

**НЕЗАВИСИМОЕ ОТ Аh-РЕЦЕПТОРА ИНГИБИРОВАНИЕ
МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ЩЕЛЕВЫХ КОНТАКТОВ
КАНЦЕРОГЕННЫМИ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИМИ АРОМАТИЧЕСКИМИ УГЛЕВОДОРОДАМИ
В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ГЕПАТОМЫ 27**

© Н. А. Болотина,¹ Ю. Ю. Шаровская,² В. А. Кобляков¹

¹ Институт канцерогенеза Российского онкологического научного центра им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва,
и ² Институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского Московского государственного университета;
¹ электронный адрес: kobliakov@crc.umos.ru

Одной из систем, регулирующих гомеостаз, является система межклеточных щелевых контактов (МЩК). Общепринято, что ингибирование МЩК тесно связано с опухоль-промоторными свойствами канцерогенов. В данной работе исследовали действие ряда канцерогенных полициклических ароматических углеводородов на МЩК клеток гепатомы 27, у которых отсутствует экспрессия как изоформ цитохрома P450, так и Ah-рецептора. Показано, что способностью ингибировать МЩК среди исследованных 6 соединений обладают только бензо/а/пирен и 3-метилхолантрен. Делается заключение о присутствии в клетках гепатом неизвестного фактора, взаимодействие с которым некоторых полициклических ароматических углеводородов приводит к ингибированию МЩК. Исследование совместного действия бензо/а/пирена и бензо/е/пирена (близкого по структуре к бензо/а/пирену, но неактивного соединения) показало, что ингибирование МЩК бензо/а/пиреном является по меньшей мере двухфазным.

Ключевые слова: канцерогенез, межклеточные щелевые контакты, полициклические ароматические углеводороды, Ah-рецептор.

Принятые сокращения: БП — бензо/а/пирен; МЩК — межклеточные щелевые контакты; ПАУ — полициклические ароматические углеводороды; ТХДД — 2, 3, 7, 8-тетрахлор-п-дибенздиоксин; СYP — цитохромы семейства P450.

Образование опухоли под действием канцерогенов — это многоступенчатый процесс, основными стадиями которого являются инициация и промоция. На стадии инициации происходят наследуемые изменения в геноме клетки, предопределяющие опухолевый генотип образующегося клона. Стадия промоции, по современным представлениям, обусловлена негенотоксическим действием, создающим условия для избирательного роста инициированных клеток. Феномен промоции изучается, как правило, на модели двухстадийного канцерогенеза, при котором стадии инициации и промоции вызываются различными соединениями. Для «полных» канцерогенов (веществ, вызывающих опухоль без дополнительного воздействия) наличие стадии промоции подразумевается, однако неизвестно, реализуется ли она по той же схеме, как и в двухстадийном канцерогенезе (т. е. по негенотоксическому механизму). Неизвестно, изменяется ли функционирование тех же регуляторных систем, которые изменяются на модели двухстадийного канцерогенеза.

Промоторные эффекты могут быть смоделированы в культуре клеток, что позволяет исследовать их независимо друг от друга и изучать механизм промоции в более простой системе, чем *in vivo*. Считается, что для реализации опухоль-промоторных свойств вещество должно стимулировать пролиферацию трансформированных клеток,

блокировать апоптоз и ограждать трансформированные клетки от регуляторного воздействия окружающих нормальных клеток, ингибируя их межклеточные щелевые контакты (МЩК). Для характеристики промоторных свойств соединений чаще всего используют их способность ингибировать МЩК в культуре клеток (Trosko et al., 2005; Zeffèrino et al., 2005). МЩК представляют собой поры, образуемые белками коннексинами внутри цитоплазматической мембраны, способные пропускать молекулы с мол. массой до 1.2 кДа. Известны различные изоформы коннексинов, экспрессия которых зависит от клеточного типа. Возможность прерывать и вновь включать функционирование МЩК является одной из систем межклеточной и внутритканевой регуляции. Пролиферативные стимулы независимо от их природы (ростовые факторы, химические соединения) уменьшают проницаемость МЩК в культуре клеток (Warn-Cramer et al., 1998). В большинстве опухолей функционирование МЩК снижено по сравнению с нормальной гомологичной тканью, а в тех опухолях, в которых проницаемость МЩК между клетками опухоли высока, отсутствует проницаемость МЩК между клетками опухоли и нормальными клетками ткани. Таким образом, опухоли с сохраненным функционированием МЩК внутри самой опухоли остаются нечувствительными к регуляторным воздействиям нормальных клеток, осуществляемых через МЩК.

