

## АКТИВАЦИЯ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NF-κB В КЛЕТКАХ ГЕПАТОМ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КАНЦЕРОГЕННЫХ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

© М. С. Волков, В. А. Кобляков

Институт канцерогенеза Российского онкологического научного центра им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва;  
электронный адрес: kobliakov@rambler.ru

Исследовали влияние канцерогенных полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) бензо(а)пирена (БП) и 3-метилхолантрена (МХ) на активацию транскрипционного фактора NF-κB в культуре клеток, экспрессирующих Ah-рецептор (гепатомы человека HepG2), и в культуре клеток, в которой экспрессия Ah-рецептора отсутствовала (гепатомы крысы Г27). Активность NF-κB определяли двумя методами: по уровню экспрессии мРНК NF-κB-зависимого гена *I-κB* и по активности репортерного люциферазного гена, находящегося под промотором NF-κB. В пролиферирующих клетках Hep G2 оба ПАУ (и БП, и МХ) мало увеличивали активность NF-κB. В покоящихся клетках увеличение активности NF-κB было значительно больше. В клетках гепатомы Г27 активация NF-κB под действием ПАУ значительно эффективнее, чем в клетках HepG2, как в состоянии покоя, так и при пролиферации. Обсуждается роль Ah-рецептора во влиянии ПАУ на активацию NF-κB.

Ключевые слова: канцерогенез, NF-κB, полициклические ароматические углеводороды, Ah-рецептор.

Принятые сокращения: БП — бензо(а)пирен, МХ — 3-метилхолантрен, ПАУ — полициклические ароматические углеводороды, ТХДД — 2,3,7,8 — тетрахлор-дибенздиоксин.

Химический канцерогенез — 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. Неизвестно, реализуется ли стадия промоции по такой же схеме, как и в двухстадийном канцерогенезе (т. е. по негенотоксическому механизму), в какой форме (исходной или метаболитизированной) действует соединение, изменяется ли функционирование тех же регуляторных систем, которые изменяются на модели двухстадийного канцерогенеза. Принято считать, что необходимые свойства опухолевых промоторов следующие: способность стимулировать пролиферацию, блокировать апоптоз и нарушать функционирование межклеточных щелевых контактов (Кобляков, 1998; Rakitsky et al., 2000). Эти эффекты для различных типов опухолевых промоторов продемонстрированы как в культуре клеток, так и в опытах *in vivo*. Стимуляция пролиферации и блокирование апоптоза связаны с активацией транскрипционного фактора NF-κB.

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. В результате окисления образуются промежуточные высокоактивные метаболиты. Показано, что подобные метаболиты, в частности диолэпоксиды, являются агентами, иницирующими опухоль. В то же время механизм реализации стадии промоции остается неизвестным. Помимо образования метаболитов ПАУ у этого класса канцерогенов выявлен еще один эффект, обусловленный взаимодействием неметаболизированной молекулы вещества с цитоплазматическим Ah-рецептором. Активированный взаимодействием с ПАУ Ah-рецептор транспортируется в ядро, где функционирует как транскрипционный фактор, вызывая активацию генов, кодирующих изоформы цитохрома P450 и других ферментов метаболизма ксенобиотиков (Denison, Whitlock, 1995).

Влияние длительной активации Ah-рецептора на функции организма изучали с помощью соединений, которые другими известными свойствами, кроме как взаимодействием с Ah-рецептором, не обладали. Было показано, что длительное введение животным лигандам Ah-рецептора, подобных хлорированным диоксином, вызывает различные нарушения в функционировании организма, в том числе и промоцию канцерогенеза (Schrenk et al., 2004;

Bock, Kohle, 2005). Исследования, проведенные в последнее время, продемонстрировали, что активированный Ah-рецептор, осуществляющий передачу индукционного сигнала, взаимодействует с различными регуляторными белками, такими как белок ретинобластомы и др., изменяя их функциональную активность (Ge, Elferink, 1998; Kim et al., 2000; Tian et al., 2002).

