркина Н.С., Комплексоны в клинике профессиональных болезней. – М.: Медицина, 1975. – 160 с.

Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза – М.: Мир, 1978. – 463 с.

Бадюгин И.С. (ред) Военная токсикология, радиология и защита от оружия массового поражения. – М.: Воен. издат., 1992. – 334 с.

Баренбойм Г.М., Маленков А.Г. Биологически активные вещества. Новые принципы поиска. – М.: Наука, 1986. – 363 с.

Барсукова В.С. Физиолого-генетические аспекты устойчивости растений к тяжелым металлам. Аналитический обзор / СО РАН; ГПНТБ; Ин-т почвоведения и агрохимии. – Новосибирск. – 1997. – Сер. «Экология» – Вып.47. – 63 с.

Баскин И.И., Любимова И.К., Абилов С.К., Палюлин В.А., Зефиоров Н.С. Количественная связь между мутагенной активностью химических соединений и их структурой. Замещенные бифенилы // Доклады АН. – 1993. – Т.332. – №5. – С. 587-589

Баскин И.И., Любимова И.К., Абилов С.К., Палюлин В.А., Зефиоров Н.С. Количественная связь между мутагенной активностью гете-

роциклических аналогов пирена и фенантрена и их структурой // Доклады АН. – 1994. – Т.339. – № 1. – С. 106-108.

Беджер Г.М. Химические основы канцерогенной активности / Пер. с англ. – М.: Медицина, 1966. – 124 с.

Белоусов Л.В. Введение в общую эмбриологию. – М.: Изд-во МГУ, 1980. – 211с.

Белоусова З.П., Селезнева Е.С. Влияние структурных и физико-химических особенностей N,N'-тиокарбонил- и N,N'-сульфурилдиазолов на их антибактериальные свойства // Вестник Самарского государственного университета. – Сер. Биология. – 2007. – С. 22-30.

Белоусова З.П., Селезнева Е.С. Генотоксичность производных индола // Вестн. Сам. госуниверситета. – 2004. – 2-й спец. вып. – С. 106-113.

Белоусова З.П., Селезнева Е.С., Теньгаев Е.И. Токсичность некоторых гетероциклических азолов. // Сб. научн. тр. «Карбонильные соединения в синтезе некоторых гетероциклов» – Саратов: Изд-во Научная книга, 2004. – С. 39-41.

Берг Л.С. Труды по теории эволюции. – Ленинград: Наука, Ленинградское отделение, 1977. – 387 с.

Берхин Е.Б. Роль почек в защите организма от ксенобиотиков // Фармакол. и токсикол. – 1986. – №2. – С. 104-105.

Беспалов Г.П., Кротов Ю.А. Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде. – М.: Химия, 1985. – 528 с.

Болдырев А.А., Котелевцев С.В., Ланио М., Альварес К., Перес П. Введение в биомембранологию. – М.: Изд-во МГУ, 1990. – 208 с.

Бочков Н.П. Клиническая генетика. – М.: Медицина, 1997. – 287 с.

Бочков Н.П., Чеботарев А.Н. Наследственность человека и мутagens внешней среды. – М.: Медицина, 1984. – 270 с.

Брехман И.И., Кубланов М.Г. Концепция структурной информации в фармакологии и науке о питании. – Владивосток, 1983. – 206 с.

Бурлак В.А. Взаимодействие трех видов изменчивости и флуктуирующей асимметрии в популяции малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. // Генетика. – 1998. – №34. – Т.10. – С. 1345-1353.

Вавилов А.М. Экологические последствия гонки вооружений. – М.: Международные отношения, 1988. – 208 с.

Воробейчик Е.А., Садыков, О.Ф., Фарафонов, М.Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем. – Екатеринбург – УИФ: Наука, 1994. – 280 с.

Геннис Р. Биомембраны молекулярная структура и функции. – М.: Мир, 1997. – 623 с.

Гилева Э.А., Косарева Н.Л. Уменьшение флуктуирующей асимметрии у домового мыши на территориях, загрязненных химическими и радиоактивными мутагенами // Экология. – 1994. – №3. – С. 94-97.

Гилева Э.А., Нохрин Д.Ю. Флуктуирующая асимметрия краниометрических признаков у восточноевропейской полевки из зоны радиационного неблагополучия // Экология. – 2001. – №1. – С. 44-49.

Голиков С.Н., Заугольников С.Д. Реактиваторы холинэстераз. – Л.: Медицина, 1970. – 164 с.

Голиков С.Н., Кузнецов С.Г., Зацепин Э.П. Стереоспецифичность действия лекарственных веществ. – Л.: Медицина, 1973. – 185 с.

Голиков С.Н., Саночкин И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. – Л.: Медицина, 1986. – 279 с.