Основными канцерогенными загрязнителями окружающей среды являются полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), способные ввиду своей химической инертности накапливаться и сохраняться в среде обитания. Для выведения из организма ПАУ подвергаются ферментативному окислению монооксигеназной ферментной системой, функциональным звеном которой являются цитохромы семейства P450 (CYP). В результате окисления образуются промежуточные высокоактивные метаболиты. Показано, что такие метаболиты, как диолэпоксиды, являются опухольиницирующими агентами. Другой фактор воздействия ПАУ на клеточные функции — это их взаимодействие в исходной неметаболизированной форме с цитоплазматическим Ah-рецептором, вызывающее его активацию. Активированный Ah-рецептор взаимодействует с различными регуляторными системами клетки, что приводит к изменению ее гомеостаза. Влияние длительной активации Ah-рецептора на функции организма изучали на соединениях, которые другими известными свойствами, кроме как взаимодействием с Ah-рецептором, не обладали. Было показано, что длительное введение животным лигандов Ah-рецепторов типа хлорированных диоксинов вызывает различные нарушения в функционировании организма, в том числе и промоцию канцерогенеза (Schrenk et al., 2004; Bock et al., 2005).

Все известные негенотоксические эффекты ПАУ, по современным представлениям, обусловлены взаимодействием неметаболизированной молекулы вещества с Ah-рецептором.

В последнее время появились публикации, свидетельствующие о том, что некоторые эффекты лигандов Ah-рецептора могут быть реализованы с помощью механизма, исключаяющего их взаимодействие с Ah-рецептором. Так,

действие лиганда Ah-рецептора ТХДД вызывает апоптоз в Т-лейкозных клетках, у которых отсутствует Ah-рецептор (Hossain et al., 1998), изменения экспрессии белка MAD2 (Oikawa et al., 2001), стимулирует независимое от Ah-рецептора фосфорилирование MAP-киназ ERK 1, 2 (Tan et al., 2002; Henklova et al., 2008).

Показано, что ПАУ и некоторые другие лиганды Ah-рецептора различной структуры ингибируют МЩК в клетках различных типов (De Naan et al., 1994; Rummel et al., 1999; Blaha et al., 2002; Шаровская и др., 2003, 2004; Sharovskaya et al., 2006). Все упомянутые исследования проводили на клетках, которые экспрессировали CYP и Ah-рецептор.

Целью данной работы было выявление роли Ah-рецептора в ингибировании МЩК при действии канцерогенных ПАУ. В качестве модели мы использовали клетки гепатомы 27, в которой, как нами было показано ранее (Шаровская и др., 2004), отсутствует экспрессия Ah-рецептора. В результате исследования нами показано, что БП и 3-метилхолантрен ингибируют МЩК по механизму, в котором не участвует Ah-рецептор, а другие ПАУ — 7, 12-диметилбенз/а/антрацен, бенз/а/антрацен и 1, 2, 5, 6-дибенз/а/антрацен — ингибируют МЩК, по-видимому, в результате взаимодействия с Ah-рецептором.

Материал и методика

Культура клеток. Гепатома 27 представляет собой низкодифференцированную перевиваемую опухоль, полученную действием химического канцерогена на беспородных крыс. Для культивирования клетки гепатомы 27 получали из подкожной опухоли с помощью следую-