Ранее нами было показано, что канцерогенные ПАУ способны при определенных условиях стимулировать пролиферацию клеток в культуре и нарушать межклеточные щелевые контакты (Гужаева и др., 1999; Sharovskaya et al., 2006). В настоящей работе мы продолжили изучение влияния канцерогенных ПАУ на функции клеток в культуре, изменение которых могут обуславливать эффект опухолевой промоции. В качестве объекта исследования выбрали систему активации транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B. Этот транскрипционный фактор является важным элементом в передаче пролиферативного и анти-апоптотического сигналов. Показано, что в процессе опухолевой промоции активируется этот транскрипционный фактор (Okamoto et al., 2007; Karin, 2008; Bollrath, Greten, 2009).

В настоящей работе исследовали влияние ряда ПАУ на активность NF- $\kappa$ B в клетках гепатомы, экспрессирующих (HepG2) и не экспрессирующих (Г27) Ah-рецептор. Показали, что лиганды Ah активируют NF- $\kappa$ B в клетках обоих типов, но канцерогенные ПАУ активируют NF- $\kappa$ B более эффективно в клетках Г27, не имеющих Ah-рецептора. Нахождение клеток в состоянии покоя усиливает эффект канцерогенов.

## Материал и методика

В работе использовали клетки гепатомы человека HepG2 и гепатомы Г27 крысы. Клетки HepG2 были получены из ATCC (American Type Culture Collection, США). Гепатома Г27 представляет собой низкодифференцированную перевиваемую опухоль, полученную действием химического канцерогена на беспородных крыс (Швембергер, 1970). Для культивирования клетки Г27 получали из подкожной опухоли крысы с помощью следующей процедуры: гепатому стерильно удаляли, отделяли участок, свободный от некрозов, помещали его в охлажденный раствор смеси трипсина с версеном (1 : 1), выдерживали 24 ч при 4 °С, промывали раствором Хенкса и добавляли среду, представляющую собой смесь сред DMEM и RPMI (1 : 1), содержащую 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (Flow, Австрия) и 100 мкг/мл гентамицина. Клеточную суспензию в количестве 70 000 клеток высевали во флаконы Корреля. Через 24 ч проводили смену среды для удаления неприкрепившихся клеток. Далее клетки обоих типов культивировали в смеси сред DMEM и RPMI (1 : 1), содержащей 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (HyClone, UT, США). Для перевода клеток в состояние покоя их в течение 3 сут культивировали в среде с содержанием сыворотки 0.5 %.

В качестве канцерогенов использовали бензо(а)пирен (БП) и 3-метилхолантрен (МХ) (Fluka, Австрия). Канцерогены растворяли 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 добавляли непосредственно к испытываемым клеткам до конечной концен-

трации 5 мкг/мл. Концентрация ацетона была меньше 0.1 %.

**Реакция ОТ-ПЦР.** Для выделения мРНК использовали TRI-реагент (Sigma, США) согласно протоколу, рекомендуемому фирмой-производителем. Концентрацию тотальной РНК определяли, измеряя оптическую плотность при длине волны 260 нм. Для получения кДНК проводили реакцию обратной транскрипции (ОТ) с синтетическими гексануклеотидами. Для проведения реакции использовали 1 мкг тотальной РНК. Реакцию проводили при 37 °С в течение 1 ч, далее выдерживали 5 с при 94 °С для инактивации фермента. Полученную кДНК использовали для полимеразной цепной реакции (ПЦР). Во всех экспериментах проводили контрольную реакцию с использованием дистиллированной воды вместо РНК. ПЦР для всех изучаемых генов проводили по следующей схеме: денатурация при 94 °С в течение 40 с; отжиг праймеров (62 °С, 10 с); синтез продукта (72 °С, 10 с); выдержка 2 мин после прохождения циклов при 72 °С. Число циклов варьировало от 22 до 32 в зависимости от изучаемого гена. В качестве контроля использовали РНК вместо кДНК. В ОТ-ПЦР использовали следующие ферменты — обратная транскриптаза, MuLV и Taq-SE (Fermentas, Латвия). Праймеры и гексануклеотиды были синтезированы фирмой Литех (Россия). Праймеры для I- $\kappa$ B: прямой 5'-CCA TGA AGA AAA GGC ACT GAC CAT GG-3' и обратный 5'-GCC ATT ACA GGG CTC CTG AGC ATT G-3'. Для сравнения использовали гены домашнего хозяйства — ген  $\beta$ -актина для клеток Г27 крысы и ген глицеро-3-фосфогидрогеназы (GAPDH) для клеток HepG2 человека. Праймеры к  $\beta$ -актину: прямой 5'-TGC AGA AGG AGA TTA CTG CC и обратный 5'-GCA GCT CAG TAA CAG TCC G. Праймеры к GAPDH: прямой 5'-CCC CTG GCC AAG GTC ATC CAT GAC AAC TTT-3' и обратный 5'-GGC CAT GAG GTC CAC CAC CCT GTT GCT GTA-3'.