Гончаров, Р.И. Антимутагенез как генетический процесс // Вестн. РАМН. – 1993. – № 1. – С. 26-33.

Грант В. Эволюционный процесс. – М.: Мир, 1991. – 488 с.

Григоренко Н.В., Мережинский Д.Г., Лаврентьева Е.Р. К механизму действия рамрода // Физиол. и биохимия культ. растений – 1986. – Т. 18. – № 4. – С. 387-390

Гринштейн С.В., Кост О.А. Структурно-функциональные особенности мембранных белков // Успехи биол. химии. – 2001. – Т. 41. – С. 77-104.

Гуляева Л.Ф., Вавилин В.А., Лякович В.Р. Ферменты биотрансформации ксенобиотиков в химическом канцерогенезе. Аналитический обзор. – Новосибирск: Изд-во ГПНТБ, 1999. – 89 с.

Де Дюв К. Путешествие в мир живой клетки. – М.: Мир, 1987 – 256 с.

Деева В.А. Физиолого-биохимическая природа регуляции адаптивных реакций генетически различных форм растений с помощью физиологически активных веществ. // Регуляция адапт. реакций сельскохозяйств. растений. – Кишинев, 1987. – С. 11-19.

Деева В.П., Шелег З.И., Салько Н.В. Избирательное действие химических регуляторов роста на растения: Физиологические основы. – Минск: Наука и техника, 1988. – 255 с.

Дубинин Н.П. Генетические аспекты проблемы «Человек и биосфера» // Генетические проблемы загрязнения окружающей среды на территории Молдавской ССР: Тез.докл. – Кишинев, 1980. – С. 3-6.

Дубинин Н.П. Некоторые проблемы современной генетики. – М.: Наука, 1994. – 224 с.

Дубинин Н.П. Новое в современной генетике. – М.: Наука, 1986. – 206 с.

Дурнев А.Д., Среденин С.Б. Мутагены. Скрининг и фармакологическая профилактика воздействий. – М.: Медицина, 1998. – 327 с.

Дыбан А.П., Баранов В.С., Котин А.М. Действие некоторых антиметаболитов нуклеинового обмена на эмбриогенез млекопитающих / Внешняя среда и развивающийся организм. – М.: Наука, 1977 – С. 293-325.

Евланов И.А. Этапы антропогенного воздействия на ихтиофауну Средней Волги в XX веке // Первый конгресс ихтиологов России. – М.: ВНИРО, 1997 – 150 с.

Евланов И.А. Минее А.К., Розенберг Г.С. Оценка состояния пресноводных экосистем по морфологическим аномалиям у личинок рыб (методическое пособие). – Тольятти: ИЭВРАН, 1999. – 38 с.

Заирометов М.Н. Фенольные соединения растений и их биогенез // Итоги науки и техники. Сер. Биол.химия. – М.: ВИНТИ, 1988. – Т.27. – 188 с.

Засухина Г.Д., Синельникова Т.А. Мутагенез, антимуагенез, репарация ДНК // Вестн. РАМН. – 1993. – №1. – С. 9-14.

Зенгбуш П. Молекулярная и клеточная биология. – М.: Мир, 1982. – Т.2. – 438 с.

Ильинских Н.Н., Медведев М.А., Бессуднова С.С., Ильинских И.Н. Мутагенез при различных состояниях организма. – Томск. Изд-во Томского университета, 1990 – 229 с.

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. – М.: Высшая школа, 1989. – 592 с.

Кавеленова Л.М. Проблемы организации системы фитомониторинга городской среды в условиях лесостепи. – Самара: Изд-во «Самарский университет», 2003. – 124 с.

Калюченко А.И. Осторожно лекарства – 2004 –. <http://www.chem.km.ru/view/rD2F371C9B8E444B58B5B4434E4CE3749.htm>

Карасевич Ю.Н. Экспериментальные адаптации микроорганизмов. – М.: Наука, 1976 – 179 с.

Карасик В.М. Противоядия. // Руководство по фармакологии. – Л.: Медгиз, 1962. – Т. 2. – С. 436-452.

Канцерогенные вещества (отв. ред. Турусов В.С.) – М.: Медицина, 1987. – 336 с.

Ковалев И.Е., Маленков А.Г. Поток чужеродных веществ: влияние на человечество // Природа. – 1980. – № 9. – С. 90-101.

Ковда В.А. Биогеохимические циклы в природе и их нарушение человеком. – М.: Наука, 1975. – 125 с.

Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. – М.: Мир, 2000 – 469 с.

Корбакова А.И., Тимофеевская Л.А. Энергетическая характеристика химических связей и биологическое действие веществ // Общие вопросы промышленной токсикологии. – М. – 1967. – С. 104-108.

Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития. (Генетические аспекты) – М.: Изд-во Московского ун-та, 2002. – 263 с.

Красилов В.А. Биология и натурфилософия // О специфике биологического познания. – М.: Наука, 1987. – С. 60-64.

Культиасов И.М. Экология растений. – М.: Изд-во МГУ, 1982 – 384 с.

Купенко С.А. Основы токсикологии. – СПб: Фолиант, 2004 – 715 с.

Лазурьевский Г.В., Терентьева И.В. Алкалоиды и растения. – Кишинев: Штиница, 1975 – 150 с.

Левина Э.Н. Общая токсикология металлов. – Л.: Медицина, 1972. – 184 с.

Ливчак И.Ф., Воронов Ю.В. Охрана окружающей среды. – М.: Стройиздат, 1988. – 192 с.

Лима-де-Фариа А. Эволюция без отбора. – М.: Мир, 1991. – 455 с.

Лужников Е.А., Клиническая токсикология. – М.: Медицина, 1994. – 255 с.

Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления. – М.: Медицина, 1989. – 432 с.

Лужников Е.В., Дагаев В.Н., Горин Э.Э. Возрастные аспекты интенсивной терапии острых отравлений химической этиологии // Тер. Арх. – 1985. – № 5. – С. 115-119.

Любимова И.К., Абилов С.К., Мигачев Г.И. Влияние некоторых структурных особенностей в молекулах производных пирена и его гетероциклических аналогов на мутагенную активность // Генетика. – 1995. – № 1. – С. 128-132.

Маркова И.В., Саяев В.Н., Утешев Б.С. Фармакология. – М.: Медицина, 1983. – 240 с.

Машковский М.Д. Лекарственные средства. – Вильнюс: Изд-во ЗАО «Гамта», 1994а. – Т. 1. – 543 с.

Машковский М.Д. Лекарственные средства. – Вильнюс: Изд-во ЗАО «Гамта», 1994б. – Т. 2 – 527 с.

Маштаков С.М., Войнило В.А., Деева В.А. Изменение окислительного фосфорилирования и структуры дыхательной цепи мито-

хондрий гороха под воздействием различных физиолого-активных соединений // Физиол. растений. – 1969. – Т. 16. – № 1. – С. 111-119.

Медведев Ж.А. Чернобыльские радионуклиды за пределами СССР: Европейский континент // Радиобиология. – 1991. – Т. 31. – Вып. 6. – С. 771-793.

Милкин А.В., Курбатова М.А., Селезнева Е.С., Белоусова З.П., Теньгаев Е.И. Изменение антибактериальных свойств бензимидазола и индола при их метилировании // Вестн. Сам. госуниверситета – Спец. вып. – 2004. – С. 170-173.

Моновейчук А.Ю., Макеев А.М., Чкаников Д.И. Ферментативное окисление ксенобиотиков в растениях (Обзор) // Приклад. биохимия и микробиология. – 1988. – Т. 24. – № 1. – С. 3-13.

Муравьев И.А., Кудрин А.Н., Козьмин В.Д. Несовместимость лекарственных веществ. – М.: Медицина, 1972. – 290 с.

Новожилов К.В. Проблема динамики и метаболизма инсектицидов в растениях в связи с их рациональным использованием // Л.: Тр. ВИЗР, 1977. – С.5-16.

Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. – М.: Просвещение, 1987. – 815 с.

Одум Ю. Основы экологии. – М.: Мир, 1975. – 740 с.

Озолина И.А., Мочалкин А.И. О защитной роли каратиноидных пигментов в растениях // Изв. АН СССР. – 1975. – № 3. – С. 383-392.

Оксенгендлер Г.И. Яды и организм. Проблемы химической опасности. – Санкт-Петербург: Наука, 1991. – 317 с.

Оксенгендлер Г.И. Яды и противоядия. – Л.: Наука, 1982. – 191 с.

Оно С. Генетические механизмы прогрессивной эволюции. – М.: Мир, 1973. – 227 с.

Орлов Б.Н., Гелашвили Д.Б. Зоотоксикология. Ядовитые животные и их яды. – М.: Высшая школа, 1985. – 280 с.

Орлов Б.Н., Гелашвили, Д.Б., Ибрагимов А.К. Ядовитые растения и животные СССР. – М.: Высшая школа, 1990. – 272 с.

Перспективы медицинской генетики / Под. ред. Бочкава И.П. – Совместное изд-во СССР-НРБ-ВНР-ГДР-ЧССР – М.: Медицина, 1982. – 400 с.

Пигулевский С.В. Ядовитые животные. Токсикология беспозвоночных. – Л.: Медицина, 1975. – 375 с.

Пигулевский С.В. Ядовитые животные. Токсикология позвоночных. – Л.: Медицина, 1966. – 386 с.