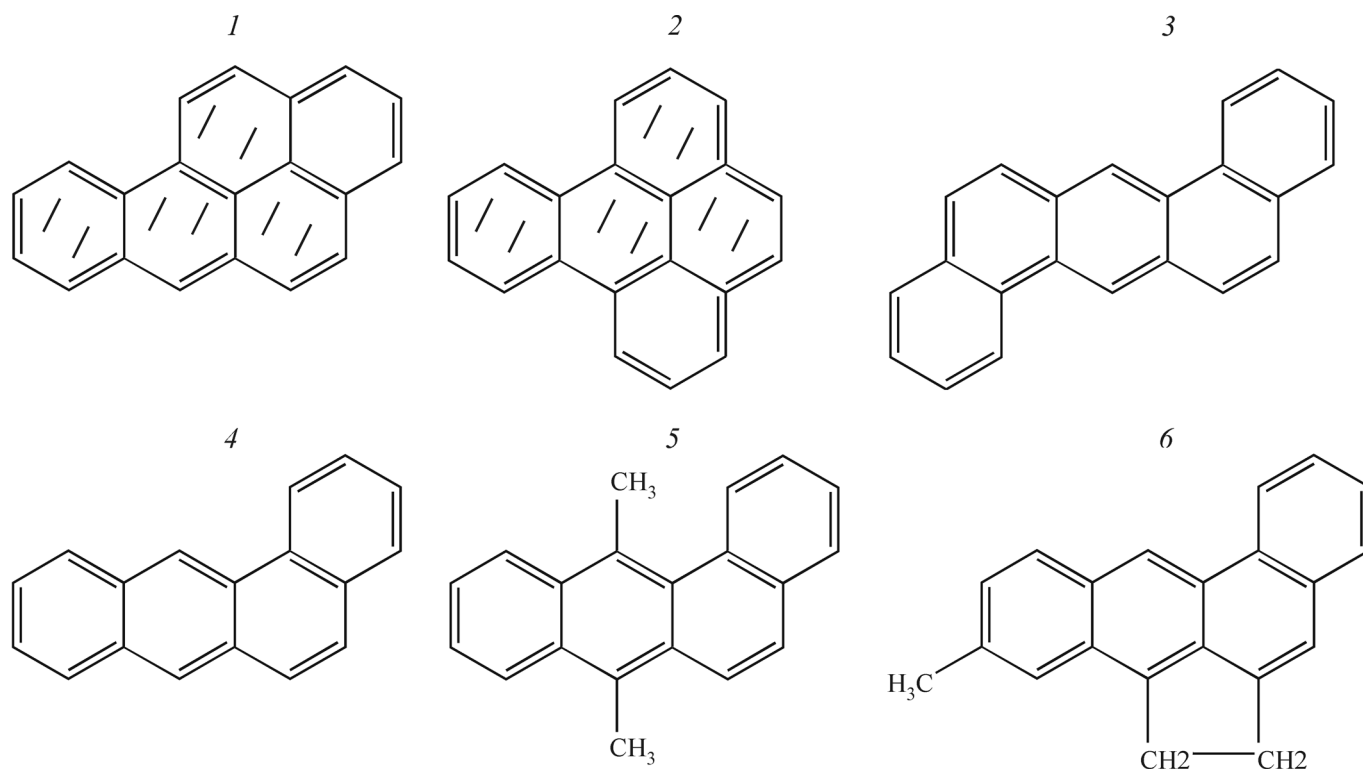


Рис. 1. Структуры ПАУ, используемые в работе.

1 — бензо/а/пирен (БП), 2 — бензо/е/пирен, 3 — 1, 2, 5, 6-дибенз/а/антрацен, 4 — бенз/а/антрацен, 5 — 7, 12-диметилбенз/а/антрацен, 6 — 3-метилхолантрен. *Заштрихованы* структурно-идентичные участки молекул 1 и 2.

Таблица 1

Влияние ряда ПАУ в концентрации 5.0 мкг/мл на проницаемость МЩК клеток гепатомы 27

ПАУ	Уровень межклеточной связи ^а (%) при разном времени действия	
	1 ч	24 ч
БП	11.5	0
Бензо/е/пирен	89.7	120.0
Бенз/а/антрацен (БА)	98.6	71.9
1, 2, 5, 6-ди-БА	107.7	76.6
7, 12-диметил-БА	113.3	62.6
3-метилхолантрен	97.0	27.0
β-нафтофлавон	107.3	124.5

^а Здесь и в табл. 2 уровень связи в контроле или в присутствии вещества (с растворителем) определяется как среднее количество окрашенных соседних клеток через 2 мин после инъекции красителя в одну из клеток монослоя. Данные представлены в % по отношению к контролю.

шей процедуры. Гепатомы 27 стерильно удаляли, отделяли участок, свободный от некрозов, помещали его в охлажденную смесь растворов трипсина и версена (1 : 1) и выдерживали 24 ч при 4 °С, далее промывали раствором Хенкса и добавляли смесь сред ДМЕМ и RPMI (1 : 1), содержащую 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (Flow, США) и 100 мкг/мл гентамицина, и высевали во флаконы Корреля. Через 24 ч проводили смену среды для удаления неприкрепившихся клеток. Клетки культивировали в этой же среде, содержащей 10 % этой же сыворотки. Для определения МЩК клетки высевали на покровные стекла так, чтобы они образовывали единичные колонии.

В работе использовали следующие соединения: канцерогенные ПАУ (рис. 1) — БП, бенз/а/антрацен, 1, 2, 5, 6-дибенз/а/антрацен, 7, 12-диметилбенз/а/антрацен и 3-метилхолантрен, а также неканцерогенный бензо/е/пирен. Все вещества производства фирм Ferack (Германия) и Fluka (Австрия). ПАУ растворяли сначала в ацетоне, далее ацетоновый раствор добавляли к раствору альбумина человека в среде (25 мг/мл) до конечной концентрации ПАУ в альбуминовом растворе 500 мкг/мл; этот раствор и добавляли непосредственно к испытуемым клеткам.

Проницаемость МЩК определяли с помощью внутриклеточных инъекций в одну из клеток монослоя флуоресцентного красителя люциферового желтого CN (Sigma, США) с последующей регистрацией его распространения в соседние клетки, как описано ранее (Sharovskaya et al., 1988). Регистрацию производили при помощи флуоресцентного микроскопа Axiolab (Zeiss, Германия), снабженного фазово-контрастной оптикой, водноиммерсионным объективом 40× и видеокамерой CCTV (Panasonic, Япония) с компьютерным обеспечением. Количество окрашенных клеток подсчитывали через 2 мин после инъекции красителя. Уровень межклеточной связи в каждом эксперименте определяли как среднее количество окрашенных соседних клеток через 2 мин после инъекции красителя в одну из клеток монослоя.

