

МОЛЕКУЛЯРНО–БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГАСТРОКАНЦЕРОГЕНЕЗА И ПОДХОДЫ К ПРОФИЛАКТИКЕ РАКА ЖЕЛУДКА

© 2000 г.

Ю. В. БУКИН,

В. А. ДРАУДИН–КРЫЛЕНКО

*НИИ канцерогенеза Российского онкологического научного
центра им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва*

I. Введение. II. Современные представления о механизмах гастроканцерогенеза у человека: роль *Helicobacter pylori*, свободных радикалов и N–нитрозосоединений. III. Роль орнитиндекарбоксилазы. IV. Лечебно–профилактическое действие природных антиоксидантов при гастроканцерогенезе и предопухоловой патологии слизистой оболочки желудка. V. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Рак желудка в структуре злокачественных новообразований в России [4, 7] и в мире, в целом [88], занимает второе место по частоте заболеваемости и смертности. Хотя в большинстве стран в основных возрастных группах в последние десятилетия наблюдается постепенное снижение частоты заболевания раком желудка, абсолютный мировой показатель (755000 новых случаев в год) практически не меняется, что объясняется, в основном, удлинением сроков жизни (старением популяций в развитых странах) и свидетельствует о том, что рак желудка будет оставаться серьезной социальной и медицинской проблемой.

Россия, Китай, Япония, страны Латинской Америки, в особенности некоторые регионы этих стран, отличаются высокими показателями заболеваемости раком желудка (60—170 случаев на 100 тыс. населения в год [4, 7, 9, 19, 88, 128]). В Москве в настоящее время раком желудка заболевает в год около 3,5 тыс. человек; в США

Принятые сокращения: ОДК — орнитиндекарбоксилаза; ДФМО — α -диформетилорнитин; TGF- β_2 — трансформирующий фактор роста β_2 ; ПКС — протеинкиназа С.

в последние 15 лет ежегодно заболевает раком желудка не более 14 тыс. человек [88]. Несмотря, однако, на столь низкую заболеваемость, рак желудка является серьезной проблемой и в США, т.к. 5-летняя выживаемость больных после поставленного диагноза и адекватного оперативного и медикаментозного лечения не превышает, как правило, 14—20% [46, 122]. В последние годы в Японии, благодаря успехам в раннем выявлении и удалении формирующейся в желудке раковой опухоли, шанс излечения существенно возрос [97], но, в целом, рак желудка остается онкологическим заболеванием с плохим прогнозом, и основным стратегическим направлением в борьбе с этим заболеванием является его профилактика.

Более 97% всех случаев рака желудка относится к аденокарциномам [41], гистологическая структура которых имеет черты, присущие эпителию кишечника. Различают «интестинальный» тип рака желудка и «диффузный» [62]. В первом случае злокачественные клетки образуют компактные железистые опухоли; во-втором — злокачественные клетки рассеяны в слизистой оболочке и не образуют единого конгломерата из-за утраты специфических белков, обеспечивающих адгезию клеток [105]. Диффузная карцинома характерна для стран с низкой заболеваемостью раком желудка; наиболее распространенная интестинальная форма, о которой пойдет речь, превалирует в странах с высокой частотой заболеваемости и зависит от воздействия многочисленных факторов внешней среды [41]. Обширный материал, собранный эпидемиологами, свидетельствует о том, что рак желудка является по своей природе полиэтиологическим заболеванием, причем в различных странах набор и удельный вес отдельных факторов, провоцирующих заболевание, могут существенно различаться. В равной мере это может относиться и к факторам, защищающим от заболевания раком желудка. Общепризнанным защитным фактором в отношении этого заболевания является обильное потребление свежих овощей и фруктов, которое, по данным 24 независимых эпидемиологических исследований, снижает риск заболевания раком желудка более чем в 2 раза [41]. Высокое содержание в пищевом рационе и повышенное содержание в плазме крови аскорбиновой кислоты, β -каротина, витамина Е и селена также ассоциируется с пониженным риском заболевания раком желудка [8,41].

С другой стороны, низкий социально-экономический статус, частое потребление соленых, маринованных и копченых продуктов, воздействие радиации, алкоголь и курение ассоциируются с повышенным риском заболевания раком желудка [8, 28, 41]. Курение, например, повышает риск заболевания раком желудка, в среднем,

в 1,5 раза и является ежегодно причиной 80 тыс. новых случаев заболевания [113]. Высокое содержание в почве, воде и овощах нитратов — предшественников нитритов и образующихся в желудке канцерогенных N–нитрозосоединений — также существенно повышает риск заболевания раком желудка, особенно при недостатке в пищевом рационе аскорбиновой кислоты и витамина E, которые блокируют интрагастральный синтез нитрозаминов и нитрозамидов [2, 32, 70, 72, 125]. Предшественники генотоксичных нитрозоиндолов обнаруживаются, как правило, в продуктах питания, часто используемых в популяциях с высоким риском заболевания раком желудка [30, 121, 126]. В последние годы была выявлена исключительно важная этиологическая роль *Helicobacter pylori* в заболевании раком желудка. Инфицируя желудок, эта специфическая бактерия во многих случаях постепенно вызывает формирование начальных предопухолевых изменений слизистой оболочки желудка — метаплазии тонкокишечного типа [1, 30, 37, 52, 55, 61, 95] и резко повышает риск заболевания раком желудка. Как показали детальные исследования Корреа [29, 30], формирование интестинального рака желудка закономерно протекает через ряд последовательных дискретных морфологических стадий: поверхностный гастрит, атрофический гастрит, метаплазия тонкокишечного типа, метаплазия толстокишечного типа, прогрессирующая дисплазия и рак *in situ*, завершающийся инвазивным раком. Указанный процесс охватывает обычно период в 20–30 лет [29], что, в принципе, предоставит достаточно времени для заблаговременного выявления опасности и принятия адекватных профилактических мер. Как будет показано ниже, успехи в изучении этиологии рака желудка и выяснении некоторых молекулярно–биологических механизмов гастроканцерогенеза позволяют сегодня подойти к разработке практических мер, направленных на профилактику этого заболевания.

II. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ ГАСТРОКАНЦЕРОГЕНЕЗА У ЧЕЛОВЕКА: РОЛЬ *H. PYLORI*, СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ И N–НИТРОЗОСОЕДИНЕНИЙ

Среди экзогенных факторов гастроканцерогенеза особое внимание привлекает специфическая граммотрицательная, оснащенная жгутиками бактерия, *H. pylori*, выделенная в 1989 г. в самостоятельный вид на основании ряда биохимических признаков и гомологии нуклеотидных последовательностей в 16S рибосомальной РНК [55, 63]. Благодаря наличию жгутиков *H. pylori* может

проникать в слизь и далее в толщу эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка, избегая бактерицидного действия соляной кислоты. Активная уреазы, продуцируемая *H. pylori*, также способствует выживанию этой бактерии в кислой среде; при разложении мочевины уреазой образующийся аммиак нейтрализует кислоту вокруг бактерии и создает для нее благоприятное микроокружение. Токсические штаммы *H. pylori* нередко вызывают при инфицировании желудка остро и болезненно протекающий хронический гастрит, который может сопровождаться рецидивирующими язвами, а также постепенным развитием атрофических изменений в слизистой оболочке желудка и формированием предопухоловой патологии. Но зачастую тяжелый патологический процесс субъективно протекает при минимальных симптомах, которые больные склонны игнорировать.

Постулируемый механизм начальных стадий гастроканцерогенеза в схематическом виде представлен на рис. 1. Некоторые биохимические особенности и молекулярные механизмы патологического процесса изложены в тексте.

Инфицируя слизистую оболочку желудка, *H. pylori* индуцирует в ней каскад патобиохимических процессов, активирующих апоптоз и ведущих к формированию атрофического гастрита, предопухоловых изменений и раку желудка. Штаммы *H. pylori*, продуцирующие цитотоксические белки VacA и CagA [17, 33, 35, 42], вызывают эрозию слизистой и угнетение функции или потерю желез, секретирующих соляную кислоту [96], чему способствует и токсическое действие аммиака — продукта разложения мочевины активной уреазой *H. pylori* [39]. Указанные выше штаммы *H. pylori* активируют также экспрессию в организме хозяина цитокинов (интерлейкинов 1 α , 1 β и 8), провоцирующих хроническое воспаление слизистой [36, 89], избыточное образование простагландина E [84] и повышенную пролиферативную активность клеток [31], что делает их более чувствительными к воздействию канцерогенов. Повышенную чувствительность клеток к канцерогенам вызывает также разрушение гелеобразной слизи, покрывающей эпителий, и повреждение клеточных мембран эпителия ферментами, продуцируемыми *H. pylori* [47]: гликосульфатазой, протеазами, фосфолипазами A и C, кислой и щелочной фосфатазами.