Плотникова И.В., Хорькова О.Е. Действие 2,4-Д на активность некоторых окислительно-восстановительных ферментов чувствительных и устойчивых растений // Воздействие гербицидами на растения на организменном и популяционном уровнях. – М., 1985. – С. 127-138.

Пригожин И.Д., Стенгерс И. Порядок из хаоса. – М.: Прогресс, 1986. – 431 с.

Пяткин К.Д., Кривошеин, Ю.С. Микробиология. – М.: Медицина, 1980. – 511 с.

Радцеева Г.Е., Радцеев В.С. Физиологические аспекты действия химических регуляторов роста на растения. – М.: Наука, 1982. – 148 с.

Рангалис В.П. Регуляция чувствительности высших растений к мутагенным факторам. – Вильнюс: Мокслас, 1978. – 188 с.

Ревазова Ю.А., Золотарева Г.Н., Шапиро А.А. и др. Изучение мутагенной активности мажепептида // Цитология и генетика. – 1975. – № 5. – С. 400-403.

Рычков Ю.Г. Некоторые популяционно-генетические подходы к антропологии Сибири // Вопр. антропологии. – 1969. – Вып. 33. – С. 6-33.

Рычков Ю.Г. Система древних изолятов человека в Северной Азии в свете проблем стабильности и эволюции популяций // Вопр. антропологии. – 1973. – Вып. 44. – С. 3-22.

Рычков Ю.Г. Сравнительное изучение генетического процесса в урбанизированной и изолированной популяциях // Вопр. антропологии. – 1979. – Вып. 63. – С. 3-21.

Рэфф Р., Кофмен, Т. Эмбрионы, гены, эволюция. – М.: Мир, 1986. – 402 с.

- Садыков О.Ф. Популяционные аспекты экотоксикологии // Эко-токсикология и охрана природы. – М., 1988 – С. 108-126.
- Садыков О.Ф. Современные проблемы и перспективы прикладной экологии // Развитие идей академика С.С. Шварца в современной экологии. – М., 1991. – С. 143-213.
- Санаев Н.Ф. Генетический потенциал и экология. – Саранск: Изд-во Мордовского ун-та, 2001. – 82 с.
- Саноцкий И.В. Предупреждение вредных химических воздействий на человека – комплексная задача медицины, экологии, химии и техники // ЖВХО им. Д.И.Менделеева. – 1974. – № 2. – С. 125-135.
- Саноцкий И.В., Уланова И.П. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. – М.: Медицина, 1975. – 327 с.
- Саренбаев К.Н., Полимбетова Ф.А. Роль ферментов в устойчивости растений. – Алма-Ата: Наука, 1986. – 184 с.
- Светлов П.Г. Теория критических периодов развития и ее значение для понимания принципов действия среды на онтогенез / Вопросы цитологии и общей физиологии. – М.: Наука, 1960. – С. 263-285.
- Селезнева Е.С. Проблемы экологической опасности бензазолоидов // Экология и промышленность России. – 2007, ноябрь. – С. 25-28
- Селезнева Е.С. Изменение цитогенетической активности гетероциклических азолов при введении в их строение метильной группы. // Матер. V междунар. научно-практической конф. «Татищевские чтения: актуальные проблемы науки и практики». Актуальные проблемы экологии и охраны окружающей среды. – Тольятти, 2008 – С. 201- 217.
- Селезнева Е.С., Иванчина А. И., Теньгаев Е.И., Белоусова З.П. Антибактериальная активность производных имидазола // Вестн. Сам. госуниверситета. – 2004. – Спец. вып. – С. 170-173.
- Селезнева Е.С., Теньгаев Е.И., Белоусова З.П. Гетероциклические азолы и адаптации *Staphylococcus aureus* // Катализ и сорбция в биотехнологии, химии, химических технологиях и экологии. Мат Всероссийской заочн. конф. – Тверь, 2003. – Вып. 1. – С. 4-6.

Селезнева Е.С., Белоусова З.П., Зверева И.В., Белоусова С.Е. Анализ биологической активности метильных производных имидазола // Вестник Университета Наяновой. – Самара, 1999. – С.23-26.

Селезнева Е.С., Белоусова З.П., Калюжная Е.А. Оценка взаимосвязи между липофильностью и токсичностью на примере С- и N- метилимидазолов // Нелинейное моделирование и управление – Самара – Междунар. семинар. – Тез. докл. – 1998. – С. 134

Селезнева Е.С., Белоусова З.П., Макарова Т.В. О генотоксичности модифицированных нуклеозидов // Известия СНЦРАН. – 2000. – Т. 2. – № 2. – С. 344-347.