Результаты и обсуждение

Воздействие БП на клетки гепатомы 27 в течение 1 ч приводит к значительному уменьшению перетекания красителя в соседние клетки, а 24-часовое воздействие вызывает еще большее уменьшение МЩК и полное блокирование их при концентрации 5 мкг/мл (табл. 1; рис. 2, а, б). Другие соединения из ряда ПАУ (бенз/а/антрацен, 1, 2, 5, 6-дибенз/а/антрацен, 7, 12-диметилбенз/а/антрацен и 3-метилхолантрен) при 1-часовом воздействии практически не влияли на МЩК (табл. 1). При 24-часовом воздействии только 3-метилхолантрен вызывал эффект, соизмеримый с БП (ингибирование на 77 %; рис. 3; табл. 1), а другие ПАУ вызывали относительно небольшое ингибирование МЩК — в пределах 25—40 % (в качестве примера на рис. 4 представлено действие 7, 12-диметилбенз/а/антрацена). Отсутствует ингибиторное действие на МЩК лиганда Ah-рецептора из класса флавонов — β-нафтофлавона (табл. 1), обладающего опухоль-протормным действием (Shoda et al., 2000). Бензо/е/пирен — неканцерогенный аналог БП — также не ингибировал МЩК.

В то же время в клетках гепатомы HepG2, в которой в отличие от гепатомы 27 экспрессируются как изоформы СУР, так и Ah-рецептор, канцерогенные ПАУ (2-диметилбенз/а/антрацен, бенз/а/антрацен и 1, 2, 5, 6-дибенз/а/антрацен) ингибировали МЩК на 65—80 % при длительности воздействия 24 ч (Шаровская и др., 2003).

Как показано в табл. 2, действие БП на МЩК клеток гепатомы 27 имеет концентрационную зависимость, аналогичную той, которая была ранее показана для клеток HepG2 (Sharovskaya et al., 2006).

Полученные данные свидетельствуют о том, что в клетках гепатом помимо Ah-рецептора существует, видимо, некий фактор, взаимодействующий с исходной, нелетализированной молекулой ПАУ. Это взаимодействие приводит к ингибированию МЩК. Этот фактор по своим свойствам отличается от Ah-рецептора, поскольку кроме БП и 3-метилхолантрена другие лиганды Ah-рецептора, ингибирующие МЩК клеток, экспрессирующих Ah-рецептор, не ингибируют МЩК клеток гепатомы 27. Степень ингибирования МЩК одинакова для клеток гепатом HepG2 и 27 при действии БП и 3-метилхолантрена. На основании этого можно заключить, что ингибирование МЩК при действии БП и 3-метилхолантрена на культуры клеток, как экспрессирующих, так и не экспрессирующих Ah-рецептор, реализуется благодаря взаимодействию с неизвестным фактором. Специфичность взаимодействия БП и 3-метилхолантрена с этим фактором обусловлена, видимо, структурными особенностями их молекул. В структуре БП и его неканцерогенного ана-

Таблица 2

Совместное 1-часовое действие БП и бензо/е/пирена на проницаемость МЩК клеток гепатомы 27

Концентрация БП, мкг/мл	Уровень межклеточной связи (%) при действии		
	БП	бензо/е/пирена, 5 мкг/мл	БП + бензо/е/пирена
5.0	15.6	127	52.0
2.5	26.7	134.4	51.1
0.6	47.4	112.0	48.9