Инфицирование желудка *H. pylori* вызывает в качестве ответной реакции организма миграцию полиморфноядерных лейкоцитов и макрофагов из стромы в просвет желудка, что приводит к их тесному контакту с эпителиальными клетками, а их гибель («внеплановый фагоцитоз») — сопровождается «оксидативным взрывом»: освобож-

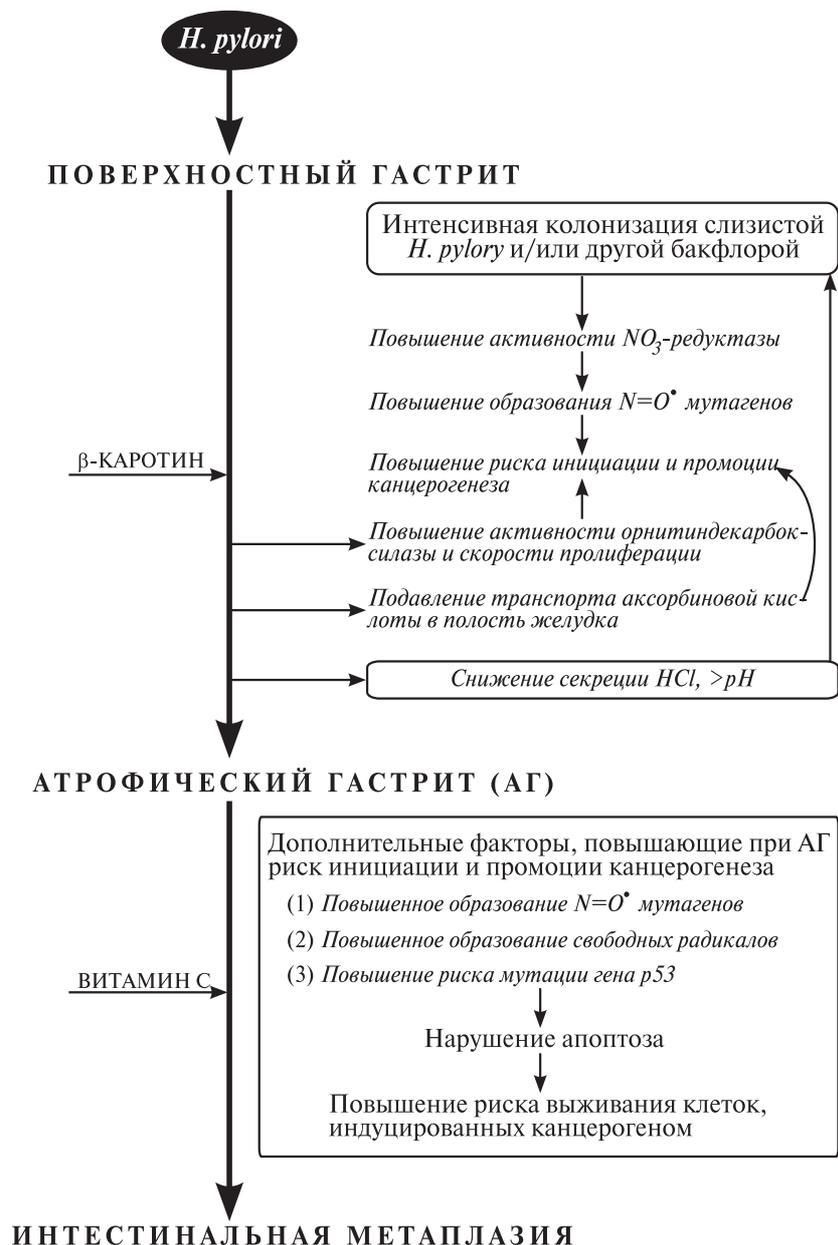


Рис. 1. Механизм начальных стадий гастроканцерогенеза, индуцируемый *H. pylori*.

дением и образованием целого спектра свободнорадикальных генотоксических и канцерогенных соединений [31, 67], к числу которых относятся супероксидный анион ($O_2^{\cdot-}$), окись азота (NO^{\cdot}), гидроксильные радикалы, пероксинитрит, ионы нитрозония и нитрит — предшественник канцерогенных N—нитрозосоединений.

Чрезвычайно короткое время жизни ряда свободных радикалов, измеряемое микро— или наносекундными интервалами, затрудняет детальное описание динамической картины локального оксидативного стресса и молекулярных биологических процессов, которые ему сопутствуют. Тем не менее, основные реакции и механизмы повреждения клеточных структур достаточно ясны. К числу ключевых событий, способствующих развитию оксидативного стресса, относится экспрессия в полиморфноядерных лейкоцитах и макрофагах, атакующих *H. pylori*, индуцируемой формы NO^{\cdot} —синтазы (КФ 1.14.13.39 [67]). Фермент осуществляет 5—электронное окисление L—аргинина в L—цитруллин кислородом, используя в качестве кофакторов НАДФН, ФАД, ФМН, протопорфирин, тетрагидробиоптерин и калмодулин [40]. Индукция NO^{\cdot} —синтазы в клетках млекопитающих осуществляется вследствие активации транскрипции гена, кодирующего этот фермент, под влиянием комбинированного воздействия интерлейкина—1 β , интерферона— γ и транскрипционного фактора NF— κ B [81, 106]. Экспрессия индуцируемой формы NO^{\cdot} —синтазы является результатом транслокации из протоплазмы в ядро транскрипционного фактора NF— κ B, который освобождается в цитоплазме в результате диссоциации связанного с ним ингибитора I κ B [11]. Образование активной формы этого транскрипционного фактора ($NF-\kappa B-I\kappa B \rightarrow NF-\kappa B + I\kappa B$) может происходить под воздействием различных стимулов, включающих активные формы кислорода, перекиси липидов, липополисахариды клеточной оболочки бактерий, физические факторы (радиация, УФ—свет), форсколин, дибутирил ц—АМФ, цитокины (интерлейкины — 1 α и β , интерферон— γ , лейкотриен В), митогены (форболовые эфиры, диацилглицерол) и другие соединения [11, 76]. Интересно, что многие агенты, вызывающие образование активной формы NF— κ B, вызывают в клетке образование активных форм кислорода [11], которые, возможно, играют роль истинных активаторов NF— κ B, являясь своеобразными катализаторами оксидативного стресса, способствуя экспрессии индуцируемой формы NO^{\cdot} —синтазы.

В процессе «оксидативного взрыва» полиморфноядерные лейкоциты и макрофаги образуют не только NO^{\cdot} , но и анион супероксида ($O_2^{\cdot-}$), который генерирует НАДФН—оксидаза [75]. При взаимодействии избытка супероксида с NO^{\cdot} образуется анион пероксинитрита (реакция 1 [14]):



Время жизни аниона пероксинитрита при 37 °С и рН 7,4 составляет приблизительно 1 сек [14, 93], а радикала NO^\cdot — от 1 до 10 сек [102], что позволяет этим соединениям диффундировать на значительные расстояния и активно участвовать в окислении липидов мембран, белков и химической модификации ДНК расположенных рядом эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка.

Не исключено, что истинным окислительным агентом при образовании пероксинитрита служит анион нитрокарбоната, являющийся конечным продуктом взаимодействия пероксинитрита с CO_2 в реакции 2 [75, 94]:



Полагают, что процесс канцерогенеза, вызванный хроническим воспалением, обусловлен хроническим воздействием пероксинитрита (или указанного выше аниона нитрокарбоната), которые являются мутагенами, повреждающими ДНК [64]. Пероксинитрит окисляет остатки гуанина в ДНК с образованием нитрогуанина, который, в свою очередь, подвергается быстрой депуринизации с образованием в ДНК потенциально мутагенных апуриновых сайтов [119, 127]. Пероксинитрит вызывает также повреждение химической структуры ДНК путем образования 8-гидроксидезоксигуанозина [56].

Ряд специфических механизмов повреждения ДНК могут быть результатом реакции NO^\cdot с O_2 [58]; образующиеся продукты аутоокисления NO^\cdot могут дезаминировать в ДНК остатки оснований цитозина, 5-метилцитозина, гуанина и аденина с образованием измененных оснований урацила, тимина, ксантина и гипоксантина, соответственно [78, 123]. Промежуточные продукты, образующиеся при дезаминировании оснований, могут служить также объектами атаки расположенных рядом нуклеофильных центров, что приводит к возникновению как перекрестных связей в ДНК, так и перекрестных связей между ДНК и белками [60]. Свободный радикал окиси азота (NO^\cdot , генерируемый NO^\cdot -синтазой) может оказывать прямое повреждающее действие на структуру ДНК, окисляя ее основания, гидроксилируя метильную группу тимина и превращая гуанин в его 8-оксипроизводное [109]. Несколько мутационных механизмов было предложено для объяснения химической модификации ДНК и мутагенеза, обусловленного ионом нитрита (NO_2^-) — продуктом окисления NO^\cdot [49].

Нарушение химической структуры ДНК может быть также результатом реакций продуктов аутоокисления NO^\cdot с низкомолекулярными аминами, амидами и мочевиной, приводящими к образованию N–нитрозосоединений, способных алкилировать ДНК [71, 108]. Например, нитрозирование диметиламина генерирует мощный канцероген — N–нитрозодиметиламин, который после метаболической активации с участием цитохрома P450 превращает остатки гуанина в ДНК в остатки O^6 –метилгуанина, который при репликации ДНК образует пары преимущественно с тиминном. Это ведет к замене в дочерних клетках пар G : C на пары A : T, т. е. к точечной мутации, которая, как полагают, является важным иницирующим фактором в канцерогенезе, индуцируемом N–нитрозодиметиламином.

Таким образом, оксидативный стресс, провоцируемый *H. pylori*, уже на ранних стадиях хронического гастрита создает серьезную опасность генетических мутаций и инициации гастроканцерогенеза.