Селезнева Е.С., Белоусова З.П., Пермьякова Е.А. Об эколого-генетической опасности синтетических нуклеозидов // Бюлл. Самарская Лука. – 1999. – № 9/10. – С. 208-212.

Селезнева Е.С., Белоусова З.П., Теньгаев Е.И. Изучение механизмов биологической активности 2,2'-димидазола и его нитропроизводных // Известия СНЦ РАН. – 2002. – Спец. вып. – Т. 2. – С.326-333.

Семенов В.В. Мутагенез, антимутагенез и регуляторные системы клетки // Вестн. РАМН. – 1995. – № 5. – С. 41-44.

Семенов В.В., Студенцова И.А., Дурнев А.Д. и др. Антимутагены как модификаторы циклазной системы клетки // Вопр. мед. химии. – 1994. – № 3. – С. 48-51.

Середенин С.Б., Дурнев А.Д. Фармакологическая защита генома. – М.: ВИНТИ, 1992. – 161 с.

Середенин С.Б., Дурнев А.Д. Фармакокинетическая защита генома – М.: ВИНТИ, 1992. – 161 с.

Сидоренко Г.И., Литвинов Н.Н. О создании единой экологогигиенической базы планирования и реализации общегосударственной природоохранной деятельности // Нормирование антропогенных нагрузок. – Тез. докл. – М., 1988. – С. 8-11.

Сидоренко С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам // Успехи биол. химии. – 2004. – Т. 44. – С. 263-306.

Сипсон, Д.Л., Голбуч М.С., Мартин Э.О., Сарто Г.Е. Генетика в акушерстве и гинекологии. – М.: Медицина, 1985. – 351 с.

Слепов А.В., Краснов А.Н., Гелашвили Д.Б. Применение структурно-информационных показателей флуктуирующей асимметрии мелких млекопитающих в мониторинге окружающей среды // Проблемы регионального экологического мониторинга. – Матер. научно-практ. конф. – Нижний Новгород, 2002. – С. 130-131.

Соколов Г.А. Термоядерное, химическое и бактериологическое оружие – средства массового поражения // ЖВХО им. Д.И. Менделеева. – 1968. – Т. 13. – № 6. – С. 602-607.

Сондерс Б. Химия и токсикология органических соединений фосфора и фтора / Пер. с англ. под ред. Кнунянца И.Л. и Маркова С.И. – М.: Изд-во иностр. лит., 1961. – 323 с.

Стадницкий Г.В., Родионов А.И. Экология. – М.: Высшая школа, 1988. – 272 с.

Тарасов В.А., Абилов С.К., Велибеков Р.М., Асланян М.М. Эффективность батарей тестов при оценке потенциальной мутагенной активности химических соединений // Генетика. – 2003. – №10. – С. 1406-1417.

Тарасов В.А., Тарасов А.В., Любимова И.К., Асланян М.М. Проблема количественной оценки опасности химических соединений в генетической токсикологии // Успехи совр. биол. – 2002. – Т. 122. – № 2. – С. 136-147.

Тарр С. Основы патологии растений. – М.: Мир, 1975. – 587 с.

Угрехелидзе Д.Ш., Дурмишидзе С.В. Поступление и детоксикация органических ксенобиотиков в растениях. – Тбилиси: Мецинерета, 1984. – 230 с.

Уоддингтон К. Морфогенез и генетика. – М.: Мир, 1964. – 467 с.

Фармакогенетика. Докл. научн. группы. – ВОЗ. Женева, 1975. – 52 с.

Финеан Дж., Колмэн Р., Мичелл Р. Мембраны и их функции в клетке. – М.: Мир, 1977. – 199 с.

Хадорн Э., Винер Р. Общая зоология. – М.: Мир, 1989. – 523 с.

Халилов Э.М. Биохимическая трансформация лекарственных веществ в организме // Биохимическая фармакология. – М.: Высш. школа, 1982. – С. 65-77.

Харкевич Д.А. Фармакология. – М.: Медицина, 1980. – 445 с.

Химические мутагены окружающей среды // М.: Наука, 1983. – 112 с.

Худолей В.В. Характеристика современных мутагенных тестов для выявления канцерогенов окружающей среды // Успехи совр. биологии. – 1984. – Т. 98. – № 2(5). – С. 177-182.

Худолей В.В. Химические факторы, вызывающие рак (справочник). – СПб.: Изд-во: Русско-Балтийский информационный центр «Блиц», 1993. – 38 с.

Худолей В.В., Мизгирев И.В. Экологически опасные факторы. – СПб: АОЗТ УПФФ, 1996. – 186 с.

Худолей В.В., Плисс Г.В., Шрамм Т. Терминология канцерогенеза в свете современных представлений о механизме действия химических канцерогенов // Экспериментальная онкология. – 1986. – Т. 9. – № 5. – С. 63-65.

