

GRAŻYNA KOSTKA, DANUTA PALUT, BOŻENA WIADROWSKA

WPŁYW PERMETRYNY I DDT NA AKTYWNOŚĆ FORM
MOLEKULARNYCH CYTOCHROMU P-4501A I 2B W WĄTROBIE
SZCZURA

EFFECT OF PERMETHRIN AND DDT ON THE ACTIVITY OF CYTOCHROME
P-4501A AND 2B MOLECULAR FORMS IN RAT LIVER

Zakład Toksykologii Środowiskowej, Państwowy Zakład Higieny
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24
Kierownik: prof. dr hab. J.K. Ludwicki

Porównano wpływ pestycydów: DDT i permetryny na indukcję form molekularnych cytochromu P-4501A i 2B. Stwierdzono, że permetrynę, podobnie jak DDT, zaliczyć można do induktorów cytochromu P-4502B-typu fenobarbitalu.

Cytochrom P-450 stanowi końcową oksydazę układu enzymatycznego zwanego systemem monoooksygenaz o funkcji mieszanej (MFO), którego podstawową funkcją jest udział w biotransformacji endo- i egzogennej substancji chemicznych. W reakcjach katalizowanych przez cyt. P-450 substancje chemiczne przekształcane są zazwyczaj w mniej aktywne metabolity, ulegające następnie procesom sprzęgania i wydalania. W wielu jednak przypadkach układ monoooksygenaz zależnych od cyt. P-450 przyczynia się do powstawania reaktywnych metabolitów elektrofilowych, które wywoływać mogą efekty cytotoksyczne, mutagenne i/lub kancerogenne w wyniku oddziaływania na RNA, DNA i białka [11].

Szereg związków chemicznych wykazuje działanie indukcyjne na układ monoooksygenaz związanych z cyt. P-450. W zależności od struktury chemicznej i rodzaju indukowanej formy molekularnej cyt. P-450 wyróżnia się między innymi induktory typu 3-metylocholanotrenu (3MC), indukujące cyt. P-4501A oraz induktory typu fenobarbitalu (Ph) stymulujące aktywność cyt. P-4502B [10]. Należy jednak podkreślić, że układ monoooksygenaz charakteryzuje się różną, aczkolwiek częściowo nakładającą się specyficznością substratową. Induktorom typu 3-MC przypisywana jest szczególna rola w procesie kancerogenezy i/lub mutagenezy. Indukcja bowiem cytochromów P-4501A związana jest najczęściej z aktywacją tych szlaków metabolicznych, które prowadzą do powstawania toksycznych, mutagennych i/lub kancerogennych metabolitów [15, 16]. Tak więc, indukcja określonej formy molekularnej cyt. P-450 stanowić może czuły wskaźnik ekspozycji pozwalający na zakwalifikowanie związku do odpowiedniej grupy induktorów enzymatycznych cyt. P-450 i pośrednie określenie charakteru oddziaływania związku.

Celem prezentowanej pracy było porównanie wpływu permetryny [ester 3-(fenoksy)-fenylo-metylowy kwasu 3(2,2-dichlorowinylo)-2,2-dimetylocyklopropanokarboksyłowego] oraz DDT [1,1-bis(p-chlorofenilo)-2,2,2-trichloroetan] na indukcję form molekularnych cyt. P-450 1A i 2B wątroby szczurów. Jako kontrole pozytywne zastosowano 3-metylocholanren i fenobarbital, klasyczne induktory odpowiednio cyt. P-4501A1/2 i 2B1/2. Permetryna należy do insektycydów z grupy syntetycznych pyretroidów, szeroko stosowanych w rolnictwie, leśnictwie, a także w higienie sanitarnej. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) zaliczyła permetrynę do związków, które nie mogą być klasyfikowane pod względem działania rakotwórczego dla ludzi (grupa 3). Brak jest również dostatecznych danych odnośnie rakotwórczego działania dla zwierząt [9]. Drugi z wytypowanych do badań pestycydów, DDT zakwalifikowano do grupy 2B – związków rakotwórczych dla zwierząt i przypuszczalnie rakotwórczych dla ludzi [9].