С развитием атрофии острота патологического процесса нарастает (см. рис. 1). Гипохлоргидрия приводит к значительно более интенсивному развитию в желудке бактериальной флоры. Наличие в бактериях редуктазы, катализирующей превращение нитратов в нитриты, способствует повышенному образованию в желудке канцерогенных N–нитрозосоединений. Резкое снижение содержания аскорбиновой кислоты в желудочном соке (в результате нарушения процесса активной ее секреции из крови и повышенной скорости разрушения при высоких значениях pH [98]) служит дополнительным фактором, благоприятствующим синтезу N–нитрозосоединений. Избыточное образование генотоксических свободнорадикальных и канцерогенных соединений повышает в этих условиях вероятность мутации супрессорного гена *p53*, контролирующего апоптоз, а это, в свою очередь, повышает вероятность выживания клеток, иницированных сублетальными дозами канцерогена, которые способны в процессе воздействия промоторов и последующих фенотипических изменений дать начало злокачественному клону. Мутация гена *p53* выявлена иммуногистохимическим методом при метапластических изменениях и дисплазии слизистой оболочки желудка [110], но, по предварительным данным [34], может происходить и на более ранних стадиях гастроканцерогенеза в результате тесного контакта полиморфноядерных лейкоцитов и макрофагов, генерирующих NO^\cdot , с делящимися клетками эпителия.

Как известно, свободные радикалы играют важную роль как в инициации канцерогенеза (вызывая химическую модификацию ДНК), так и на уровне длительно протекающей стадии промоции опухолевого роста, когда инициированная клетка постепенно приобретает фенотипические черты злокачественных клеток [26, 39]. Косвенным подтверждением патогенетической роли свободных радикалов в механизме гастроканцерогенеза служат эпидемиологические наблюдения [114, 117] о повышенном риске гастроканцерогенеза при относительном дефиците в организме природных антиоксидантов, обезвреживающих свободные радикалы [45, 103]. Так, по данным японских авторов, дефицит в организме β -каротина резко повышает риск развития атрофического гастрита [114], а по данным европейской группы исследователей дефицит аскорбиновой кислоты ассоциируется с повышенным риском формирования интестинальной метаплазии [117] — предопухолевой патологии, которая постепенно формируется на фоне атрофического гастрита.

Не исключено, что при инфицировании желудка *H. pylori* инициация гастроканцерогенеза (химическая модификация ДНК, достаточная для последующего превращения клетки в злокачественную под воздействием промоторов) происходит на самых ранних стадиях развития патологического процесса, так как генетические мутации отмечаются в эпителиальных клетках слизистой оболочки желудка уже на уровне поверхностного гастрита [34] и предшествуют интестинальной метаплазии. Процесс промоции канцерогенеза, вслед за его инициацией, может наблюдаться, по-видимому, уже на фоне атрофического гастрита, до появления первых морфологических признаков злокачественного перерождения клеток, причем, как будет показано ниже, важную функциональную роль в процессе промоции гастроканцерогенеза играет протоонкоген орнитиндекарбоксилаза (ОДК; КФ 4.1.1.17.).

III. РОЛЬ ОРНИТИНДЕКАРБОКСИЛАЗЫ

Пиридоксаль-5'-фосфат-зависимый фермент ОДК катализирует превращение L-орнитина в путресцин — первая реакция, лимитирующая скорость биосинтеза полиаминов, индуцированное образование которых, вызывая волну конформационных изменений в структуре макромолекул, контролирует пролиферативную активность клеток и их дифференцировку [50, 90]. В покоящихся клетках активность ОДК чрезвычайно низка, но под влиянием физиологических пролиферативных стимулов активность этого индуцируемого фермента кратковременно резко возрастает, что

обеспечивает переход клеток из фазы G1 в фазу S клеточного цикла. В отличие от воздействия нормальных физиологических стимулов, канцерогены, промоторы опухолевого роста и некоторые онкогены вызывают в клетке резкое конститутивное повышение активности ОДК, которая в этих условиях функционирует как онкоген [27, 91, 99]. Альтернативная роль протоонкогена ОДК в клеточных функциях отражена на рис. 2. В культуре клеток методами молекулярной генетики было показано, что конститутивная суперэкспрессия ОДК на уровне транскрипции гена ОДК или на уровне трансляции специфической мРНК ОДК ведет к злокачественной трансформации клеток, а введение этих клеток животным вызывает рост опухолей [12, 74, 99]. Фенотипические признаки злокачественной трансформации, возникающие *in vitro* при суперэкспрессии ОДК,

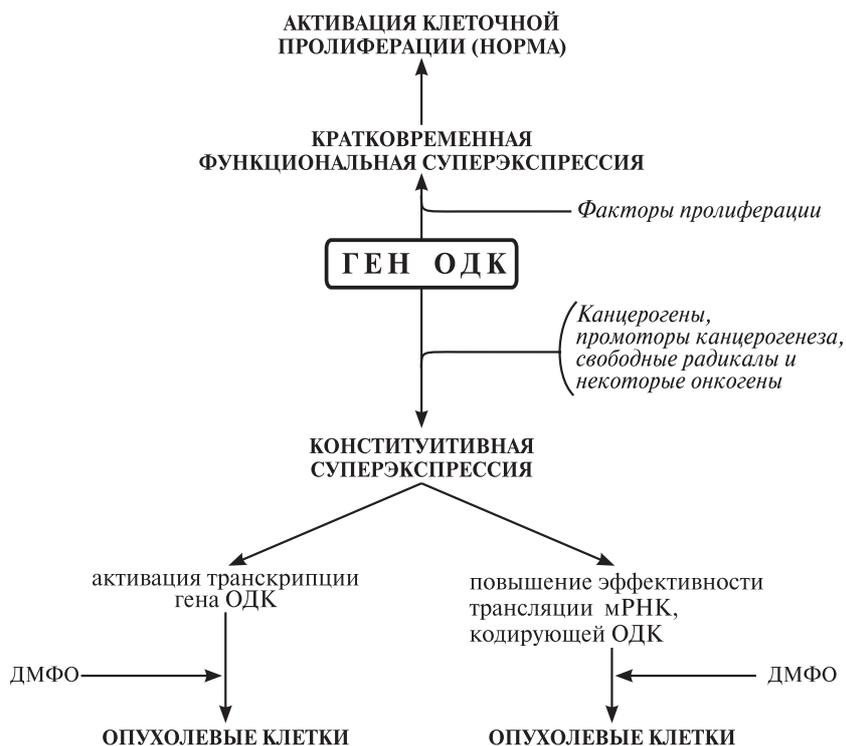


Рис. 2. Онкогенный потенциал орнитиндекарбоксилазы (ОДК): роль фермента в процессах пролиферации и канцерогенеза.

ДМФО – α -диформетилорнитин, ингибитор ОДК.

могут быть предотвращены или обращены под воздействием α -диформетилорнитина (ДФМО) — специфического ингибитора ОДК необратимого действия [53, 99].

В опытах *in vivo* при экспериментальном канцерогенезе конститутивная суперэкспрессия ОДК в тканях-мишенях наблюдается при воздействии промоторов опухолевого роста, которые применяются после введения животным иницирующей дозы канцерогена. Механизм конститутивной суперэкспрессии ОДК изучен недостаточно и зависит, возможно, от кооперативного воздействия целого ряда факторов. Не исключено, что активация транскрипции гена ОДК (как и гена индуцируемой формы NO-синтазы) осуществляется под воздействием транскрипционного фактора NF- κ B. Как известно, белки семейства NF- κ B участвуют в контроле клеточной пролиферации [11], к которой ОДК имеет самое непосредственное отношение. Примечательно, что в культуре клеток и активность фактора NF- κ B, и экспрессия ОДК стимулируются свободными радикалами, а блокируются антиоксидантами [11, 116]. Возможно, однако, что воздействие транскрипционного фактора NF- κ B на экспрессию ОДК носит опосредованный характер. Под влиянием NF- κ B экспрессируется, например, протоонкоген *c-mic* [11], вызывая в культуре фибробластов независимую от факторов роста экспрессию гена ОДК, который является транскрипционной мишенью *c-mic* [15, 120]. Семейства белков NF- κ B, активируемые свободными радикалами, через внутриклеточные сигнальные системы индуцируют экспрессию и других протоонкогенов, таких как *c-fos* и *c-jun* [38, 80, 112], которые также трансактивируют ОДК [124]. Онкогены *k-ras* и *Ha-ras* (опосредовано через трансформирующий фактор роста β 2 [TGF- β 2]) также провоцируют экспрессию ОДК, активируя транскрипцию гена ОДК [54, 124]. Высказывается предположение, что в трансформированных клетках, утративших контроль со стороны факторов роста, ОДК занимает центральное место во взаимодействующих сигнальных путях многих онкогенов [87]. В последнее время была установлена функциональная связь между индукцией ОДК и протеинкиназой С (ПКС); в культуре кератиноцитов при воздействии 200 мкМ H₂O₂ индукция ОДК и ПКС полностью подавлялась кальфостином — ингибитором ПКС [85]. Более подробные исследования показали, что медиатором при индукции ОДК прооксидантами может служить изоформа протеинкиназы С — ПКС- σ [124]. С другой стороны было показано, что суперэкспрессия ОДК в культуре мышечных клеток Balb/МК вызывает конформационные изменения в структуре цитоплазматиче-

ческой серин/треонин—протеинкиназы СК2, что приводит к ее активации, транслокации в ядро и, возможно, к участию в злокачественной трансформации клеток [101]. Трансформирующий эффект суперэкспрессии ОДК в культуре клеток молочной железы человека ассоциируется с важной ролью *src*, активацией ряда сигнальных путей и процессов транскрипции. Таким образом, транскрипционные механизмы, ответственные за суперэкспрессию ОДК, и молекулярные кооперативные механизмы злокачественной трансформации клеток, индуцируемые суперэкспрессией ОДК, являются достаточно сложными, мало изученными и потребуют серьезных усилий для их расшифровки.