Черенькова Т.В. Реакция лесной растительности на промышленное загрязнение. – М.: Наука, 2002. – 191 с.

Чкаников Д.И. Арилгидроксилирование и гликозилирование ароматических ксенобиотиков в растениях // Тез.докл. 5 Всесоюзн. симп. по фенол.соед. – Таллин, 1987. – Секц. биохим. и физиол. – С. 158-159.

Чкаников Д.И., Соколов М.С. Гербицидное действие 2,4-Д и других галоидфенокислот. – М.: Наука, 1973. – 213 с.

Шутова Ю.Г. Анализ экологической опасности аминаоадамантанов // Человек и вселенная. – С-Пб. – 2004. – № 9. – С. 99-103.

Шутова Ю.Г. Экологическая опасность адамантанов и их физико-химические свойства // Вестник Сам. госуниверситета. Естествен. научн. сер. – 2006. – № 7(47). – С. 255-269

Шутова Ю.Г., Артамонова Е.В. Эколого-генетическая опасность последствий воздействия адамантанов на растения / Сб. тр. Обл конф. союза молодых ученых – Самара, 2002. – С.40-42.

Шутова Ю.Г., Курбатова С.В., Васин А.Е. Токсичность адамантанов для *Paramecium caudatum* и их физико-химические свойства. // Сб. научн. тр. «Естествознание и гуманизм». – Томск, 2005. – Т. 2. – № 1. – С. 31.

Эйген М., Шустер П. Гиперцикл. Принципы самоорганизации молекул. – М.: Мир, 1982. – 270 с.

Экология и рак. (Под ред. А.И. Быхорез и Б.А. Рубенчик). – Киев: Наукова думка, 1985. – 256 с.

Экология и токсикология. Сб. материалов IV Пленума правления ВНОТ (декабрь 1990) – Вып. 2. – Ярославль: Изд-во Фонда гражданских инициатив «Содействие», 1990. – 221 с.

Юрин В.М. Основы ксенобиологии. Учеб. пособие. – Мн.: Новое знание, 2002. – 267 с.

Aeschliman J.R., Dresser L.D., Kaatz G.W., Rybak M.J. Effects of NaLA inhibitors on in vitro antibacterial activities and postantibiotic effects to levofloxacin, ciprofloxacin and norfloxacin in genetically related strains of *Staphylococcus aureus*. // Antimicrob Agents Chemother. – 1999. – V. 2 – № 2. – P. 335-340.

Ashby J., Tennant R.W. Chemical structure, *Salmonella* mutagenicity and extent of carcinogenicity as indicators of genotoxic carcinogenesis among 222 chemicals tested in rodents by the U.S. NCI/NTR. // Mutat.Res. – 1988. – V. 204. – P. 17-115.

Au W.W., Anwar W., Paolini M. et. al. Mechanism of clastogenic and co-clastogenic activity of cremophore with benzene in mice // Carcinogenesis. – 1991. – V. 12. – P. 53-57.

Balansky R.M. Comutagenic and coclastogenic effects of selenium *in vitro* and *in vivo* // Mutat. Res. – 1991. – V. 263. – P. 231-236.

Banister P. Monitoring infant population for congenital anomalies: a progress report – In: 4th Intern. Conf. Birth Defects. Vienna. – 1973. – P. 1-15.

Barrat M.D. Prediction of toxicity from chemical structure // Cell Biology and Toxicology. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands. – 2000. – V. 16. – P. 1-123.

Barrat M.D., Basketter D.A., Roberts D.V. Skin sensitization structure activity relationship for phenyl benzoates // *Toxicol in vitro.* – 1994. – V. 8. – P. 823-826.

Basketter D.A., Roberts D.V., Cronin M.T.D., Scholes E.W. The value of the local lymph node assay in quantitative structure activity investigations // *Contact Dermatitis.* – 1992. – V. 27. – P. 137-142.

Basketter D.A., Roberts D.W., Cronin M.T., Scholes D. The value of the local lymph node assay in quantitative structure activity investigation // *Contact Dermatitis.* – 1992. – V. 27. – P. 137-142.

Chamel A. Foliar absorption of herbicides study of the cuticular penetration using isolated cuticles // *Physiol. Veg.* – 1986. – V. 24. – № 4. – P. 491-507.

Cherry R.J., Dodd G.H., Chartman D. Small molecule-lipid membrane interaction and the puncturing theory of olfaction // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1970. – V. 211. – P. 409-416.

Cunha U.S., Reguly M.L., Gimmer Luz M.C. et.al. Co-mutagenic effect of tannic acid on ring-X chromosome loss induced by mitomycin C in sperms cells of *Drosophila melanogaster* // *Mutat. Res.* – 1994. – V. 308. – P. 143-148.