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Odczynniki:

Permetryna (95%, cis/trans 25:75) – firmy AgrEvo Environmental Health Ltd., Wielka Brytania; DDT (100%) – produkcji Instytutu Przemysłu Organicznego; Metylocholanren – Sigma Chemical Company (USA); Fenobarbital – Farmaceutyczno-Chemiczna Spółdzielnia Pracy „Galenus”; Rezorufina, 7-etoksyrezorufina i 7-pentoksyrezorufina – Sigma Chemical Company (USA)

Materiał biologiczny i schemat doświadczenia

Badania wykonano na samcach szczurów rasy *Wistar* (Pzh: WIS). Szczury o masie ciała 50–60 g umieszczano w klatkach (po 5 sztuk), w pomieszczeniu o temp. $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ z 12-godzinnym rytmem świetlnym i względnej wilgotności powietrza $50 \pm 10\%$. Zwierzęta w okresie adaptacji i doświadczeń otrzymywały paszę standardową i wodę *ad libitum*. Badania przeprowadzano na dojrzałych osobnikach o masie ciała 200 ± 10 g. Badane pestycydy podawano szczurom *per os*, sondą do żołądka w oliwie jadalnej 4-krotnie w odstępach dobowych w następujących dawkach:

- permetryna – 620, 124 i 62 mg/kg m.c. x dzień⁻¹, które odpowiadały 1/10, 1/50 i 1/100 wartości LD₅₀ wyznaczonych metodą *Weil'a* i *Deichmana* w pierwszym etapie badań.
- DDT – w dawce równej 1/5 i 1/10 wartości LD₅₀, co odpowiadało 24 mg/kg m.c. x dzień⁻¹ (jest to dawka zbliżona do cytowanej w monografii IARC doustnej dawki wywołującej nowotwory wątroby u samców szczurów rasy *Wistar*) i 12 mg/kg m.c. x dzień⁻¹.
- 3-Metylocholanren i fenobarbital podawano szczurom dootrzewnowo w odstępach dobowych odpowiednio trzykrotnie w dawce 25 mg/kg m.c. x dzień⁻¹ i czterokrotnie w dawce 60 mg/kg m.c. x dzień⁻¹. Grupy kontrolne zwierząt otrzymywały równoważną ilość oliwy jadalnej.

W 24 godziny po podaniu ostatniej dawki badanych związków zwierzęta dekapitowano, wypreparowane wątroby dokładnie przemywano roztworem KCl i ważono. Wątrobę następnie homogenizowano w roztworze KCl (3 ml/g mokrej tkanki) w homogenizatorze *Pottera-Elvejhe-ma*. Homogenat wirowano przy 9000 g przez 15 minut. W otrzymanym postmitochondrialnym supernatancie (frakcja S-9) oznaczano aktywność monoooksygenaz związanych z cyt. P-450 zmodyfikowaną przez autorów pracy metodą opisywaną przez Lubeta i wsp. [13]. Zasada metody polega na pomiarze O-dealkilacji 7-pentoksy- i 7-etoksyrezorufiny, które stanowią substraty monoooksygenaz związane odpowiednio z cytochromem P-4502B i 1A. Mieszanina inkubacyjna zawierała 1.7 ml buforu Tris o pH 7.6, 0.025 M MgCl₂ 0.02 ml substratu (7-etoksyrezorufiny – 1.7 μM; 7-pentoksyrezorufiny – 10 μM) oraz 0.2 ml frakcji S-9. Reakcja enzymatyczna inicjowana była przez dodanie 12.5 μM NADPH. Mieszaninę (końcowa objętość 2 ml) inkubowano przez 15 minut w temperaturze 37°C. Reakcję hamowano metanolem (2 ml). Wytrącone białko usuwano przez wirowanie prób przy 9000 obr/min. przez 10 minut. Fluorescencję produktu

(rezorufiny) mierzono przy $\lambda=522$ nm (wzbudzenia) i $\lambda=586$ (emisji). Aktywność 0-dealkilazy 7-pentoksy i 7-etoksyrezorufiny wyrażano w pmolach powstałej w ciągu 15 minut rezorufiny/mg białka. Białko oznaczano metodą *Lowry* i wsp. [12].

Dla oceny wyników stosowano test *t-Studenta*, przyjmując jako kryterium znamienności $p<0.05$.