Колличество кДНК для амплификации специфических генов уравнивали по количеству мРНК  $\beta$ -актина для гепатомы Г27 и по GAPDH для клеток HepG2. Реакцию ОТ и реакции амплификации проводили на приборе «Терциг» (Россия). Продукты ОТ-ПЦР разделяли стандартным электрофоретическим методом при напряжении 150 В в 2%-ном агарозном геле, приготовленном на ТВЕ-буфере, в течение 30 мин. Электрофореграммы денсиметрировали. При анализе гелей использовали программу Scion Image, версия 4.0.2.

**Трансфекция гена NF- $\kappa$ B и определение активности репортерного гена.** Для определения транскрипционной активности NF- $\kappa$ B клетки трансфицировали плазмидой, содержащей люциферазный репортерный ген под контролем респонсивного элемента NF- $\kappa$ B. Используемая в данной работе плаزمида была любезно предоставлена А. В. Гаспаряном. Трансфекцию проводили в течение 24 ч при 37 °С в среде без сыворотки. В качестве трансфицирующего агента для клеток Г27 использовали Polifect (Qiagen, США), а для клеток HepG2 — Fugene 6 (Roche, Швейцария). Для контроля эффективности трансфекции клетки также трансфицировали плазмидой, содержащей  $\beta$ -галактозидазу. Эксперименты проводили в течение 48 ч после трансфекции. Люциферазную активность измеряли согласно стандартному протоколу (Promega, USA) на приборе Turner BioSystems 20/20 n luminometer (США) и рассчитывали из соотношения активности люциферазы и  $\beta$ -галактизидазы и выражали в отн. ед.

Данные представлены средними значениями как минимум из трех независимых экспериментов.