De Flora S., Ramd C. Mechanism of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Classification and overview // *Mutat. Res.* – 1988. – V. 202. – P. 285-306.

Debrath A.K., Hanson C. Structure-activity relationship of some mutagenic nitronaphthofurans // *Environ. Mol. Mutagen.* – 1992. – V. 19. – suppl. 20. – P. 13

de Kruiff B. // *Curr. Opin. Chem.Biol.* – 1997. – Vol. 1. – P. 564-569.

Durner J., Thiel A., Boger P. Phenolic herbicides: correlation between lipophilicity and increased inhibitory sensitivity of thylacoids from higher plant mutants // *Z. Naturforsch.* – 1986. – V. 41. – № 9. – P. 881-884.

Ernsberger P., Graves ME, Graff L.M., Zakieh N., Nguyen P., Collins L.A., Westbrooks K.L., Johnson G.G. H-imidazoline receptors. Definition, characterization, distribution, and transmembrane signaling. / Department

of Medicine, Case Western Reserve School of Medicine – Cleveland // Ann. N-Y. Acad. Sci. – 1995. – Jul 12. – V. 763. – P. 22-42.

Flamm W.G. Genetic diseases in humans versus mutagenicity test system // In: Mutagenesis. – Washington – London. – 1978. – P. 3-8.

Gebhard E., Wagner H., Grziwork K., Behusen H. The action of anti-clastogens in human lymphocyte cultures and their modification by ret liver S9 mix. II. Studies with vitamin C and E // Mutat. Res. – 1985. – V. 149. – P. 83-94.

Goldschmidt G. Theoretische Genetik. – Berlin. Acad. Verlag, 1961. – 371 s.

Grossmann K., Schmidt H.O., Yung Y. Changes in membrane permeability and mineral, phytohormone and polypeptide composition in rice suspension cells during growth and under the influence of growth retardant tetcyclasis // Plant. Cell Rerts. – 1986. – V. 5. – № 5. – P. 315-318.

Grover I.S., Kaur A., Mahajan R.K. Mutageniti of some dye effluents // Nat. Acad. Sci. Lett. – 1996. – V. 19. – № 78. – P. 149-158.

Hansen E. Stottrup. Shared risk factor for cancer and atherosclerosis – a review of the epidemiological evidence // Mutat. Res. – 1990. – V. 239. – P. 163-199.

Hinz R.S., Lorence C.R., Hodson C.D., Hansch C., Hall L.L., Guy R.H. Percutaneous penetration of *para*-substituted phenols *in vitro* // Fundam Appl. Toxicol. – 1991. – V. 17. – P. 575-583.

Johnson S.M., Bangham A.D. The action of anaesthetics on phospholipid membranes // Biochim. Biophys. Acta. – 1969. – V. 193. – P. 92-104.

Knippers R. Molekulare Genetik. – Georg Thieme Verlag Stuttgart-New York, 1997. – 508 S.

Knuutinen J., Wright A. The mutagenicity of Lactarius mushrooms // Mutat. Res. – 1982. – V. 103. – № 2. – P. 115-118.

Kuhler T., Hamzhepour M., Pesiat P. et. al. Characterization of MexE – MexF – OprN, a positively regulated multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa* // Mol. Microbiol. – 1997. – № 23. – P. 345-354.

Kuliev A.M., Modell B. Problems in the control of genetic disorders // Biomed. Sci. – 1990. – V. 1. – № 1. – P. 3-17.

Landley P.D. Mutagens as carcinogens: development of current concepts // *Mutat. Res.* – 1989. – V. 213. – P. 3-26.

Lewin B. Driving the cell cycle: M phase kinase its partners and substrates // *Cell.* – 1990. – V. 61. – № 5. – P. 743-752.

Lix Z., Nikaido H., Poole K. Pole of MexA – MexB – OprM in antibiotic efflux in *Pseudomonas aeruginosa*. // *Antimicrob Agents Chemother.* – 1995. – № 39. – P. 1948-1953.

Mc Can J., Ames B.N. Detection of carcinogens in the Salmonella microsome test: assay of 300 chemicals. II // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* – 1976. – V. 73. – P. 950-954.

Mehra P.N., Dhyman N. Induced meiotic recombination in rootips. I. Effect of purine derivatives // *Cytologia.* – 1986. – V. 51. – № 3. – P. 121-128

Mereto E., Ghia M. Increased frequency of N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine induced nuclear anomalies in the forestomach of rats pretreated with sodium chloride // *Cancer Lett.* – 1995. – V. 65. – P. 233-236.

Mitelman F., Kaneko Y., Trent J. Report of the committee on chromosome changes in neoplasia // *Cytogenet. and cell Genet.* – 1991. – V. 58. – P. 1053-1079.