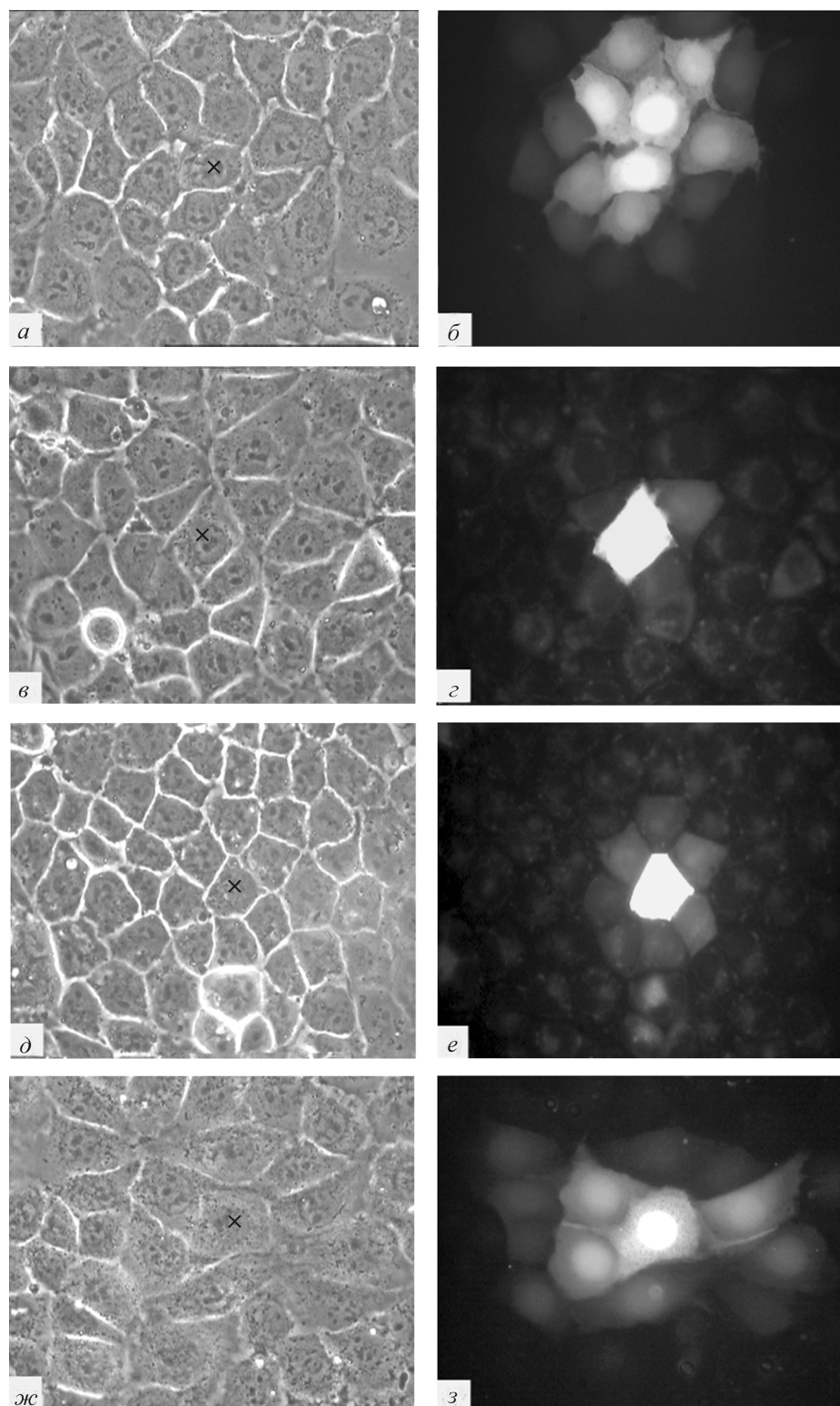


Рис. 2. Распространение люциферового желтого в культуре клеток гепатомы 27 при 1-часовом действии отдельно и совместно БП (2.5 мкг/мл) и бензо(а)пирена (5 мкг/мл).

Показаны фазово-контрастные (а, в, д, ж) и соответствующие им флуоресцентные (б, г, е, з) изображения; а, б — контроль; в, г — БП, д, е — БП совместно с бензо(а)пиреном; ж, з — бензо(а)пирен. Здесь и на рис. 3, 4 крестом обозначена клетка, в которую инъецировали краситель.