WYNIKI

Efektom indukcji monoooksygenaz zależnych od cyt. P-450 jest między innymi przyrost masy wątroby i wzrost aktywności określonej formy molekularnej cyt. P-450. W tabeli I przedstawiono wpływ badanych związków na masę ciała zwierząt oraz masę wątroby, wyrażoną jako względny przyrost masy wątroby (RLW).

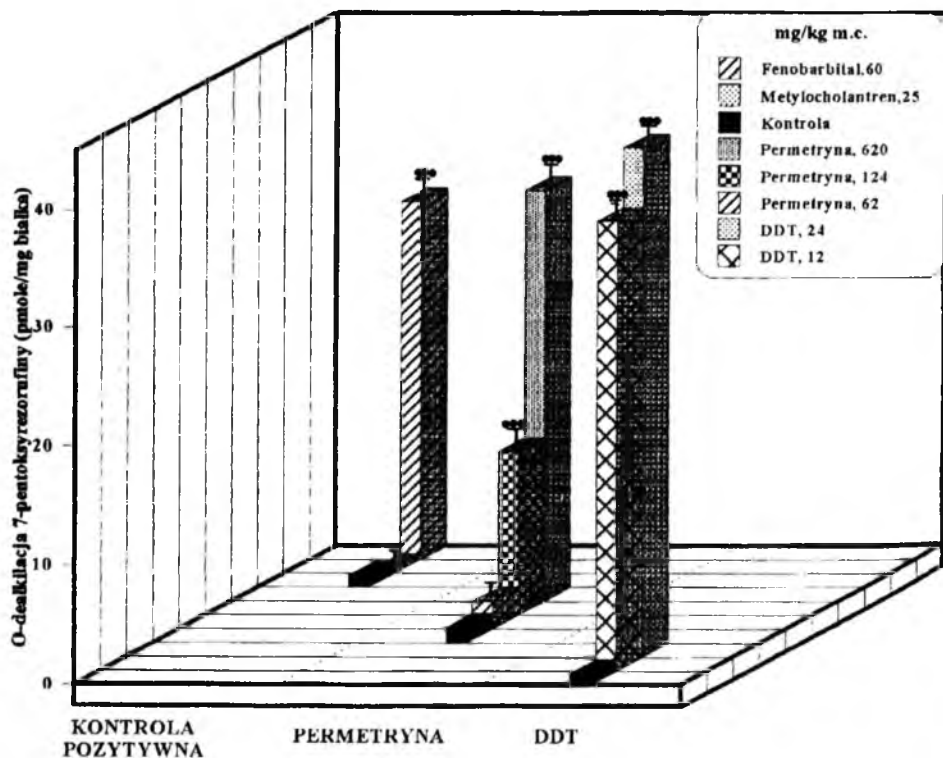
Tabela I. Wpływ badanych związków na masę ciała i względną masę wątroby (RLW) szczurów. Wartości średnie z 5 zwierząt \pm SEM; różnice statystycznie istotne w stosunku do poziomu kontrolnego - (*) $p<0.05$; (**) $p<0.01$; (***) $p<0.001$
Effect of tested compounds on body weight and relative liver weight (RLW) in rats. Means for five animals \pm SEM; significantly different from control - (*) $p<0.05$; (**) $p<0.01$; (***) $p<0.001$.

Rodzaj związku	Masa ciała, g		Masa wątroby, g	RLW
	Początkowa	Końcowa		
Permetryna 1/10 LD ₅₀	194 \pm 2	203 \pm 3	11.79 \pm 0.23	5.81 \pm 0.11***
Permetryna 1/50 LD ₅₀	199 \pm 4	214 \pm 4	9.55 \pm 0.30	4.46 \pm 0.15
Permetryna 1/100 LD ₅₀	203 \pm 2	215 \pm 5	9.37 \pm 0.50	4.36 \pm 0.23
Kontrola	196 \pm 6	214 \pm 8	9.46 \pm 0.43	4.42 \pm 0.08
DDT 1/5 LD ₅₀	198 \pm 6	208 \pm 3	11.54 \pm 0.06	5.29 \pm 0.06*
DDT 1/10 LD ₅₀	200 \pm 4	218 \pm 4	10.76 \pm 0.25	4.94 \pm 0.11
Kontrola	193 \pm 7	213 \pm 12	9.79 \pm 0.81	4.60 \pm 0.11
Metylocholanren	190 \pm 2	190 \pm 5	11.40 \pm 0.10	6.00 \pm 0.16**
Fenobarbital	195 \pm 3	205 \pm 8	11.30 \pm 0.50	5.53 \pm 0.24
Kontrola	185 \pm 6	205 \pm 10	8.70 \pm 1.50	4.78 \pm 0.12