Механизм конститутивной суперэкспрессии ОДК, обусловленной активацией трансляции специфической мРНК, изучен относительно хорошо. Специфическая мРНК ОДК в большинстве клеток транслируется с низкой эффективностью по двум причинам: из—за присутствия в этой мРНК небольшой открытой рамки считывания, наличие которой, по—видимому, вызывает отделение рибосомы от мРНК перед достижением иницирующего кодона для ОДК, а, во—вторых, из—за экстенсивной вторичной структуры 5'—нетранслируемого участка мРНК, имеющего более 300 оснований [72, 78]. Было найдено, что экспрессия в клетке факторов инициации eIF—4В и eIF—4Е, в 30—100 раз ускоряет трансляцию мРНК ОДК, участвуя в образовании иницирующего комплекса мРНК с рибосомальной субъединицей 48S [68]. Эти данные свидетельствуют, что суперэкспрессия ОДК в некоторых злокачественных клетках и опухолях может являться результатом повышенной скорости трансляции специфической мРНК.

Следует отметить, что *in vivo* конститутивная суперэкспрессия ОДК в тканях—мишенях играет критическую роль в промоции опухолевого роста. Активность промоторов определяется степенью их способности индуцировать ОДК [53, 83]. В многочисленных опытах на животных было показано, что при химическом канцерогенезе ДФМО, блокирующий ОДК, подавляет развитие опухолей ротовой полости, желудка, толстого кишечника, мочевого пузыря, молочной железы и кожи [59]. Специфическая роль ОДК в промоции опухолевого роста была продемонстрирована недавно на трансгенных мышах, которые начинают экспрессировать высокую активность ОДК на 12—й день после рождения [82]. В этой модели двустадийного канцерогенеза процесс промоции опухолевого роста, после инициации канцерогенеза единичной низкой дозой кан-

церогена, не требовал дополнительных аппликаций 12—О—тетрадеcanoилфорбол—13—ацетата в качестве промотора, а зависел лишь от времени суперэкспрессии ОДК.

В клинике аномально высокая активность ОДК была выявлена при предопухолевых изменениях слизистой оболочки пищевода [44] и толстого кишечника [65, 92]. По нашим данным [3, 23, 25], активность ОДК ступенчато повышается в слизистой оболочке желудка при патологическом процессе, ведущем к предопухолевым изменениям и раку (табл. 1). Примечательно, что у некоторых пациентов активность ОДК при атрофическом гастрите столь же высока, как и при предопухолевой патологии, когда процесс промоции гастроканцерогенеза очевиден. Эти данные свидетельствуют, что показатели весьма высокой активности ОДК при атрофическом гастрите могут служить ранним биохимическим маркером процесса промоции гастроканцерогенеза, предшествующим появлению морфологических предопухолевых изменений слизистой оболочки желудка.

Ранее было показано [20], что ДФМО вызывает резкое подавление активности ОДК в слизистой оболочке желудка у крыс при суперэкспрессии фермента под влиянием N—метил—N'—нитро—N—нитрозогуанидина — специфического канцерогена, вызывающего у животных рак желудка. Однако время полужизни ОДК в

Таблица 1
Активность орнитиндекарбоксилазы в антральном отделе желудка на различных стадиях патологического процесса, ведущего к развитию рака желудка интестинального типа

Стадии формирования рака желудка	Активность ОДК, единицы*	
	значения $\bar{X} \pm SD$	границы индивидуальных колебаний
Нормальная слизистая оболочка	7,2 ± 1,8	4,2 ÷ 11,9
Поверхностный гастрит	22,7 ± 5,9	14,3 ÷ 39,5
Хронический атрофический гастрит	51,4 ± 5,6	30,4 ÷ 108,0
Метаплазия тонкокишечного типа	56,1 ± 8,0	39,5 ÷ 90,8
Метаплазия толстокишечного типа	58,3 ± 11,4	42,6 ÷ 92,3
Умеренная или тяжелая дисплазия	78,2 ± 14,4	54,3 ÷ 125,9
Аденокарцинома	107,0 ± 16,7	75,6 ÷ 166,5

* Здесь и в других таблицах за 1 единицу активности ОДК принято образование 1 пмоль $^{14}CO_2$ /час/мг белка [23].

тканях млекопитающих не превышает 20 мин [50]; по этой причине эффективное подавление каталитической активности ОДК требует в эксперименте частого введения ДФМО в течение продолжительного периода. Естественно, что в клинических условиях использование ДФМО для блокирования ОДК в целях длительного антипромоторного действия представляется малоперспективным. Более реальным оказался опосредованный путь коррекции аномально высокой активности ОДК, связанный не с блокированием каталитического центра фермента, а с подавлением суперэкспрессии ОДК. Такого рода подход был реализован в исследованиях, в которых для подавления конститутивной суперэкспрессии ОДК были использованы природные антиоксиданты [6, 24, 25]. Использование антиоксидантов диктовалось сведениями о важной роли прооксидантов и свободных радикалов в механизме действия промоторов опухолевого роста [26, 39] и в механизме гастроканцерогенеза [31, 67].

IV. ЛЕЧЕБНО–ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ ПРИ ГАСТРОКАНЦЕРОГЕНЕЗЕ И ПРЕДОПУХОЛЕВОЙ ПАТОЛОГИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА

Эффективность природных антиоксидантов в качестве антипромоторов гастроканцерогенеза и лечебных средств при предопухоловой патологии слизистой оболочки желудка у человека была выявлена в последние годы в совместных исследованиях биохимиков Института канцерогенеза, гастроэнтерологов Отдела эндоскопии и морфологов Отдела патологической анатомии опухолей человека НИИ клинической онкологии Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН [3, 5, 6, 20, 20а, 21–25].

В ходе этой работы было проведено несколько плацебо–контролируемых интервенционных исследований, выполненных двойным слепым методом. В качестве природных антиоксидантов использовались, в основном, β -каротин и витамин Е, которые назначались больным ежедневно в течение 3–12 мес. Объектом исследования служили больные хроническим мультифокальным атрофическим гастритом с признаками ранней предопухоловой патологии (метаплазией тонкокишечного типа) и аномально высокой активностью ОДК в слизистой оболочке желудка. В случае инфицированности *H. pylori* больные подвергались специфической антибактериальной терапии и включались в исследование только

после полного излечения от этой инфекции. Оценка потенциального онкопрофилактического действия природных антиоксидантов базировалась на определении их воздействия на промежуточные биомаркеры гастроканцерогенеза на биохимическом и клеточном уровнях. Биохимическим маркером служила активность ОДК; активность фермента определялась микрорадиоизотопным методом [23] в нескольких биоптатах слизистой оболочки, взятых из антрального отдела желудка, где чаще всего развивается патологический процесс. Другая серия биоптатов (не менее 4–х) служила морфологам для параллельного изучения на клеточном уровне признаков ранних предопухолевых изменений — наличия бокаловидных клеток, клеток Панета и несекретирующих столбчатых клеток метапластического эпителия, имеющих кайму из микроворсинок. Указанные исследования, как и наблюдения за общим состоянием слизистой оболочки желудка при гастроскопии с использованием эндоскопической системы Evis-100 (Olympus, Япония), проводились до и многократно после назначения больным антиоксидантов, содержание которых контролировалось в плазме крови методом ВЭЖХ [79] на хроматографе HP-1090M (Hewlett-Packard, США).

Предварительные данные, полученные при назначении больным в течение 3–х месяцев различных дозировок β -каротина и витамина E, показали, что β -каротин в ежедневной дозе 10 или 20 мг, а также d- α -токоферол в ежедневной дозе 400 МЕ вызывают статистически

Таблица 2
Влияние β -каротина и витамина E на аномально высокую активность орнитиндекарбоксилазы в слизистой оболочке желудка при атрофическом гастрите, сопровождаемом метаплазией тонкокишечного типа (больные получали антиоксиданты в указанных дозах ежедневно в течение 3–х месяцев)

Группа	Антиоксидант и его доза; в скобках число больных (n)	Активность ОДК		
		единицы $\bar{X} \pm SD$		снижение активности в % и ее достоверность
		исходная	через 3 месяца	
I	β -Каротин, 20 мг (n = 20)	57,8 \pm 4,9	31,2 \pm 6,3	46; p < 0,01
II	β -Каротин, 10 мг (n = 12)	54,1 \pm 3,2	29,7 \pm 4,2	45; p < 0,01
III	dI- α -Токоферилацетат, 50 МЕ (n = 20)	53,9 \pm 4,7	47,1 \pm 4,0	13; p > 0,05
IV	d- α -Токоферол, 50 МЕ (n = 18)	55,1 \pm 7,2	46,4 \pm 5,5	16; p > 0,05
V	d- α -Токоферол, 400 МЕ (n = 18)	56,6 \pm 6,3	31,9 \pm 6,1	44; p < 0,01
	Плацебо к группам I–IV (n = 20)	52,7 \pm 5,5	51,6 \pm 4,0	3; p > 0,05
	Плацебо к группе V (n = 18)	58,4 \pm 4,7	60,4 \pm 5,1	-3; p > 0,05

достоверное снижение аномально высокой активности ОДК в слизистой оболочке желудка на 44—46% по сравнению с исходным уровнем (табл. 2) [6, 22, 23].

Значительное подавление суперэкспрессии ОДК при предопухоловой патологии желудка сравнительно высокими дозами β -каротина и витамина Е указывает на их выраженное антипромоторное действие, которое может блокировать процесс гастроканцерогенеза или замедлять скорость патологического процесса, отодвигая, возможно, сроки образования опухоли за границы реальной продолжительности жизни. Следует отметить, однако, что при назначении больным антиоксидантов в течение 3-х месяцев на фоне существенного снижения активности ОДК морфологических изменений предопухоловой ткани при гистологическом анализе биоптатов выявлено не было.