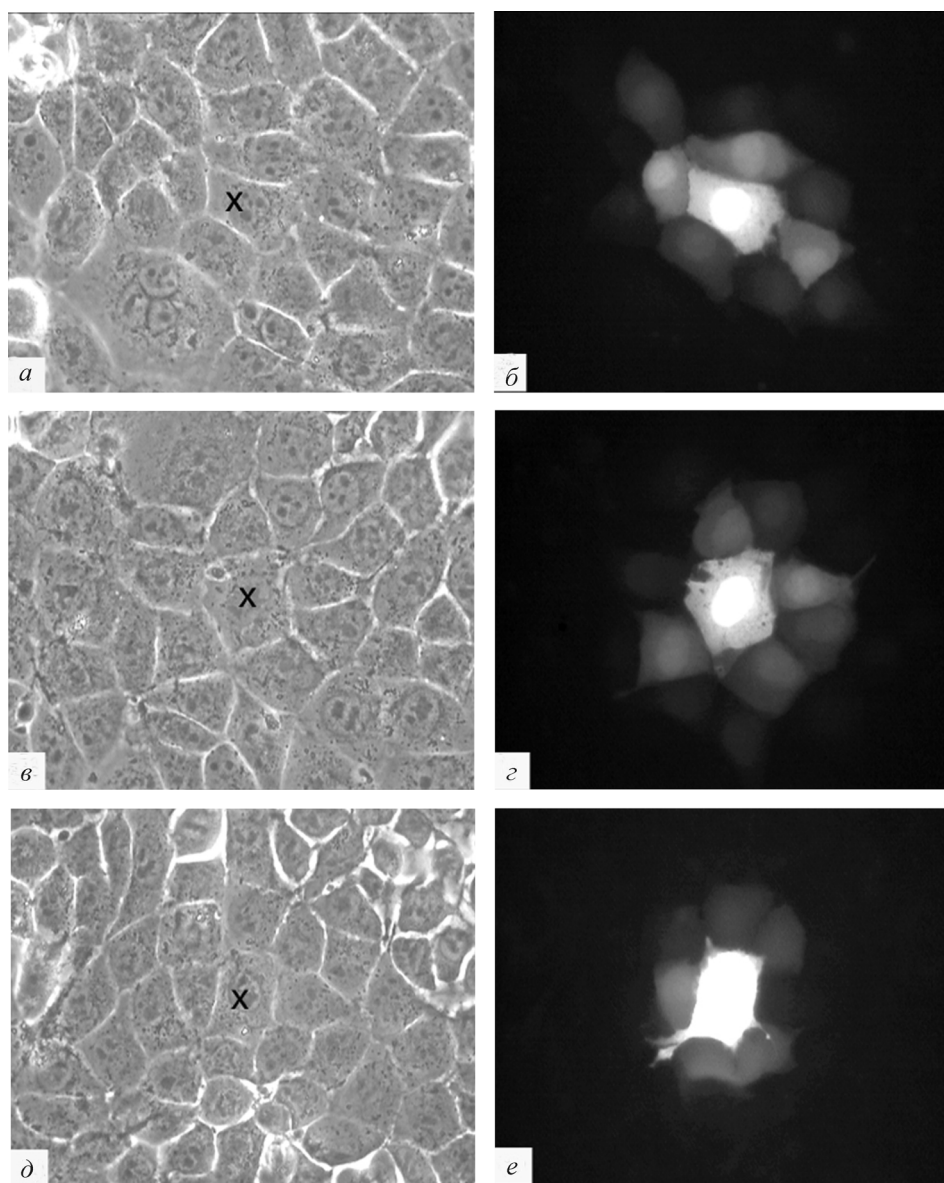


Рис. 3. Распространение люциферового желтого в культуре клеток гепатомы 27 при действии 7, 12-диметилбенз/а/антрацена (5 мкг/мл) в течение 1 (в, з) и 24 (д, е) ч.

Показаны фазово-контрастные (а, в, д) и соответствующие им флуоресцентные (б, з, е) изображения; а, б — контроль.

лога бензо/е/пирена имеется структурная общность (рис. 1, *заштрихованные части*). Мы предположили, что если для взаимодействия БП с неизвестным фактором необходима «полная» структура вещества, то общая структурная область в молекуле бензо/е/пирена при совместном введении БП и бензо/е/пирена может конкурировать с БП за место связывания и уменьшать или полностью предотвращать действие БП. Мы исследовали влияние бензо/е/пирена (5 мкг/мл) на ингибирование МЦК под действием БП при использовании трех различных доз (5.0, 2.5 и 0.6 мкг/мл). Как видно из данных табл. 2, при концентрации БП 0.6 мкг/мл бензо/е/пирен не влияет на ингибирование МЦК под действием БП. Однако при более высоких концентрациях БП (табл. 2), когда ингибирование увеличивается, бензо/е/пирен уменьшает действие БП до уровня, наблюдаемого при низкой дозе БП (0.6 мкг/мл). Таким образом, можно заключить, что объектом воздействия БП является не один клеточный ком-

понент, а по меньшей мере два. Один из них не чувствителен к действию бензо/е/пирена и вызывает после взаимодействия с БП в низких дозах ингибирование МЦК на 50 %. Другой компонент, который взаимодействует с бензо/е/пиреном, препятствует действию БП на МЦК и ответствен за ингибирование МЦК при более высоких концентрациях БП.

Исходя из полученных данных, можно заключить, что действие канцерогенных веществ (лигандов Ah-рецептора, в том числе ПАУ) на МЦК является многофакторным. Оно зависит от экспрессии в клетках изоформ СYP и Ah-рецептора. Наблюдаемое нами ингибирование МЦК клеток гепатомы HepG2 под действием бенз/а/антрацена или 7, 12-диметилбенз/а/антрацена при 24-часовом воздействии, по-видимому, связано с образованием активных метаболитов при их окислении СYP. Наблюдаемое ингибирование МЦК неметаболизуемыми лигандами Ah-рецептора, такими как ТХДД, связано с актива-