W okresie doświadczalnym, średni przyrost masy ciała szczurów w grupach zwierząt kontrolnych wynosił 19.3 \pm 0.7 g. W wyniku oddziaływania badanych związków przyrost masy ciała zwierząt był obniżony o 10 do 50% w porównaniu do zwierząt kontrolnych. Najniższy przyrost masy ciała stwierdzono po narażeniu zwierząt na najwyższe dawki

badanych pestycydów tj. $1/10$ LD₅₀-permetryna i $1/5$ LD₅₀-DDT. Badane związki wywoływały również zróżnicowany wpływ na masę wątroby. Najwyższe dawki permetryny ($1/10$ LD₅₀) i DDT ($1/5$ LD₅₀) powodowały wzrost RLW odpowiednio o 30% ($p < 0.001$) i 15% ($p < 0.05$) w porównaniu do grupy zwierząt kontrolnych. 3-Metylocholanren stymulował przyrost względnej masy wątroby o 27% ($p < 0.01$), a fenobarbital podobnie jak DDT w dawce 24 mg/kg m.c. x dzień⁻¹ o ok. 15%, ale wzrost masy wątroby pod wpływem fenobarbitalu był statystycznie nieistotny.

Na ryc. 1 i 2 przedstawiono wpływ badanych związków na aktywność form molekularnych odpowiednio cytochromu P-4502B i 1A. W opisanych warunkach doświadczalnych stwierdzono silną indukcję cytochromu P-4502B pod wpływem permetryny i DDT (ryc. 1). W przypadku permetryny indukcja wykazywała zależność dawka – odpowiedź.



Ryc. 1. Wpływ badanych związków na O-dealkilację 7-pentoksyrezorufiny przez układ mono-oxygenaz zależnych od cyt. P-450 wątroby szczura.

Effect of tested compounds on the O-dealkylation 7-pentoxycoumarin by of cyt. P-450-dependent monooxygenases system in rat liver.

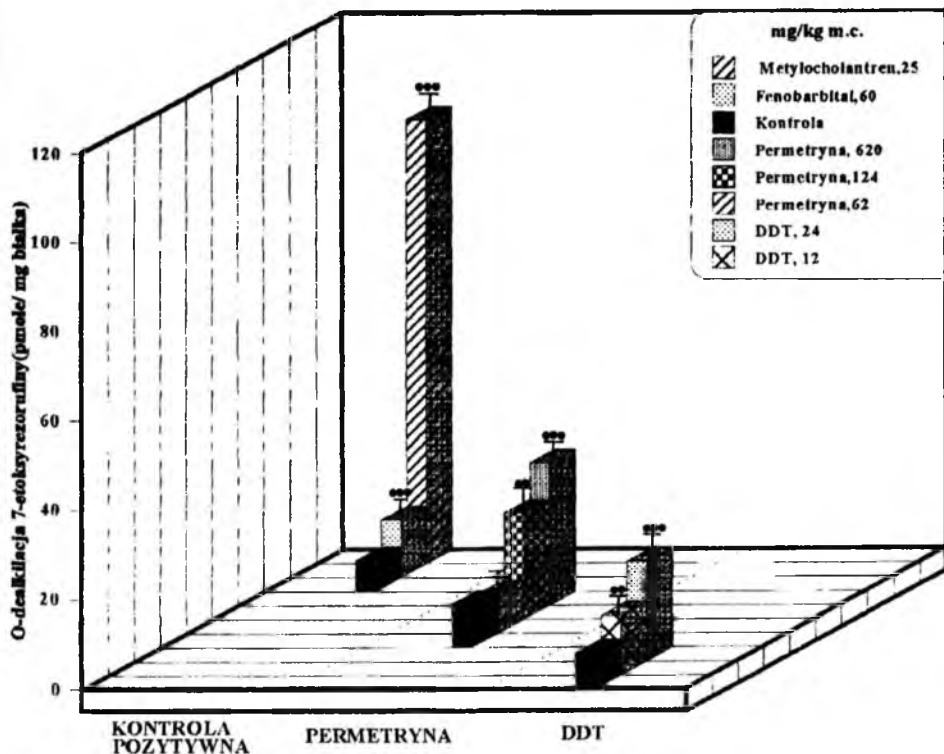
Wartości średnie z 5 zwierząt \pm SEM; różnice statystycznie istotne w stosunku do poziomu kontrolnego - (...) $p < 0.001$