На следующем этапе исследований влияние высоких доз β -каротина и витамина Е на активность ОДК и характер гистологических изменений при метаплазии тонкокишечного типа было изучено при более длительных сроках интервенции. Как следует из данных, представленных в табл.3, при назначении больным плацебо в течение года, заметной динамики в содержании β -каротина в плазме крови, в активности ОДК и в частоте предопухоловой патологии не отмечалось. Напротив, назначение больным в течение года β -каротина в дозе 20 мг в день приводило (на фоне резкого повышения содержания β -каротина в плазме крови и почти двукратного снижения активности ОДК в биоптатах слизистой) к регрессии интестинальной метаплазии в 50% случаев (у 9-ти из 18-ти больных). При этом, на фоне атрофических изменений, которые оставались прежними или незначительно смягчались, отмечалось исчезновение морфологических признаков метаплазии тонкокишечного типа — бокаловидных клеток, клеток Панета и клеток с каймой из микроворсинок. За исключением двух больных, у каждого из 16 больных этой группы все 4 биоптата, полученные как перед назначением β -каротина, так и после завершения курса, были пригодны для детального гистологического анализа. Частота биоптатов с предопухоловой патологией и без патологии у этих больных представлена в табл. 4. Перед назначением β -каротина у 14-ти из 16-ти больных признаки предопухоловой патологии обнаруживались в 4-х из 4-х или в 3-х из 4-х взятых биоптатов. Спустя 12 месяцев в результате приема β -каротина признаки предопухоловой патологии в четырех из четырех взятых биоптатов или в трех из четырех взятых биоптатов обнаруживались лишь у

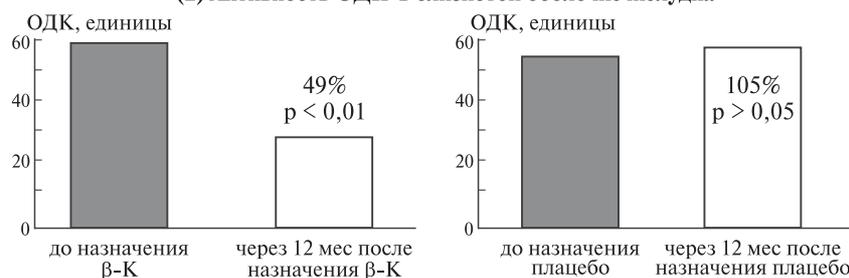
Таблица 3
**Биохимические и гистохимические показатели у больных с
 интестинальной метаплазией слизистой оболочки
 желудка до и после приема β-каротина
 (β-К, 20 мг в день в течение 12-ти месяцев) или плацебо**

Группа I. Больные, получавшие β-К (n = 18)		Группа II. Больные, получавшие плацебо (n = 11)	
до назначения β-К	через 12 мес после назначения β-К	до назначения плацебо	через 12 мес после назначения плацебо

(1) Содержание β-К в плазме крови, мкг/мл

0,10 ± 0,07	1,46 ± 0,62 (p < 0,05)*	0,11 ± 0,09	0,16 ± 0,13 (p > 0,05)*
-------------	----------------------------	-------------	----------------------------

(2) Активность ОДК в слизистой оболочке желудка



(3) Число больных с интестинальной метаплазией к общему числу больных

до назначения β-К	через 12 мес после назначения β-К	до назначения плацебо	через 12 мес после назначения плацебо
18/18	9/18 (p < 0,05)**	11/11	11/11

* Достоверность отличия от исходной величины.

** Достоверность отличия от группы II ($\chi^2 = 5,81$).

5-ти больных, а у 9-ти больных признаки метаплазии тонкокишечного типа не обнаруживались больше ни в одном из 4-х взятых биоптатов. Следует отметить, что через 3 месяца после отмены β-каротина у двух больных из числа 9-ти, у которых наблюдалась регрессия предопухоловой патологии, признаки метаплазии тонко-

Таблица 4
Частота обнаружения метаплазии тонкокишечного типа в 4-х биоптатах, взятых у каждого больного из 16 больных атрофическим гастритом до и после лечения β -каротином в течение 1 года (указано число больных с различной частотой метаплазии тонкокишечного типа в биоптатах; в скобках — процент к общему числу больных)

Сроки обследования	Наличие (+) или отсутствие (-) метаплазии тонкокишечного типа в 4-х биоптатах				
	(++++)	(+++)	(++--)	(+---)	(----)
До лечения	8(50)	6(38)	2(12)	0(0)	0(0)
После лечения	3(18)	2(13)	1(6)	1(6)	9(56)
Через 3 месяца после отмены лечения	3(18)	2(13)	2(13)	2(13)	7(44)

кишечного типа снова появились. По-видимому, после проведения интенсивного курса антиоксидантной терапии эти больные нуждаются в назначении поддерживающей дозы антиоксиданта.

Результаты, полученные при длительном назначении больным с предопухоловой патологией слизистой оболочки желудка высоких доз витамина Е, суммированы в табл. 5. В группе больных, получавших плацебо, биохимические и морфологические показатели оставались без изменений. Назначение витамина Е в дозе 400 МЕ в день в течение 12-ти месяцев приводило, на фоне значительного повышения содержания витамина в плазме крови, к снижению исходной активности ОДК на 65% и к регрессии предопухоловой патологии в 71% случаев (у 10-ти из 14-ти больных). При отмене препарата через 11 месяцев у трех из десяти больных, у которых наблюдалась регрессия предопухоловых изменений, вновь появились признаки метаплазии тонкокишечного типа [5, 21]. Как и в случае с β -каротином, после завершения курса интенсивной терапии витамином Е, этим больным, показана, очевидно, поддерживающая терапия умеренными дозами витамина.

Результаты проведенных исследований интересно сопоставить с недавним сообщением Коломиец [10], показавшей, что у части больных с предопухоловой патологией желудка при комплексной терапии β -каротином, витамином С и Е наблюдалась регрессия диспластических изменений слизистой оболочки. Интересно также, что лечебный эффект β -каротина и витамина Е при метаплазии тонкокишечного типа в желудке сходен с терапевтическим дейст-

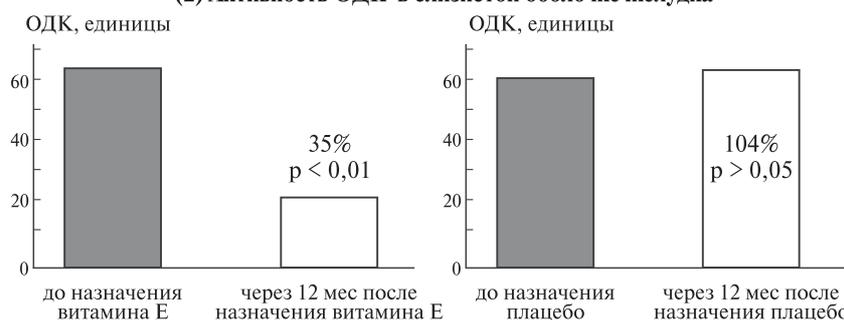
Таблица 5
Биохимические и гистохимические показатели у больных с
интестинальной метаплазией слизистой оболочки
желудка до и после приема витамина Е
(витамин Е, 400 МЕ в день в течение 12–ти месяцев) или плацебо

<i>Группа I.</i> Больные, получавшие витамин Е (n = 14)		<i>Группа II.</i> Больные, получавшие плацебо (n = 16)	
до назначения витамина Е	через 12 мес после назначения витамина Е	до назначения плацебо	через 12 мес после назначения плацебо

(1) Содержание витамина Е в плазме крови, мкг/мл

6,4 ± 1,1	21,2 ± 2,3 (p < 0,01)*	6,7 ± 0,9	7,2 ± 1,2 (p > 0,05)*
-----------	---------------------------	-----------	--------------------------

(2) Активность ОДК в слизистой оболочке желудка



(3) Число больных с интестинальной метаплазией к общему числу больных

до назначения витамина Е	через 12 мес после назначения витамина Е	до назначения плацебо	через 12 мес после назначения плацебо
14/14	4/14 (p < 0,01)**	16/16	16/16

* Достоверность отличия от исходной величины.

** Достоверность отличия от группы II ($\chi^2 = 14,1$).

вием этих антиоксидантов, выявленным Гаревалом в США [43] при лечении лейкоплакий — предопухолевых изменений слизистой ротовой полости.