Moore R.A., De Shazer D., Reckseidler S., Weismann A., Woods D.E. Efflux-mediated aminoglycoside and macrolide resistance in *Burkholderia pseudomallei* // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1999. – V. 43. – № 3. – P. 465-470.

Moustacchi E. Biologie cellulaire et moleculaire de l'anemie de Fanconi // *Med. Sci.* – 1994. – V. 10. – P. 979-985.

Neel J.V. Mutation and disease in man // *Canad.J.Genet.Citol.* – 1978. – V. 20. – P. 295-306.

Nikaido H. Multidrug efflux “pumps” of gram-negative bacteria // *J. Bact.* – 1996. – V. 178. – № 20. – P. 5853-5859.

Norman C. Vietnam's herbicide legacy // *Science.* – 1983. – Vol. 219. – № 4589. – P. 1196-1197.

Potts R.O., Guy R.H. Predicting skin permeability // *Pharm. Res.* – 1995. – V. 9. – P. 663-669.

Rattman S.I.S. DNA damage and repair during cellular aging // Int. Rev. Cytol. – 1989. – V. 116. – P. 47-88.

Ridings J.E., Barrat M.D., Cary R., et. al. Computer prediction toxic action from chemical structure; an update on the DEREK system // Toxicology. – 1997. – V. 106. – P. 267-279.

Roy N.K., Rossman T.G. Mutagenesis and comutagenesis by lead compounds // Mutat. Res. – 1992. – V. 298. – P. 97-103.

Scheid W., Traut H. Kalziumantagonisten als Wirkverstärker der Mutagenität von Zytostatika // Wien Med. Wochenschr. – 1993. – V. 143. – P. 522-526.

Scheid W., Weber J., Rottgers U., Traut H. Enhancements of the mutagenicity of anticancer drugs by the calcium antagonists verapamil and fendiline // Arzneimittelforschung. – 1991. – V. 41. – P. 901-904.

Shahin M.M. Relationships between structure and mutagenic activity of environmental chemicals // Mutat. Res. – 1987. – V. 181. – P. 243-256.

Siegel M. The Plant Cell Wall. – Oxford: Pergamon Press, 1968. – 365 p.

Silverberg E. Cancer statistics // Cancer J. Clin. – 1977. – № 27. – P. 1-46.

Smith K.C. Spontaneous mutagenesis: experimental genetic and other factors // Mutat. Res. – 1992. – V. 277. – P. 139-162.

Sugiama M., Tsuzuki K., Lin X., Costa M. Potentiation of sodium chromate (VI) – induced chromosomal aberrations and mutation by vitamin B₂ in Chinese hamster V 79 cells // Mutat. Res. – 1992. – V. 283. – P. 211-214.

SurrIDGE I.F. Genetic effects of amphetamine salt feeding in *Drosophila* // Ckin. Toxicology. – 1972. – V. 341. – P. 169-184.

Tristram H., Neal S. The activity and specificity of the proline permease in wild-type and analogue-resistant strain of *Escherichia coli* // J. Gen. Microbiol. – 1968. – № 56. – P. 121.

Waddington C.H. Canalization of development and the inheritance of acquired characters // Nature. – 1942. – V. 150. – P. 563-565.

Weber A., Lüttige U. The effect of herbicide sethoxydim on transport process in sensitive and tolerant grass species. II. Effects on membrane-

bound redox systems in plant cell // *Naturforsch.* – 1988. – V. 48. – № 3-4. – P. 257-263.

Wilson D.M., Tentler J.J., Carney J.P. et al. Acute ethanol exposure suppresses the repair of O-6-methylguanine DNA lesions in castrated adult male rats // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 1994. – V. 18. – P. 1267-1271.

Worthing C. *The Pesticide Manual: A Word Compendium.* – Malvern (England): British Crop Protection Council; USA: State Mutual Books, 7th edn., 1983.

Yannada H., Miyahara T., Sasaki Y.F. The organic cadmium increases the frequency of chemically induced chromosome aberrations in cultured mammalian cells // *Mutat. Res.* – 1993. – V. 302. – P. 137-145.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Введение.....	4
Глава 1. Токсичность и токсиканты.....	9
Глава 2. Канцерогенность и канцерогены.....	32
Глава 3. Тератогенез.....	45
Глава 4. Мутагенность и мутагены.....	61
Глава 5. Ксенобиотики и их трансформация в организме.....	79
Глава 6. Клеточные мембраны как фактор, влияющий на биологическую активность ксенобиотика.....	100
Глава 7. Токсичность и строение химических веществ.....	115
Глава 8. Физико-химические свойства ксенобиотиков и индуцируемые ими биологические ответы, связанные с изменением информации.....	138
Заключение.....	159
Список литературы.....	162