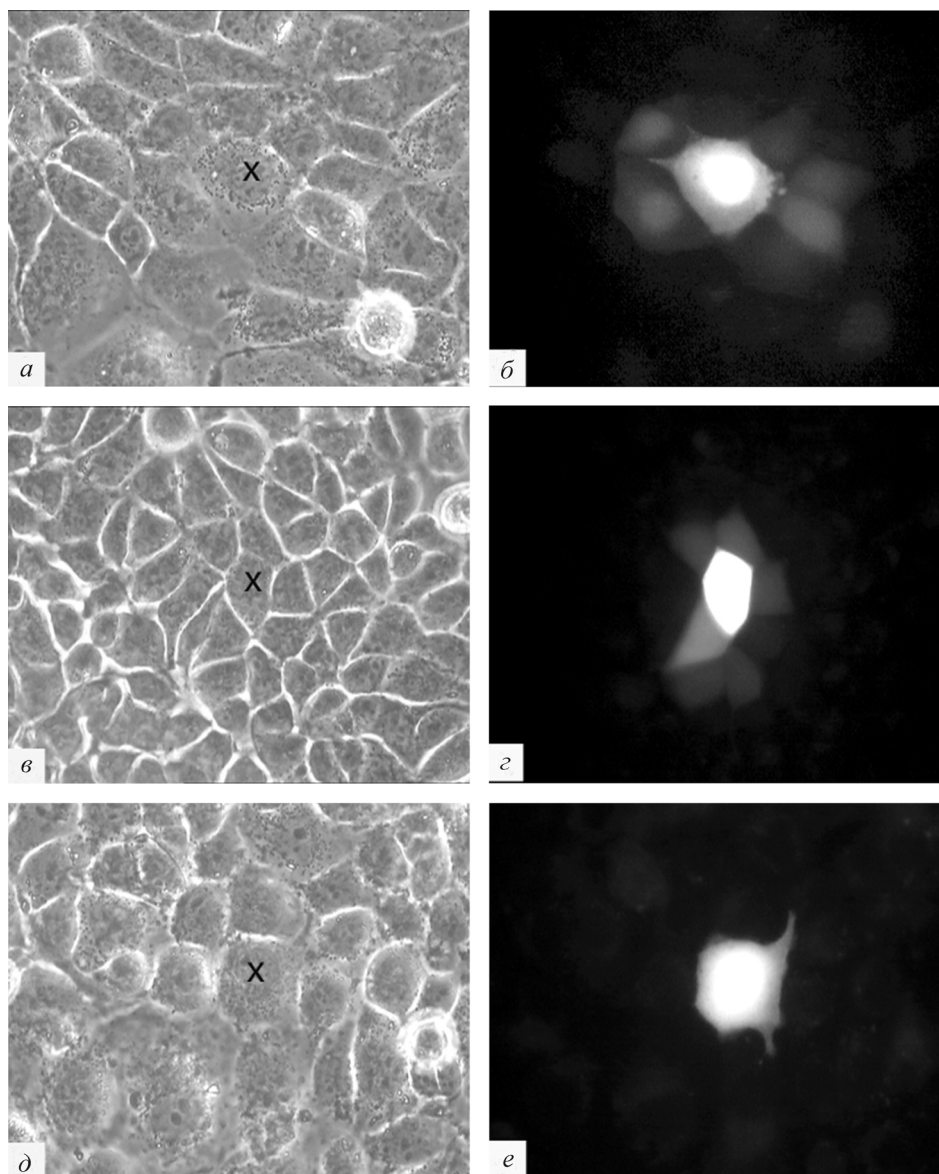


Рис. 4. Распространение люциферового желтого в культуре клеток гепатомы 27 при действии 3-метилхолантрена (5 мкг/мл) в течение 1 (в, з) и 24 (д, е) ч.

Показаны фазово-контрастные (а, в, д) и соответствующие им флуоресцентные (б, з, е) изображения; а, б — контроль.

цией Ah-рецептора (De Naan et al., 1994; Baker et al., 1995). Таким образом, механизм реализации промоции в клетках зависит от экспрессии в трансформированных клонах (объект воздействия промоторов) тех или иных генов. В то же время показано, что трансформированные клоны могут существенно различаться по экспрессии в них как изоформ CYP, так и Ah-рецептора (Evteev et al., 2007). Настоящие данные свидетельствуют о том, что инициированные клетки с отсутствием CYP и (или) Ah-рецептора не будут превращаться в опухоль при воздействии β -нафтофлавона или бенз/а/антрацена, но будут при помощи БП или 3-метилхолантрена (возможно, и других загрязнителей окружающей среды).

Список литературы

- Шаровская Ю. Ю., Вайман А. В., Соломатина Н. А., Кобляков В. А. 2004. Ингибирование межклеточных щелевых контактов канцерогенными полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ) в культуре клеток в отсутствие метаболического превращения ПАУ. Биохимия. 69 (4) : 511—518.
- Шаровская Ю. Ю., Ракитская Т. И., Кобляков В. А. 2003. Действие ряда полициклических ароматических углеводородов на межклеточные щелевые контакты в культуре клеток гепатомы Hep G2. Цитология. 45 : 51—58.
- Baker T. K., Kwiatkowski A. P., Madhukar B. V., Klaunig J. E. 1995. Inhibition of gap junctional intercellular communication by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in rat hepatocytes. Carcinogenesis. 16 : 2321—2326.
- Blaha L., Kapplova P., Vondracek J., Upham B., Machala M. 2002. Inhibition of Gap-junctional intercellular communication by environmentally occurring polycyclic aromatic hydrocarbons. Toxicol. Sci. 65 : 43—51.
- Bock K. W., Köhle C. 2005. Ah receptor- an TCDD-mediated liver tumor promotion: clonal selection and expansion of cells evading growth arrest and apoptosis. Biochem Pharmacol. 69 : 1403—1408.
- De Haan L. H., Simons J. W., Bos A. T., Aarts J. M., Denison M. S., Brouwer A. 1994. Inhibition of intercellular communication

tion by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and dioxin-like PCBs in mouse hepatoma cells (Hepa1c1c7): involvement of the Ah receptor. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 129 : 283—293.