Means for five animals \pm SEM; significantly different from control - (***) $p < 0.001$.

U zwierząt narażanych na permetrynę w dawce 620 mg/kg m.c. x dzień⁻¹ ($1/10$ LD₅₀) stwierdzono 26-krotny wzrost aktywności O-dealkilazy pentoksyrezorufiny ($p < 0.001$)

w stosunku do poziomu kontrolnego; dawka 124 mg/kg m.c. x dzień⁻¹, równoważna 1/50 LD₅₀ wywoływała 10-krotny wzrost aktywności enzymu ($p < 0.001$). Najniższa dawka permetryny (62 mg/kg m.c. x dzień⁻¹ = 1/100 LD₅₀) stymulowała metabolizm 7-pentoksyrezorufiny o 80%, jednak obserwowane zmiany były statystycznie nieistotne w porównaniu z kontrolą.

W odróżnieniu od permetryny, DDT indukował cytochrom P-4502B nie wykazując jednak zależności dawka – odpowiedź. DDT zarówno w dawce równoważnej 1/5 LD₅₀ (24 mg/kg m.c. x dzień⁻¹) jak i w dawce 12 mg/kg m.c. x dzień⁻¹ (1/10 LD₅₀) stymulował około 40-krotny wzrost aktywności enzymu we frakcji postmitochondrialnej wątroby szczurów w porównaniu z grupą zwierząt kontrolnych ($p < 0.001$). Fenobarbital, stosowany jako kontrola pozytywna wywoływał 30-krotny wzrost aktywności O-dealkilazy 7-pentoksyrezorufiny; u zwierząt narażonych na 3-metylocholanren stwierdzono spadek aktywności enzymu (o 55%). Badania wpływu permetryny i DDT na indukcję cytochromu P-4501A (ryc. 2) wykazały słabą, ale statystycznie istotną stymulację aktywności O-dealkilazy 7-etoksyrezorufiny.



Ryc. 2. Wpływ badanych związków na dealkilację 7-etoksyrezorufiny przez układ monoooksygenaz zależnych od cyt. P-450 wątroby szczura.

Effect of tested compounds on the O-dealkylation 7-ethoxyresorufin by of cyt. P-450-dependent monooxygenases system in rat liver.

Wartości średnie z 5 zwierząt \pm SEM; różnice statystycznie istotne w stosunku do poziomu kontrolnego – (..) $p < 0.01$; (...) $p < 0.001$.

Means for five animals \pm SEM; significantly different from control – (..) $p < 0.01$; (...) $p < 0.001$.

Stwierdzono 3.3 – i 2.5-krotny wzrost aktywności enzymu ($p < 0.001$) odpowiednio dla dawki permetyryny 620 i 124 mg/kg m.c. x dzień⁻¹ (1/10 i 1/50 LD₅₀). Najniższa z zastosowanych dawek (1/100 LD₅₀) nie wywoływała statystycznie istotnych zmian w aktywności enzymu. Również DDT indukował nieznaczny, ale statystycznie istotny wzrost aktywności O-dealkilazy 7-etoksyrezorufiny w porównaniu do grupy zwierząt kontrolnych. Dawka 24 mg/kg m.c. x dzień⁻¹ (1/5 LD₅₀) wywoływała wzrost aktywności o 180% ($p < 0.001$), a dawka 12 mg/kg m.c. x dzień⁻¹ (1/10 LD₅₀) stymulowała indukcję enzymu o 67% ($p < 0.01$).