Механизм антипромоторного и лечебного действия β -каротина и витамина Е при предопухоловой патологии желудка требует специального изучения. Естественно предположить, что обнаруженное антиканцерогенное действие природных антиоксидантов при предопухоловой патологии слизистой оболочки желудка связано с их способностью обезвреживать свободные радикалы и N-нитрозосоединения, которые играют важную патогенетическую роль в процессе гастроканцерогенеза. Однако это было бы слишком упрощенной трактовкой. Онкопрофилактический потенциал β -каротина и витамина Е не исчерпывается их способностью подавлять оксидативный стресс и образование N-нитрозосоединений. Показано, что β -каротин и витамин Е могут модифицировать экспрессию генов, пролиферацию и дифференцировку клеток с участием механизмов, которые не зависят от их антиоксидантного действия [73]. Хорошо известно, например, что метаболит β -каротина, ретиноевая кислота, участвующая в клеточной дифференцировке, может подавлять суперэкспрессию ОДК в коже мышей при химическом канцерогенезе [118]. β -Каротин активирует экспрессию *connexin 43* — гена, кодирующего структурный элемент щелевых клеточных контактов; в культуре клеток степень этой активации статистически коррелирует с подавлением неопластической трансформации [16]. Способность β -каротина и природных или синтетических каротиноидов индуцировать межклеточные щелевые контакты не коррелирует, однако, с их антиоксидантными свойствами (способностью «гасить» синглетный кислород [107]). Антиканцерогенное действие витамина Е также может быть связано с эффектами, не зависящими от его способности гасить свободные радикалы. В клеточных культурах витамин Е ингибирует активность протеинкиназы С, являющейся элементом сигнальных путей, блокада которых ведет к подавлению пролиферации [13, 69]. Показано, что витамин Е в культуре злокачественных клеток может индуцировать апоптоз, что также не связано с антиоксидантными свойствами витамина [104]. Несомненно, однако, что антиоксидантные свойства β -каротина и витамина Е на клеточном уровне и на уровне целостного организма играют важную функциональную роль в разветвленных путях их антиканцерогенного действия. Наши предварительные исследования показали, что при гастроканцерогенезе β -каротин блокирует свободнорадикальные реакции перекисного окисления липидов в слизистой оболочке желудка, а по данным других исследователей [67] подавляет индуцируемую свободными радикалами экспрессию индуцируемой формы NO \cdot -синтазы, которая в слизистой желудка дает начало образованию ряда

свободнорадикальных генотоксических азотистых соединений. Примечательно также, что в модельных системах убедительно продемонстрирована роль прооксиданта (перекиси водорода) в индукции ОДК, опосредованной через изоформу протеинкиназы С- σ [85]. Показано также, что β -криптоксантин, который, в отличие от β -каротина, проявляет лишь свойство антиоксиданта, как и β -каротин подавляет *in vivo* суперэкспрессию ОДК в коже мышей при воздействии промотора, а в культуре клеток блокирует экспрессию индуцируемой формы NO \cdot -синтазы [116]. Информация о механизмах антиканцерогенного действия антиоксидантов, индукции ОДК и ее функциональной связи с клеточными сигнальными путями и другими онкогенами множится с каждым днем. Всестороннее изучение этих вопросов несомненно позволит в будущем на более рациональной основе подойти к использованию антиоксидантов в целях химиопрофилактики рака. Важное практическое значение для решения этой задачи могут иметь также результаты трех обширных интервенционных исследований, проводящихся в настоящее время в Колумбии, Венесуэле и в Европе, в которых детально изучается влияние β -каротина, витаминов Е, С и их комбинаций на процесс гастроканцерогенеза и динамику предопухолевых изменений в слизистой оболочке желудка у человека [77]. В этом плане представляет интерес предварительное сообщение американских и колумбийских специалистов, изучающих в биоптатах слизистой оболочки желудка у больных с предопухолевой патологией частоту мутаций гена *k-ras* в первом эксоне, которая нарастает в ходе прогрессии гастроканцерогенеза [46]. Как следует из полученных данных, назначение в течение 3-х лет β -каротина и витамина С больным с предопухолевой патологией желудка снизило исходную частоту мутаций указанного онкогена с 18,1 до 11,8%, что, по мнению авторов, может уменьшать риск заболеть раком [46]. Помимо уточнения некоторых особенностей гастроканцерогенеза, результаты указанных выше широко-масштабных интервенционных исследований, близких к завершению, помогут также уточнить оптимальные режимы лечебно-профилактического использования антиоксидантов в группах повышенного риска заболеть раком желудка.

У. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак желудка относится к широко распространенным в России тяжелым онкологическим заболеваниям с плохим прогнозом. Стратегическим направлением в борьбе в этом заболеванием считают его профилактику, перспективы которой по ряду объективных причин представляются достаточно реальными.

Эпидемиологические исследования показали, что ведущую роль среди полиэтиологических факторов рака желудка играют факторы внешней среды, которые, в принципе, поддаются контролю. Резкое снижение в предыдущие десятилетия заболеваемости раком желудка в США американские медики называют «незапланированным триумфом» и связывают с широким внедрением в практику низкотемпературных холодильников, исключающих накопление в пищевых продуктах канцерогенных веществ, а также с повседневным круглогодичным потреблением американцами широкого набора свежих овощей и фруктов, богатых антиоксидантами.

Накопленные в последние годы сведения подтверждают антиканцерогенные свойства природных антиоксидантов, которые являются ингибиторами канцерогенеза. Обнаружение *H. pylori* в качестве фактора, инициирующего гастроканцерогенез, и анализ механизмов патологического процесса на начальных его стадиях позволили выявить не только важную роль NO^{\cdot} и других свободных радикалов в химической модификации ДНК эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка, но и защитный эффект β -каротина, который блокирует экспрессию индуцируемой формы NO^{\cdot} -синтазы в полиморфноядерных лейкоцитах и макрофагах, инвазирующих желудок, и снижает в слизистой желудка показатели апоптоза.

На стадии развития атрофического гастрита, который характеризуется высокими значениями рН желудочного сока, бурным развитием микрофлоры и активным бактериальным синтезом N-нитрозосоединений, алкилирующих ДНК, природные антиоксиданты, витамины С и Е, будучи ингибиторами синтеза N-нитрозосоединений, также могут играть профилактическую роль, сдерживая развитие патологического процесса.

Наконец, на стадии атрофического гастрита, и особенно на стадии ранних предопухолевых изменений (интестинальной метаплазии), когда в слизистой оболочке желудка резко повышается активность протоонкогена орнитиндекарбоксилазы, играющей ключевую роль на стадии промоции опухолевого роста, природные антиоксиданты, β -каротин и витамин Е, при назначении больным в сравнительно высоких дозах вызывают резкое подавление супер-

экспрессии орнитиндекарбоксилазы и тем самым снижают скорость формирования злокачественной опухоли, вынося, возможно, сроки заболевания за рамки реальной продолжительности жизни больного. Важно подчеркнуть, что β -каротин и витамин Е при длительном назначении больным с предопухоловой патологией желудка не только проявляют профилактическое, антипромоторное действие, подавляя аномально высокую активность орнитиндекарбоксилазы, но и оказывают лечебный эффект, вызывая у 50–70% больных регрессию предопухоловых изменений слизистой оболочки желудка. Совершенствование методики использования природных антиоксидантов в качестве ингибиторов гастроканцерогенеза, возможно, позволит в скором времени перейти к массовой химио-профилактике рака желудка. Несомненно, однако, что для развития успеха в этой области необходимы также дальнейшие серьезные исследования фундаментальных молекулярных механизмов, лежащих в основе гастроканцерогенеза и его прогрессии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аруин Л.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Э.П. // Хронический гастрит. Амстердам: Академический медицинский центр Амстердама, 1993. 362 с.
2. Букин Ю.В. // Вопр. онкол. 1986. Т. 32. № 11. С. 35–49.
3. Букин Ю.В. // Врач. 1997. № 5. С. 29–32.
4. Двойрин В.В., Аксель Е.М., Трапезников Н.Н. // Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований населения России некоторых других стран СНГ в 1993 г. М: ОНЦ РАМН. 1995. 231 С.
5. Драудин–Крыленко В.А., Букин Ю.В., Левчук А.А., Курицман М.Я., Кувшинов Ю.П., Поддубный Б.К., Шабанов М.А. // Вестник ОНЦ РАМН. 1998. № 4. С. 12–19.
6. Драудин–Крыленко В.А., Букин Ю.В., Поддубный Б.К., Кувшинов Ю.П., Воробьева О.В., Шабанов М.А. // Вестник ОНЦ РАМН. 1996. № 3. С. 47–53.
7. Заридзе Д.Г. // Региональные проблемы здоровья населения России / Ред. В.Д.Белякова. М.: РАЕН, 1993. С. 214–227.
8. Заридзе Д.Г., Букин Ю.В. // Вопр. онкол. 1990. Т. 36. № 6. С. 643–652.
9. Заридзе Д.Г., Марочко А., Басиева Т.Х., Кустов В.А. // Региональные проблемы здоровья населения России / Ред. В.Д.Белякова. М.: РАЕН, 1993. С. 227–236.
10. Коломиец Л.А. // Эндогенные факторы риска рака желудка / Автореферат дисс. на соискание ученой степени докт. мед. наук. Томск. 1997. С. 35.
11. Arrigo A.–P., Kretz–Remy C. // Molecular Biology of Free Radicals in Human Diseases / Eds. O.I.Arouma, V.Halliwell. Saint Lucia, London: OICA International, 1998. Chapter 7. P. 181–223.
12. Auvinen M., Paasinen A., Andersson L.C., Hultta F. // Nature (London). 1992. Vol. 360. P. 355–358.