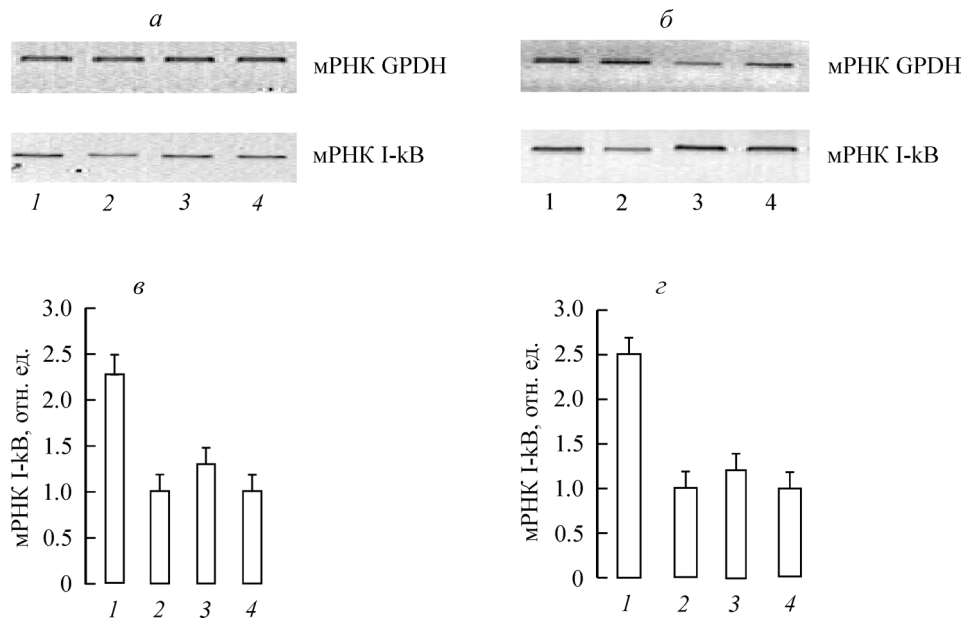


Рис. 1. Уровень мРНК гена I-kB после воздействия бензо(а)пирена (БП, а) или 3-метилхолантрена (МХ, б) на клетки гепатомы НерG2, культивируемые в стандартных условиях или в состоянии покоя.

Дорожки: 1, 2 — клетки, находящиеся в состоянии покоя соответственно в отсутствие (2) и в присутствии (1) БП (а) или МХ (б); 3, 4 — клетки, культивируемые в стандартных условиях соответственно в отсутствие (4) и в присутствии (3) БП (а) или МХ (б). Графики (в, г) показывают результаты денситометрического сканирования электрофореграмм (соотношение полосы I-kB к полосе GPDH, отн. ед.).

## Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены данные по экспрессии мРНК гена I-kB в культуре клеток гепатомы НерG2 под действием канцерогенов БП и МХ в пролиферирующих клетках и в клетках, находящихся в состоянии покоя. В покоящихся клетках действие канцерогенов значительно, экспрессия мРНК I-kB под действием канцерогенов увеличивается более чем в 2 раза. В клетках, находящихся в состоянии пролиферации, уровень мРНК I-kB под действием канцерогенов имеет тенденцию к увеличению по сравнению с контролем, но эффект статистически недостоверен. В клетках гепатомы Г27 активация экспрессии мРНК I-kB в состоянии покоя под действием изучаемых

канцерогенов выше, чем в клетках гепатомы НерG2 (рис. 2). В пролиферирующих клетках Г27 эффект БП снижается так же, как и в случае с клетками НерG2, однако уровень мРНК I-kB остается выше, чем в контрольных клетках. В отличие от БП действие МХ одинаково значительно как в покоящихся клетках, так и в пролиферирующих. Поскольку трансфекция клеток (согласно методике) производится в бессывороточной среде, активацию NF-kB методом трансфекции определяли только в покоящихся клетках. Как видно на рис. 3, в клетках гепатомы Г27 эффективность активации NF-kB при действии БП, и МХ значительно выше, чем в клетках НерG2, что соответствует результатам, приведенным на рис. 1 и 2.