3-metylocholanren, klasyczny induktor cytochromu P-4501A stymulował 14-krotny wzrost aktywności O-dealkilazy 7-etoksyrezorufiny; u zwierząt narażonych na fenobarbital stwierdzono prawie 2-krotny wzrost aktywności enzymu w porównaniu do grupy zwierząt kontrolnych ($p < 0.001$).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Działanie toksyczne, mutagenne i/lub kancerogenne egzogennych substancji chemicznych związane jest nie tylko z ich chemiczną strukturą, ale również z charakterem przemian jakim ulegają w komórkach. Szczególną rolę w tym zakresie odgrywa układ monoooksygenaz związanych z cyt. P-450 i selektywna indukcja określonej formy molekularnej cyt. P-450 [7, 17].

Wyniki prezentowanej pracy wskazują, że permetyrynę i DDT zaliczyć można do potencjalnych induktorów cyt. P-450 typu fenobarbitalu. W postmitochondrialnej frakcji wątroby szczurów narażonych na DDT i permetyrynę stwierdzono znaczny wzrost stężenia cyt. P-4502B1/2 mierzony indukcją O-dealkilazy 7-pentoksyrezorufiny. DDT w zastosowanych dawkach (24 i 12 mg/kg m.c. x dzień⁻¹), wywoływał silniejszą o około 30% indukcję aktywności O-dealkilazy 7-pentoksyrezorufiny w porównaniu z indukcją stymulowaną fenobarbitem (60 mg/kg m.c. x dzień⁻¹). W przypadku permetyryny, najwyższa z zastosowanych dawek (620 mg/kg m.c. x dzień⁻¹) wywoływała porównywalny z fenobarbitem (około 30-krotny) wzrost szybkości metabolizmu 7-pentoksyrezorufiny.

Uzyskane wyniki dotyczące wpływu DDT na aktywność cyt. P-450 znajdują potwierdzenie w badaniach innych autorów [5, 8, 14]. Nieliczne natomiast prace nad wpływem syntetycznych pyretroidów na mikrosomalny układ monoooksygenaz wskazują, że ich oddziaływanie w dużym stopniu uzależnione jest od struktury chemicznej (obecności lub braku grup cyjanowych) oraz od stosunku stereoisomerów *cis/trans* w cząsteczce [1, 2, 3]. W badaniach przeprowadzonych przez *Carlsona* i wsp. [3] indukcyjny wpływ permetyryny na aktywność cyt. P-450 korelował z zawartością w cząsteczce związku izomeru *cis*; cyjanowe analogi permetyryny nie stymulowały aktywności enzymu. Odmiennie wyniki uzyskali *Wrześniowska* i wsp. [19], którzy badając wpływ cypermetryny, dekametryny i permetyryny na aktywność cyt. P-450 nie wykazali indukcyjnego działania badanych związków na mikrosomalny układ monoooksygenaz wątroby szczurów. W znacznie słabszym stopniu przebadany jest wpływ syntetycznych pyretroidów na aktywność określonych form molekularnych cyt. P-450. *Hemming* i wsp. w badaniach fenwaleratu, flucytryny i cypermetryny stwierdzili słabą indukcję zarówno cyt. P-4502B jak i 1A. Z uwagi na silnie lipofilny charakter badanych pestycydów, indukcja cyt. P-450 2B interpretowana była jako odpowiedź adaptacyjna [8].

Biotransformacja insektycydów pyretroidowych zachodzi głównie na drodze hydrolytycznego rozszczepienia wiązania estrowego i/lub procesów utleniania katalizowanych przez układ monoooksygenaz. Jednak w cząsteczkach izomerów o konfiguracji *trans* łatwiej dochodzi do hydrolizy wiązania estrowego w porównaniu z izomerami *cis*. W prezentowanych badaniach stosowano permetrynę o proporcji izomerów *cis/trans* = 25/75. Przesądzałoby to z góry większy udział procesów hydrolizy w metabolizmie detoksykacyjnym tego pyretroidu. Uzyskane natomiast wyniki sugerować mogą, że w opisanych warunkach doświadczenia permetryna stymulowała własny metabolizm (autoindukcja) na drodze procesów utleniających. Ponadto, można sądzić, że niska toksyczność ostra permetryny dla szczurów ($LD_{50} = 6200$ mg/kg m.c.) pozostaje w ścisłym związku z metabolizmem tego insektycydu.