13. *Azzi A., Boscoboinik D., Marilley D., Ozer N.K., Stauble B., Tassinato A.* // *Am. J. Clin. Nutr.* 1995. Vol. 62 (Suppl.). P. 1337S—1346S.
14. *Beckman J.S., Beckman T.W., Chen J., Marshall P.A., Freeman B.A.* // *Proc. Natl. Acad. USA.* 1990. Vol. 87. P. 1620—1624.
15. *Bello—Fernandez C., Packman G., Cleveland J.L.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993. Vol. 90. P. 7804—7808.
16. *Bertram J.S., Bortkiewicz H.* // *Am. J. Clin. Nutr.* 1995. Vol. 62 (Suppl.). P. 1327S—1336S.
17. *Blaser M.J., Perez—Perez G.I., Kle-anthous H., Cover T.L., Peek R.M., Chyou P.H.* // *Cancer Res.* 1995. Vol. 55. P. 2111—2115.
18. *Brennan P., O’Neil L.A.J.* // *Biochem. Biophys. Acta.* 1995. Vol. 1260. P. 167—175.
19. *Buiatti E., Mucoz N.* // *Chemopre-vention in Cancer Control.* / Eds. M.Hakama, V. Beral, E.Buiatti, J.Faivre, D.M.Parker. IARC Scientific Publication. 1996. No. 136. P. 35—41.
20. *Bukin Yu.V., Draudin—Krylenko V.A.* // *Abstracts of the 9th Meeting on Vitamin B6 and Carbonyl Catalysis.* Capri, Italy: Second University of Naples, 1994. P. 145.
- 20a. *Bukin Yu.V., Draudin—Krylenko V.A.* // *Human Health and Disease* / Eds. T.K.Basu, N.J.Temple, M.E.Garg. Oxon UK. CABI Publishing. 1999. Chapter 19. 235—248.
21. *Bukin Yu.V., Draudin—Krylenko V.A., Kuvshinov Yu.P., Poddubniy B.K., Shabanov M.A.* // *Cancer Epi-demiol., Biomarkers & Prev.* 1997. Vol. 6. P. 543—546.
22. *Bukin Yu.V., Draudin—Krylenko V.A., Levchuk A.A.* // *Proc. 90th. Ann.Meeting of Am. Ass. for Cancer Res.* 1999. Vol. 40. No. 2401. P. 362.
23. *Bukin Yu.V., Draudin—Krylenko V.A., Orlov E.N., Kuvshinov Yu.P., Poddubniy B.K., Vorobyeva O.V., Shabanov M.A.* // *Cancer Epi-demiol., Biomarkers & Prev.* 1995. Vol. 4. P. 865—870.
24. *Bukin Yu.V., Poddubniy B.K., Kuvshinov Yu.P., Draudin—Krylenko V.A., Shabanov M.A.* // *Digestive Endoscopy.* 1996. Vol. 8. P. 184—191.
25. *Bukin Yu.V., Zaridze D.G., Draudin—Krylenko V.A., Orlov E.N., Sigacheva N.A., Fu Dawei., Kurtzman M.Ya., Schlenskaya I.N., Gorbacheva O.N., Nechipai A.M., Kuvshinov Yu.P., Poddubniy B.K., Maximovitch D.M.* // *Europ. J. Cancer Prev.* 1993. Vol. 2. P. 61—68.
26. *Cerutti P.A., Trump B.F.* // *Cancer Cells.* 1991. Vol. 3. P. 1—7.
27. *Clifford A., Morgan D., Yuspa S., Peralta Soler A., Gilmour S.* // *Cancer Res.* 1995. Vol. 55. P. 1680—1686.
28. *Coggon D., Acheson E.D.* // *British Med. Bull.* 1984. Vol. 40. No.4. P. 335—341.
29. *Correa P.* // *Cancer Epidemiol., Bio-markers & Prev.* 1991. Vol. 1. P. 5—11.
30. *Correa P.* // *Cancer Res.* 1992. Vol. 52. P. 6735—6740.
31. *Correa P.* // *Am. J. Surg. Pathol.* 1995. Vol. 19 (Suppl. 1). P.37S—43S.
32. *Correa P., Haenszel W., Cuello C., Tannenbaum S., Archer M.* // *Lancet.* 1975. Vol. 11. P. 58—60.
33. *Correa P., Miller M.J.S.* // *J. Natl. Cancer Inst.* 1995. Vol. 87. No. 23. P. 1731—1732.
34. *Correa P., Shiao Yih—horng.* // *Cancer Res. (Supp I.)* 1994. Vol. 54. P. 1941S—1943S.
35. *Crabtree J.E., Taylor J.D., Wyatt J.I., Heatly R.V., Shallcross T.M., Tom-kins D.S.* // *Lancet.* 1991. Vol. 338. P. 332—335.

36. *Crabtree J.E., Wyatt J.I., Trejdosiewicz L.K., Peichi P., Nichols P.H., Ramsay N.* // *J. Clin. Pathol.* 1994. Vol. 47. P. 61–66.
37. *Crespi M., Citarda F.* // *Scand. J. Gastroenterol.* 1996. Vol. 3. P. 1041–1046.
38. *Crawford D., Zbinden I., Amstad P., Cerutti P.* // *Oncogene.* 1988. Vol. 3. P. 27–32.
39. *Feig D.H., Reid T.M., Loeb L.A.* // *Cancer Res.* 1994. Vol. 54. (Suppl. 1). P. 1890S–1894S.
40. *Felley-Bosco E., Buzard G.S., Billar L., Keefer L.K.* // *Molecular Biology of Free Radicals in Human Diseases* / Eds. O.I.Arouma, B.Halliwell. Saint Lucia, London: OICA International, 1998. Chapter 9. P. 287–325.
41. *Fontham E.T.H.* // *Preventive Nutrition* / Eds. A.Bendich, R.J.Deckelbaum. Totowa, New Jersey: Humana Press, 1997. P. 33–55.
42. *Fox J.G., Correa P., Taylor N.S., Thompson N., Fontham E., Janney F.* // *Am. J. Gastroenterol.* 1992. Vol. 87. P. 1554–1560.
43. *Garewal H.* // *Europ. J. Cancer Prev.* 1994. Vol. 3. P. 101–107.
44. *Garewal H.S., Gerner E.W., Sampliner R.E., Roe D.* // *Cancer Res.* 1988. Vol. 48. P. 3288–3291.
45. *Gerster H.* // *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 1993. Vol. 63. P. 95–121.
46. *Gong C., Bravo J.C., Mora L., Ruiz B., Fontham E.T.H., Correa P., Hunt J.D.* // *Proc. 89th Ann. Meeting of Am. Ass. for Cancer Res.* 1998. Vol. 39. No. 605. P. 89.
47. *Halliwell B., Aruoma O.I.* // *DNA and Free Radicals.* England: Ellis Horwood, Chichester. 1993.
48. *Halliwell B., Gutteridge J.M.C.* // *Free Radicals in Biology and Medicine*, 2–nd ed. Oxford: Clarendon Press, 1989.
49. *Hartman Z., Henrikson E.N., Hartman P.E., Cebula T.A.* // *Environmental and Molec. Mutagenesis.* 1994. Vol. 24. P. 168–175.
50. *Hayashi S. (Ed.)* // *Ornithine Decarboxylase: Biology, Enzymology and Molecular Genetics.* Oxford, UK: Pergamon Press, 1989. 356 p.
51. *Henkel T., Machleidt T., Alkaly I., Kronke M., Ben-Nerlah Y., Baeuerle P.A.* // *Nature.* 1993. Vol. 365. P. 182–185.
52. *Hill M.J.* // *Europ. J. Cancer Prev.* 1994. Vol. 3 (Suppl. 2). P. 25–29.
53. *Hyltta F., Auvinen M., Andersson L.C.* // *J. Cell Biol.* 1993. Vol. 122. P. 903–914.
54. *Hurta R.A.R., Greenberg A.H., Weight J.A.* // *Cell Physiol.* 1993. Vol. 156. P. 272–279.
55. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. // *Schistosomes, Liver Flukes and Helicobacter pylori.* 1994. Vol. 61. Lyon, France. P. 177–240.
56. *Inoue S., Kawanishi S.* // *FEBS Lett.* 1995. Vol. 371. P. 86–88.
57. *Jaruga P., Zastawny T.H., Skokowski J., Dizdaroglu M., Olinski R.* // *FEBS Lett.* 1994. Vol. 341. P. 59–64.
58. *Keefer L.K., Wink D.A.* // *Adv. Exper. Med. Biol.* 1996. Vol. 387. P. 177–185.
59. *Kelloff G.J., Boone C.W., Crowell J.A., Steel V.F., Lubet L., Sigman C.C.* // *Cancer Epidem., Biomarkers & Prev.* 1994. Vol. 3. P. 85–89.
60. *Kirchner J.J., Hopkins P.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1991. Vol. 113. P. 4681–4682.
61. *Koster E.De., Buset M., Fernandes E., Deltenre M.* // *Europ. J. Cancer Prev.* 1994. Vol. 3 (Suppl. 2). P. 61–64.
62. *Lauren P.* // *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1965. Vol. 64. P. 31–49.
63. *Lee A., O'Rourke J.* // *Gastroenterol. Clin. N. Amer.* 1993. Vol. 22. P. 21–42.