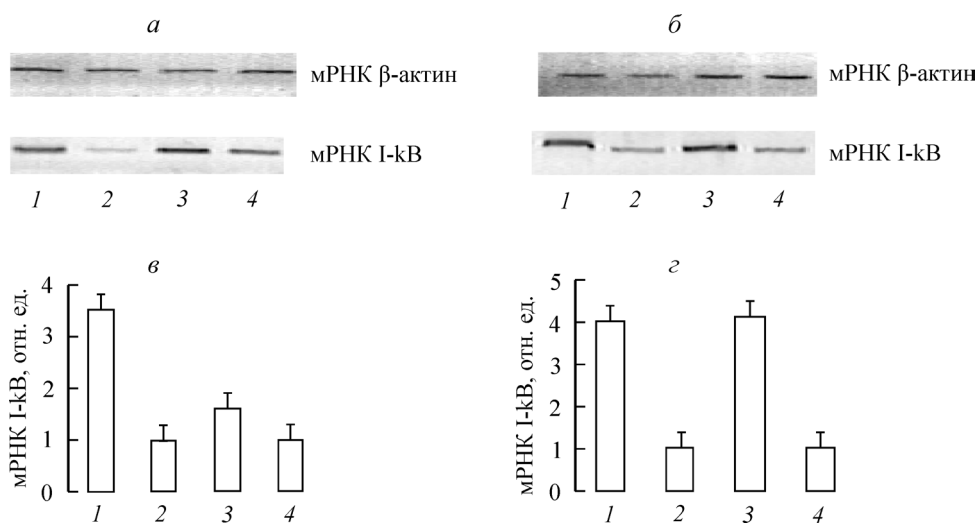


Рис. 2. Уровень мРНК гена I-kB после воздействия бензо(а)пирена (БП) или 3-метилхолантрена (МХ) на клетки гепатомы Г27, находящиеся в стандартных условиях или в состоянии покоя.

Объяснения те же, что и к рис. 1.

Активация NF-kB является важным элементом действия соединений, вызывающих опухолевую промоцию (Hsu et al., 2000; Karin, 2008; Bollrath, Greten, 2009). Принято считать, что негенотоксические эффекты канцерогенных ПАУ, такие как индукция ферментов, обусловлены активацией Ah-рецептора. Для многих опухолевых промоторов (хлорированных диоксинов, нафтофлавонов) выявлен только один объект воздействия — Ah-рецептор. Однако анализ данных литературы свидетельствует о том, что существует феномен биологического эффекта лигандов Ah-рецептора в клетках, в которых отсутствовал Ah-рецептор. Показано, что 2,3,7,8-тетрахлор-дибенздиоксин (ТХДД) стимулировал MAP-киназный каскад в клетках независимо от Ah-рецептора (Oikawa et al., 2001). ТХДД вызывал апоптоз в Т-клетках, в которых отсутствовал Ah-рецептор (Hossain et al., 1998). Анализ активации генов быстрого ответа, таких как *fos* и *jun*, при действии ТХДД показал, что активация происходит по нескольким механизмам и по крайней мере один из них не зависит от Ah-рецептора (Hoffer et al., 1996). Активация MAP-киназ при действии ТХДД наблюдается в культуре клеток, в которых отсутствует Ah-рецептор (Tian et al., 2002).

Установлено, что в клетках гепатомы мышей Нера 1c1c7 антиапоптотическое действие БП не ингибируется  $\alpha$ -нафтофлавоном — веществом, которое одновременно является и ингибитором метаболизма ПАУ, и антагонистом Ah-рецептора (Solhaug et al., 2004). Показано, что БП одинаково эффективно активировал MAP-киназный каскад в клетках нормальных мышей и в клетках, полученных из мышей с нокаутированным геном Ah-рецептора (Tan et al., 2002). В макрофагах человека БП стимулировал экспрессию TNF $\alpha$ , которая не уменьшалась при действии антагонистов Ah-рецептора, из чего авторы делают вывод о том, что этот эффект не связан с активацией Ah-рецептора (Lecureur et al., 2005). В другой работе (Ide et al., 2004) показано, что канцерогенная активность 7,12-диметилбенз(а)антрацена одинакова в мышцах, имеющих Ah-рецептор, и в мышцах, нокаутированных по его гену. Все приведенные данные свидетельствуют о том, что некоторые эпигенетические эффекты ПАУ и других лигандов Ah-рецептора могут реализовываться независимо от Ah-рецептора. Из этого следует, что в клетках помимо известных путей, реализующих биологический эффект ПАУ, существует по крайней мере еще один путь, обусловленный взаимодействием исходной немембранной молекулы вещества с неизвестным компонентом клетки. Активация NF-kB — не единственный результат этого взаимодействия.