Evtcev V. A., Shcherbak N. P., Koblyakov V. A. 2007. Regulation of expression of cytochrome P450 family 1 in cell cultures at different stages of tumor transformation. *Cell and Tissue Biol.* 1 : 34—39.

Henclova P., Vrzal R., Ulrichova J., Dvorak Z. 2008. Role of mitogen-activated protein kinases in aryl hydrocarbon receptor signaling. *Chem. Biol. Interact.* 172 : 93104.

Hossain A., Tsuchiya S., Minegishi M., Osada M., Ikava S., Tezuka F., Kaji M., Konno T., Watanabe M., Kikuchi H. 1998. The Ah receptor is not involved in 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-mediated apoptosis in human leucemic T cell lines. *J. Biol. Chem.* 273 : 1953—1958.

Oikawa K., Ohbayashi T., Mimura J., Iwata R., Kameta A., Evine K., Iwaya K., Fujii-Kuriyama Y., Kuroda M., Mukai K. 2001. Dioxin suppresses the checkpoint protein, MAD2, by an aryl hydrocarbon receptor-independent pathway. *Cancer Res.* 61 : 5707—5709.

Rummel A. M., Trosko J. E., Wilson M. R., Upham B. L. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons with bay-like regions inhibited gap junctional intercellular communication and stimulated MAPK activity. *Toxicol. Sci.* 49 : 232—240.

Schrenk D., Schmitz H. J., Bohnenberger S., Wagner B., Wornner W. 2004. Tumor promoters as inhibitors of apoptosis in rat hepatocytes. *Toxicol. Lett.* 149 : 43—50.

Sharovskaja Yu. Yu., Chailakhjan L. M., Margolis L. B. 1988. Induction of intercellular communications in epithelial cell culture. *Exp. Cell Res.* 175 : 404—408.

Sharovskaya Y., Kobliakova I., Solomatina N., Kobliakov V. 2006. Effect of some carcinogenic and non-carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons on gap junction intercellular communications in hepatoma cell cultures. *Eur. J. Cell Biol.* 85 : 387—397.

Shoda T., Mitsumori K., Onodera H., Toyoda K., Uneyama C., Takada K., Hirose M. 2000. Liver tumor-promoting effect of beta-naphthoflavone a strong CYP 1A1/2 inducer, and the relationship between CYP1A1/2 induction and Cx32 decrease in its hepatocarcinogenesis in the rat. *Toxicol. Pathol.* 28 : 540—547.

Tan Z., Chang X., Puga A., Xia Y. 2002. Activation of mitogen-activated protein kinases (MAPKs) by aromatic hydrocarbons: role in the regulation of aryl hydrocarbon receptor (AHR) function. *Biochem. Pharmacol.* 64 : 771—780.

Trosko J. E., Chang C. C., Upham B. L., Tai M. H. 2005. The role of human adult stem cells and cell-cell communication in cancer chemoprevention and chemotherapy strategies. *Mutat. Res.* 591 : 187—197.

Warn-Cramer B., Cottrel G., Burt J., Lau A. 1998. Regulation of connexin-43 gap junction intercellular communication by mitogen-activated protein kinase. *J. Biol. Chem.* 273 : 9188—9196.

Zefferino R., Elia G., Lasalvia M., Piccoli C., Boffoli D., Capitano N., Ambrosi L. 2005. The study of gap junction intercellular communication in keratinocytes as screening of promoter effect induced by industrial and environmental toxic substances. *Med. Lav.* 96 : 222—230.

Поступила 25 XII 2008

Ah RECEPTOR-INDEPENDENT INHIBITION OF GAP JUNCTION
INTERCELLULAR COMMUNICATIONS IN HEPATOMA CELL CULTURE 27
BY POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS

N. A. Bolotina,¹ Yu. Yu. Sharovskaya,² V. A. Kobliakov¹

¹ Institute of Carcinogenesis, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, Moscow,
and ² A. N. Belozersky Institute of Physical-Chemical Biology, Moscow State University;
¹ e-mail: kobliakov@crc.umos.ru

One of the systems that regulate tissue homeostatis is gap junction intercellular communications (GJIC). Inhibition of GJIC is widely used in experiments as a characteristic of tumor promotion. It is accepted that the down-regulation of GJIC is tightly related with the tumor-promoting properties of carcinogens. In this study, the effect of some carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons on GJIC in cell cultures of hepatoma 27 lacking cytochrome P450 and Ah receptor was investigated. It was shown that inter 6 compounds studied only benzo/a/pyrene and 3-methylcholanthrene were able to inhibit GJIC. We have concluded that an unknown factor is present in hepatoma cells and its interaction with some polycyclic aromatic hydrocarbons results in GJIC inhibition. The investigation of mutual effect of benzo/a/pyrene and non carcinogenic benzo/e/pyrene with similar structure has shown that GJIC inhibition by benzo/a/pyrene is at least double stepped.

Key words: carcinogenesis, gap junction intercellular communications, polycyclic aromatic hydrocarbons, Ah receptor.