64. Liu R.H., Hotchkiss J.H. // *Mutat. Res.* 1995. Vol. 339. P. 73—89.
65. Luk G.D., Baylin S.B. // *New Engl. Med. J.* 1984. Vol. 331. P. 80—83.
66. Manni A., Trout D., Verderame M.f., Beaton—Wimmer P.R. // *Proc. 90th Ann. Meeting of Am. Ass. for Cancer Res.* 1999. Vol. 40. No. 655. P. 99.
67. Mannick E.E., Bravo L.E., Zarama G., Reaple J.L., Zhang X.—J., Ruiz B., Fontham E.T.H., Mera R., Miller M.J.S., Correa P. // *Cancer Res.* 1996. Vol. 56. P. 3238—3243.
68. Marton L.J., Pegg A.E. // *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1995. Vol. 35. P. 55—91.
69. Meydani M. // *Lancet.* 1995. Vol. 345. P. 170—175.
70. Mirvish S.S. // *J. Natl. Cancer Inst.* 1983. Vol. 71 P. 629—647.
71. Mirvish S.S. // *Cancer Letters.* 1995. Vol. 93. P. 17—48.
72. Mirvish S.S. // *Europ. J. Cancer Prev.* 1996. Vol. 5 (Suppl. 1). P. 131—136.
73. Moser U., de Min C. // *Europ. J. Cancer Prev.* 1996. Vol. 5 (Suppl. 2). P. 95—100.
74. Moshier J.S., Dosesescu J., Skunca M., Luk G.D. // *Cancer Res.* 1993. Vol. 53. P. 2618—2622.
75. Muijsers R.B.R., Folkers G., Henricks P.A.J., Sadeghi—Hashjin G., Nijkamp F.P. // *Life Sci.* 1997. Vol. 60. P. 1833—1845.
76. Munoz E., Courtois G., Veschambre P., Jalinot P., Israel A. // *J. Virol.* 1994. Vol. 68. P. 8035—8044.
77. Mucoz N., Kato I., Peraza S., Lopez G., Carrillo E., Ramirez H., Vavas J., Castro D., Sanchez V., Andrade O., Buiatti E., Oliver V. // *Cancer Epidemiol., Biomarkers & Prev.* 1996. Vol. 5. P. 41—46.
78. Nguyen T., Brunson D., Crespi C.L., Penman B.W., Wishnok J.S., Tannenbaum S.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. Vol. 89. P. 3030—3034.
79. Nierenberg D.W., Lester D.C. // *J. Chromat. Biochem. Appl.* 1985. Vol. 345. P. 275—279.
80. Nose K., Shibamura M., Kikuchi K., Kageyama H., Sakiyama S., Kuroki T. // *Eur. J. Biochem.* 1991. Vol. 201. P. 99—106.
81. Nunokawa Y., Oikawa S., Tanaka S. // *Biochim. Biophys. Res. Commun.* 1996. Vol. 200. P. 802—807.
82. O'Brien T.G., Megosh L.C., Gilliard G., Peralta Soler A. // *Cancer Res.* 1997. Vol. 57. P. 2630—2637.
83. O'Brien T.G., Simsiman R.S., Boutwell R.K. // *Cancer Res.* 1975. Vol. 35. P. 1662—1670.
84. Oderda G., D'Alessandro M., Mariani P., Lionetti P., Bonamico M., Dell'Olivo D., Ansaldo N. // *J. Clin. Pathol.* 1993. Vol. 46. P. 836—839.
85. Otieno M.A., Kensler T.W. // *Proc. 90th. Ann. Meeting of Am. Ass. for Cancer Res.* 1999. Vol. 40. N 654. P. 99.
86. Ohshima H., Bartsch H. // *Mutation Res.* 1994. Vol. 305. P. 253—264.
87. Paasinen—Sohns S., Hultta E. // *Oncogene.* 1997. Vol. 15. P. 1953—1966.
88. Parkin D.M., Muir C.S., Whelan S.L., Gao Y.T., Ferlay J., Powell J., eds. // *Cancer Incidence in Five Continents.* Vol. 6. Lyon, France: IARC Scientific Publication, 1992. No. 120. P. 921.
89. Peek R.M., Miller G.G., Tham K.T., Perez—Perez G.I., Cover T.L., Dunn D. // *Am. J. Gastroenterol.* 1994. Vol. 89. P. 1344.
90. Pegg A. // *Cancer Res.* 1988. Vol. 48. P. 759—774.
91. Pegg A., Shantz L.M., Coleman C.S. // *J. Cell. Biochem.* 1995. Vol. 22 (Suppl.). P. 132—138.
92. Porter C.W., Herrera—Ornelas L., Pera P., Petrelli N.F., Mittelman A. // *Cancer.* 1987. VI. 60. P. 1275—1281.

93. Pryor W.A., Squadrito G.L. // *Am. J. Physiol.* Vol. 268. P. L699—L722.
94. Pryor W.A. Jin X., Squadrito G.L. // *J. Am. Chem. Soc.* 1996. Vol. 118. P. 3125—3128.
95. Reed P.I. // *Europ. J. Cancer Prev.* 1996. Vol. 5 (Suppl. 2). P. 49—55.
96. Ruiz B., Correa P., Fontham E.T.H., Ramakrishnan T. // *Am. J. Clin. Pathol.* 1996. Vol. 105. P. 96—101.
97. Schlemper R.J., Itabashi M., Kato Y., Lewin K.J., Riddell R.H., Shimoda T., Sipponen P., Stolte M., Watanabe H., Takahashi H., Fujita R. // *Lancet.* 1997. Vol. 349. P. 1725—1729.
98. Schorah C.J., Sobala G.M., Sanderson M., Collis M., Primrose J.N. // *Am. J. Clin. Nutr.* 1991. Vol. 53. (Suppl. 1). P. 287S—293S.
99. Shantz L.M., Pegg A. // *Cancer Res.* 1994. Vol. 54. P. 2313—2316.
100. Shantz L.M., Coleman C.S., Pegg A.E. // *Cancer Res.* 1996. Vol. 56. P. 5136—5140.
101. Shore L.J., Soler A.P., Gilmour S.K. // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 12536—12543.
102. Sies H., Stahl W. // *Am. J. Clin. Nutr.* 1995. Vol. 62 (Suppl.). P. 1315S—1321S.
103. Sies H., Stahl W., Sundquist A.R. // *Ann. NY Acad. Sci.* 1992. Vol. 669. P. 7—20.
104. Siguonas G., Anagnostou A., Steiner M. // *Nutr. and Cancer.* 1997. Vol. 28. P. 30—35.
105. Solcia E., Fiocca R., Luinetti O., Viallani L., Padovan L., Calistri D., Ranzani G.N., Chiaravalli A., Capella C. // *Am. J. Surg. Pathol.* 1996. Vol. 20 (Suppl. 1). P. 8S—22S.
106. Spitsin S.V., Koprowski H., Michaels F.N. // *Mol. Medicine.* 1996. Vol. 2. P. 226—235.
107. Stahl W., Nicolai S., Briviba K., Hanusch M., Broszeit G., Peters M., Martin H.-D., Sies H. // *Carcinogenesis.* 1997. Vol. 18. P. 89—92.
108. Tamir S., Tannenbaum S.R. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1996. Vol. 1288. P. F31—F36.
109. Tamir S., Burney S., Tannenbaum S.R. // *Chem. Res. Toxicol.* 1996. Vol. 9. P. 821—827.
110. Tohdo H., Yokosaki H., Naruma K., Kajiyama G., Tahara E. // *Virchow's Arch.* 1993. Vol. 63. P. 191—195.
111. Toyokuni S., Mori T., Dizdaroglu M. // *Int. J. Cancer.* 1994. Vol. 57. P. 123—128.
112. Toyokuni S., Okamoto K., Yodoi J., Hiai H. // *FEBS Lett.* 1995. Vol. 358. P. 1—3.
113. Tredaniel J., Boffetta P., Buiatti E., Saracci R., Hirsch A. // *Int. J. Cancer.* 1997. Vol. 72. P. 565—573.
114. Tsugane S., Kabuto M., Gey F. // *Antioxidant Vitamins Newsletter.* 1995. Vol. 11. P. 9.
115. Tsuji S., Kawano S., Tsuji M., Takei Y., Tanaka M., Sawaoka H., Nagano K., Fusamoto H., Kamada T. // *Cancer Letters.* 1996. Vol. 108. P. 195—200.
116. Tsuruta A., Narisava Y.M., Yamaguchi S., Masuda M., Onozuka M., Tokuda H., Yamagishi H., Oka T., Nishino H. // *Proc. 90th. Ann. Meeting of Am. Ass. for Cancer Res.* 1999. Vol. 40. No 1722. P. 259—260.
117. UK Subgroup of the ECP EURONUT-IM Study Group. // *Europ. J. Cancer Prev.* 1992. Vol. 1. P. 177—186.
118. Verma A.K., Shapas B.G., Kice H.M., Boutwell R.K. // *Cancer Res.* 1979. Vol. 39. P. 419—425.
119. Villiotou V., Delicostantinou G. // *Anticancer Res.* 1995. Vol. 5. P. 931—942.
120. Wagner A.J., Meyers C., Laimins L.A., Hay N. // *Cell Growth Differ.* 1993. Vol. 3. P. 879—883.
121. Wakabayashi K., Nagao K., Ochiai M. // *Mutat. Res.* 1985. Vol. 143. P. 17—21.

122. *Wanebo H.J., Kennedy B.J., Chmiel J.* // *Annals of Surgery*. 1993. Vol. 218. P. 583—592.
123. *Wink D.A., Kasperzak K.S., Maragos C.M., Elespuru R.K., Misra M., Dunams T.M., Cebula T.A., Koch W.H., Andrews A.W., Allen J.S., Keefer L.K.* // *Science*. 1991. Vol. 254. P. 1001—1003.
124. *Wrighton C., Buslinger M.* // *Mol. Cell. Biol.* 1993. Vol. 13. P. 4657—4659.
125. *Xu G.P., Song P.J., Reed P.I.* // *Europ. J. Cancer Prev.* 1993. Vol. 2. P. 25—36.
126. *Yang D., Tannenbaum S.R., Buch C., Lee G.C.M.* // *Carcinogenesis (Lond.)*. 1984. Vol. 5. P. 1219—1224.
127. *Yermilov V., Rubio J., Ohshima H.* // *FEBS Lett.* 1995. Vol. 376. P. 207—210.
128. *Zaridze D.G., Marochko A., Basieva T.H., Duffy S.W.* // *Int. J. Cancer*. 1993. Vol. 54. P. 889—894.