Ранее нами было показано ингибирование межклеточных щелевых контактов при действии БП и ряда других канцерогенных ПАУ (Шаровская и др., 2004; Sharovskaya et al., 2006) как в клетках гепатомы НерG2, так и в клетках гепатомы Г27. Поскольку межклеточные щелевые контакты нарушаются в одинаковой степени в клетках гепатом Г27 и НерG2, можно сделать вывод о том, что это действие канцерогенов не связано с активацией NF-kB. Различия действий БП на клетки гепатом Г27 и НерG2 по активации транскрипционного фактора NF-kB можно объяснить следующим образом. В клетках гепатомы НерG2 присутствуют как Ah-рецептор, так и неизвестный акцептор БП, активирующий NF-kB. Поскольку активированный Ah-рецептор способен взаимодействовать с NF-kB, блокируя его функцию (Tian et al., 2002), в клетках с Ah-рецептором, таких как НерG2, в этой конкуренции действие Ah-рецептора более эффективно. В резуль-

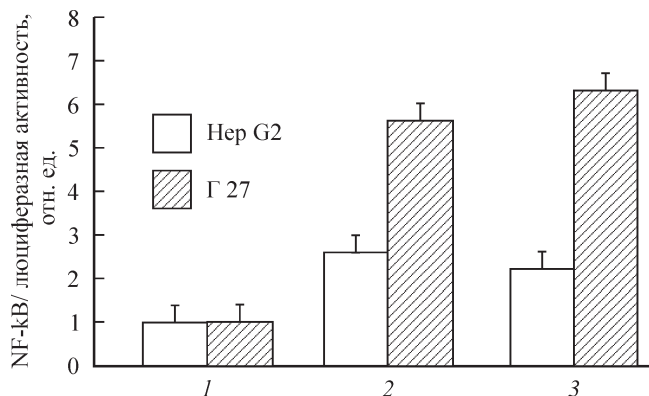


Рис. 3. Влияние БП и МХ на транскрипционную активность NF-kB в клетках гепатом НерG2 и Г27.

1 — контрольные клетки; 2 — клетки, подвергнутые воздействию бензо(а)пирена (БП); 3 — клетки, подвергнутые воздействию 3-метилхолантрена (МХ). Клетки трансфицировали плазмидой, содержащей репортерный люциферазный ген под промотором NF-kB, и плазмидой, содержащей  $\beta$ -галактицидазный ген. Через 24 ч после трансфекции клетки обрабатывали или растворителем (контрольные клетки), или БП, или МХ в концентрации 5 мкг/мл. Активность измеряли через 1 сут после воздействия.

тате активация очень слаба при действии БП. В гепатоме Г27 отсутствует Ah-рецептор, и активации NF-kB ничего не препятствует. Интересен тот факт, что в клетках, находящихся в состоянии покоя, активация гена NF-kB значительно выше, чем в клетках, находящихся в состоянии пролиферации.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 10-04-00107).

#### Список литературы

- Гужаева Е. Л., Осташкина Н. М., Кондаленко В. Ф., Кобляков В. А. 1999. Различные пути передачи митогенного и индуцирующего сигналов при действии индукторов цитохрома P450 Биохимия. 64(8) : 1105—1109.
- Кобляков В. А. 1998. Индукторы цитохрома P-450 как промоторы канцерогенеза. Биохимия. 63(8) : 1043—1058.
- 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.
- Швембергер И. Н. 1970. Перевиваемый штамм гепатомы крысы Г-27 Цитология. 12 (12) : 1057—1059.
- Bock K., Kohle C. 2005. Ah receptor and TCDD-mediated liver tumor promotion: clonal selection and expansion of cells evading growth arrest and apoptosis. Biochem. Pharmacol. 69 : 1403—1408.
- Bollrath J., Greten F. R. 2009. IKK/NF-kappaB and STAT3 pathways: central signalling hubs in inflammation-mediated tumour promotion and metastasis. EMBO Rep. 10 : 1314—1319.
- Denison M. S., Whitlock J. P., Jr. 1995. Xenobiotic-inducible transcription of cytochrome P450 genes. J. Biol. Chem. 270 : 18 175—18 178.
- Ge N., Elferink C. 1998. A direct interaction between the aryl hydrocarbon receptor and retinoblastoma protein J. Biol. Chem. 273 : 22 708—22 713.
- Hoffer A., Chang C., Puga A. 1996. Dioxin induces transcription of *fos* and *jun* genes by Ah receptor-dependent and -independent pathways. Toxicol. Appl. Pharm. 141 : 238—247.
- Hossain A., Tsuchiya S., Minegishi M., Osada M., Ikawa 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.