Jak już wspomniano we wstępie, cytochromy P-450 charakteryzują się różną, aczkolwiek częściowo nakładającą się specyficznością substratową. Badania z zastosowaniem różnych substratów wykazały, że tylko nieliczne związki są metabolizowane wyłącznie przez jedną formę molekularną cyt. P-450 [6, 18]. Fenobarbital, który głównie indukuje cyt. P-4502B1/2, należy również do słabych induktorów cyt. 3A1/2 a także wywoływać może wzrost stężenia cyt. P-4502A1 w wątrobie szczurów [17]. Stwierdzona w prezentowanych badaniach słaba stymulacja (2 – 3-krotna) aktywności O-dealkilazy 7-etoksyrezorufiny przez permetrynę i DDT skłania do przypuszczenia, iż wynikała ona z indukcji cyt. P-4502B, który katalizować może również proces O-dealkilacji 7-etoksyrezorufiny aczkolwiek w znacznie słabszym stopniu niż cyt. P-4501A [4]. Klasyczny induktor cyt. P-4501A1 – 3-metylocholanren, w zastosowanych warunkach doświadczalnych indukował 14-krotny wzrost aktywności O-dealkilazy 7-etoksyrezorufiny.

WNIOSKI

1. DDT i permetrynę zaliczyć można do potencjalnych induktorów cyt. P-450 typu fenobarbitalu.
2. Stymulacja aktywności cyt. P-4502B przez permetrynę pozostaje prawdopodobnie w związku z jej niską toksycznością i indukcją własnego metabolizmu.
3. Uzyskane wyniki sugerują, że poziom narażenia na permetrynę w dawce ok. 62 mg/kg m.c. x dzień⁻¹ przez 4 dni może stanowić wartość progową dla działania permetryny jako induktora cyt. P-4502B wątroby szczurów rasy *Wistar*.

G. Kostka, D. Palut, B. Wiadrowska

EFFECT OF PERMETHRIN AND DDT ON THE ACTIVITY OF CYTOCHROME P-4501A AND 2B MOLECULAR FORMS IN RAT LIVER

Summary

The effect of permethrin on relative liver weight (RLW) and the activity of hepatic monoxygenase system related to cytochrome P-4502B and 2A was studied. The effect of permethrin was compared with DDT used as phenobarbital-type of monoxygenase inducer (induces cyt. P-4502B). Male *Wistar* rats received permethrin and DDT for 4 days at 24 h intervals in daily oral doses of 1/10, 1/50 and 1/100 LD_{50} . 3-methylcholantrene and phenobarbital which served as inducers of cytochrome P-4501A and 2B, respectively and were used as positive controls. The activities of cytochrome(s)

P-450 were measured by 7-pentoxo- and 7-etoxyresofurin O-dealkylation by S-9 fraction of rat liver; these two compounds have been shown to be the substrates for reactions mediated by cytochrome P-4502B and 2A. Thus this biochemical procedure permits to determine whether tested compound belongs to one of two main types of inducers of the cytochrome P-450 monooxygenase system. Treatment of rats with both pesticides resulted in significant increase in RLW, to 30 and 15% of control, respectively. In animals treated with permethrin the metabolism of 7-pentoxo- and 7-etoxyresofurin increased in a dose dependent manner. Phenobarbital and the highest dose of permethrin (620 mg/kg b.w. x day⁻¹) induced similar (about 30-fold) increase in O-dealkylation of 7-pentoxo- and 7-etoxyresofurin. DDT stimulated metabolism of 7-pentoxo- and 7-etoxyresofurin to much higher degree as compared with phenobarbital. It should be noted that both pesticides induced only slight increase in O-dealkylation of 7-etoxyresofurin (cyt. P-4501A-mediated reaction). The present results indicate that permethrin as well as DDT shows the ability to induce the phenobarbital-type of cytochrome P-4502B.