Hsu T. C., Young M. R., Cmarik J., Colburn N. H. 2000. Activator protein 1 (AP-1)- and nuclear factor kappaB (NF-kappaB)-dependent transcriptional events in carcinogenesis. *Free Rad. Biol. Med.* 28 : 1338—1348.

Ide F., Suka N., Kitada M., Sakashita H., Kusama K., Ishikawa T. 2004. Skin and salivary gland carcinogenicity of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene is equivalent in the presence or absence of aryl hydrocarbon receptor. *Cancer Lett.* 214 : 35—44.

Karin M. 2008. The I kappa B kinase — a bridge between inflammation and cancer. *Cell Res.* 18 : 334—342.

Kim D. W., Gazourian L., Quadri S. A., Romieu-Mourez R., Sherr D. H., Sonenshein G. E. 2000. The RelA NF-kappaB subunit and the aryl hydrocarbon receptor (AhR) cooperate to transactivate the c-myc promoter in mammary cells. *Oncogene.* 19 : 5498—5506.

Lecureur V., Ferrec E. L., N'diaye M., Vee M. L., Gardyn C., Gilot D., Fardel O. 2005. ERK-dependent induction of TNFalpha expression by the environmental contaminant benzo(a)pyrene in primary human macrophages. *FEBS Lett.* 579 : 1904—1910.

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.

Okamoto T., Sanda T., Asamitsu K. 2007. NF-kappa B signaling and carcinogenesis. *Curr. Pharm. Des.* 13 : 447—462.

Rakitsky V., Koblyakov V., Turusov V. 2000. Nongenotoxic (epigenetic) carcinogens: pesticides as an example. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* 20 : 229—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.

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

Solhaug A., Refsnes M., LaEg M., Schwarze P. E., Husøy T., Holme J. 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons induce both apoptotic and anti-apoptotic signals in Hepa1c1c7 cells. *Carcinogenesis.* 25 : 809—819.

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.

Tian Y., Rabson A., Gallo M. 2002. Ah receptor and NF-kappaB interactions: mechanisms and physiological implications. *Chem. Biol. Interact.* 141 : 97—115.

Поступила 8 XII 2010

#### ACTIVATION OF TRANSCRIPTION FACTOR NF-kB BY CARCINOGENIC POLYCYCLIC AROMATIC HYDRICARBONS

M. S. Volkov, V. A. Kobliakov

Institute of Carcinogenesis, N. N. Blokhin Cancer Research Centre RAMS, Moscows;  
e-mail: kobliakov@rambler.ru

Effect of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) benzo(a)pyrene (BP) and 3-methylcholantrene (MC) on transcription factor NF-kB activation was studied. The determination of NF-kB activity was performed by two different methods: determination of mRNA expression of NF-kB-dependent *I-kB* gene, and determination of transcription activity of co-transfected with the plasmid containing the luciferase reporter gene under the NF-kB-sensitive promoter. As a subject of inquiry the hepatoma cell cultures HepG2 expressed Ah receptor and G27 not expressed Ah receptor were used. BP and MC weekly enhanced NF-kB activity in proliferating HepG2 cells. The enhance of NF-kB activity was significantly higher in resting cells. NF-kB activation by BP and MC in hepatoma G27 cells was significantly higher in hepatoma G27 cells than in HepG2 cells both in proliferating and resting cells. The role of Ah receptor in PAH action on NF-kB activation is discussed.

Key words: Ah receptor, carcinogenesis, NF-kB, polycyclic aromatic hydrocarbons.