PIŚMIENICTWO

1. *Anadon A., Diez M.J., Sierra M., Sanchez J.A., Teran M.T.*: Microsomal enzyme induction by permethrin in rats. *Vet. Hum. Toxicol.*, 1988, 30, 309. – 2. *Anadon A., Martinez-Larranaga M.R., Diaz M.J., Bringas P., Fernandez M.C., Martinez M.A., Fernandez-Cruz L.*: Effects of flumethrin on hepatic drug-metabolizing enzymes and antipyrine disposition in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1995, 132, 14. – 3. *Carlson G.P., Schoenig G.P.*: Induction of liver microsomal NADPH cytochrome c reductase and cytochrome P-450 by some new synthetic pyrethroids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1980, 52, 507. – 4. *Dutton D.R., Parkinson A.*: Reduction of 7-alkoxyresorufins by NADPH-cytochrome P-450 reductase and its differential effects on their O-dealkylation by rat liver microsomal cytochrome P-450. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1989, 268, 617. – 5. *Flodström S., Hemming H., Warngard L., Ahlborg U.G.*: Promotion of altered hepatic foci development in rat liver, cytochrome P-450 enzyme induction and inhibition of cell – cell communication by DDT and some structurally related organohalogen pesticides. *Carcinogenesis*, 1990, 11, 8, 1413. – 6. *Guengerich F.P., Dannan G.A., Wright S.T., Martin M.V., Kaminsky L.S.*: Purification and characterization of liver microsomal cytochromes P-450: Electrophoretic, spectral, catalytic and immunochemical properties and inducibility of eight isozymes isolated from rats treated with phenobarbital or β -naphthoflavone. *Biochemistry*, 1982, 21, 6019. – 7. *Gebremichael A., Chang A.M., Buckpitt A.R., Plopper C.G., Pinkerton K.E.*: Postnatal development of cytochrome P4501A1 and 2B1 in rat lung and liver: effect of aged and diluted sidestream cigarette smoke. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1995, 135, 246. – 8. *Hemming H., Flodström S., Warngard L.*: Enhancement of altered hepatic foci in rat liver and inhibition of intercellular communication *in vitro* by the pyrethroid insecticides fenvalerate, flucythrinate and cypermethrin. *Carcinogenesis*, 1993, 14, 12, 2531. – 9. IARC (1991) IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 53: Occupational exposures in insecticide application, and some pesticides, Lyon, 329. 10. *Kobylńska K.*: Formy molekularne cytochromu P-450 wątroby szczura. *Postępy Biochemii*, 1994, 40, 4, 248.

11. *Li D., Moorthy B., Chen S., Randerath K.*: Effects of cytochrome P-450 inducers on I-compounds in rat liver and kidney DNA. *Carcinogenesis*, 1992, 13, 7, 1191. – 12. *Lovry O.H., Rosebrough N.J., Randall R.J.*: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265. – 13. *Lubet R.A., Nims R.W., Mayer R.T., Cameron J.W., Schechtman L.M.*: Measurement of cytochrome P-450 dependent dealkylation of alkoxyphenoxazones in hepatic S9s and hepatocyte homogenates: effects of dicumarol. *Mut. Res.*, 1985, 142, 127. – 14. *Lubet R.A., Nims R.W., Ward J.M., Rice J.M., Diwan B.A.*: Induction of cytochrome P450b and

its relationship to liver tumour promotion. *J. Am. Coll. Toxicol.*, 1989, 8, 2, 259. – 15. *Lutz W.*: Ekspresja genów cytochromów P-450. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1992, 46, 1, 1. – 16. *Moorthy B., Chen S., Li D., Randerath K.*: 3-Methylcholanthrene – inducible liver cytochrome(s) P450 in female *Sprague – Dawley* rats: possible link between P450 turnover and formation of DNA adducts and I-compounds. *Carcinogenesis*, 1993, 14, 5, 879. – 17. *Parkinson A., Clement R.P., Casciano C.N., Cayen M.N.*: Evaluation of loratadine as an inducer of liver microsomal cytochrome P450 in rats and mice. *Biochem. Pharmacol.*, 1992, 43, 10, 2169. – 18. *Ryan D.E., Levin W.*: Purification and characterization of liver microsomal cytochrome P-450. *Pharmacol. Ther.*, 1990, 45, 153. – 19. *Wrześniowska K., Łukowicz-Ratajczak J., Krechniak J.*: Aktywność wybranych enzymów wątroby szczurów po podaniu insektycydów pyretroidowych. *Bromat. Chem. Toksykol.* 1989, XXII, 3–4, 200.

Otrzymano: 1997.04.03