

Anna Zabost¹, Barbara Roszkowska-Śliż², Elżbieta Wiatr², Elżbieta Radzikowska², Ewa Rogala², Jacek Zych², Zofia Zwolska¹, Ewa Augustynowicz-Kopeć¹, Kazimierz Roszkowski-Śliż², Ewa Szczepulska-Wójcik³

¹Zakład Mikrobiologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc Warszawa, Kierownik: prof. nadzw. dr hab. n. med. E. Augustynowicz-Kopeć

²III Klinika Chorób Płuc, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc Kierownik: prof. dr hab. n. med. K. Roszkowski-Śliż

³Zakład Patomorfologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie Kierownik: dr n. med. R. Langfort

Polimorfizm w genie N-acetylotransferazy 2 u chorych na raka płuca. Doniesienie wstępne

Polymorphism in the N-acetyltransferase 2 gene in patients with lung cancer. Short communication

Praca finansowana ze środków przeznaczonych na działalność statutową Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w ramach planu naukowego — temat nr 1 zadanie badawcze nr 1.

Abstract

Introduction: Individual's risk of developing lung cancer depends not only on exposure to tobacco smoke, but also on the activity of enzymes involved in the activation or deactivation of carcinogens. Arylamine N-acetyltransferase (EC 2.3.1.5) is an enzyme involved in biotransformation of xenobiotics, mainly aromatic and heterocyclic amines and hydrazines. The different acetylation phenotypes within a population are derived from mutations in the NAT 2 gene. These mutations influence the activity (specifically resulting in high or low activity) of the NAT enzyme. Some authors have demonstrated lung cancer predisposing role of slow acetylator phenotype, whereas other reported increased lung cancer risk for fast acetylators or neutral effect of the NAT2 polymorphism.

The aim of this preliminary report was to determine the NAT2 gene polymorphism in patients with lung cancer.

Material and methods: 39 patients with inoperable lung cancer (29 — NSCLC and 10 — SCLC), median age 59 years (42–72) entered the study. Acetylation genotype was determined in the genomic DNA using an allele-specific polymerase chain reaction. We investigated four genetic mutations, C⁴⁸¹T, G⁵⁹⁰A, A⁸⁰³G i G⁸⁵⁷A, of the gene NAT2.

Results: There were 10 different NAT2 genotypes among the 39 patients. Fourteen patients with a NAT2*2 4/4, *4/5, *4/6 and *4/7 were classified as fast acetylators; and 25 patients with a NAT2*5/5, *5/6, *5/7, *6/6, *6/7 or *7/7 genotype were classified as slow acetylators. Among the 10 patients with SCLC — 4 were fast acetylators, and among 29 patients with NSCLC dominated slow acetylation type found in 19 patients (genotypes NAT2 *5/5 and NAT2 *5/6).

Conclusions: Among patients with small cell lung cancer, there was no predominance of genotype of acetylation, whereas among patients with non-small cell lung cancer predominated NAT2*5/5 and NAT2*5/6 genotypes (slow acetylators).

Key words: N-acetyltransferase 2, lung cancer, DNA polymorphism

Pneumonol. Alergol. Pol. 2012; 80, 4: 323–328

Streszczenie

Wstęp: Indywidualne ryzyko zachorowania na raka płuca zależy nie tylko od ekspozycji na dym tytoniowy, ale również od aktywności enzymów biorących udział w aktywacji lub deaktywacji substancji rakotwórczych. Arylamino N-acetylotransferazy (EC 2.3.1.5) są enzymami biorącymi udział w biotransformacji ksenobiotyków, amin aromatycznych i heterocyklicznych

Adres do korespondencji: dr n. med. Anna Zabost, Zakład Mikrobiologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, ul. Płocka 26, 01–138 Warszawa, tel. (22) 431 21 61 tel./faks: (22) 431 21 82, e-mail: a.zabost@igichp.edu.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 5.09.2011 r.
Copyright © 2012 Via Medica
ISSN 0867–7077

oraz hydrazyn. Zaobserwowane różnice w aktywności enzymu i szybkości metabolizowania substancji zależnych od N-acetylotransferazy 2 (NAT2) powiązano z polimorfizmem genu kodującego ten enzym. Niektórzy autorzy wskazują na wolny typ acetylacji, jako predysponujący do wystąpienia raka płuca, podczas gdy inni wykazują brak wpływu polimorfizmu NAT2 lub większe ryzyko raka płuca wśród szybkich acetylatorów.

Celem pilotażowego badania była ocena polimorfizmu genu NAT2 umożliwiającego określenie typu acetylacji u chorych na raka płuca.

Materiały i metody: Badaną grupę stanowiło 39 chorych na nieoperacyjnego raka płuca (29 — rak niedrobnokomórkowy, 10 — rak drobnokomórkowy), mediana wieku wynosiła 59 lat (42–72 lata). Do badania pobierano 5 ml krwi. Genotyp NAT2 został określony na podstawie identyfikacji czterech mutacji, C481T, G590A, A803G i G857A.

Wyniki: W przebadanej grupie 39 chorych zidentyfikowano występowanie 10 różnych genotypów NAT2. Czternastu chorych z genotypami NAT2 *4/4, *4/5, *4/6 i *4/7 zostało sklasyfikowanych jako szybacy acetylatorzy a 25 z genotypami NAT2 *5/5, *5/6, *5/7, *6/6, *6/7 lub *7/7 jako wolni acetylatorzy. Wśród 10 chorych na DRP — 4 chorych to szybacy acetylatorzy, zaś wśród 29 chorych na NDRP dominował wolny typ acetylacji stwierdzony u 19 chorych (genotypy NAT2*5/5 i NAT2*5/6).

Wnioski: Wśród chorych na drobnokomórkowego raka płuca nie stwierdzono dominacji określonego genotypu acetylacji, natomiast wśród chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca przeważali pacjenci z genotypami NAT2*5/5 i NAT2*5/6 (wolni acetylatorzy).

Słowa kluczowe: N-acetylotransferaza 2, rak płuca, polimorfizm DNA

Pneumonol. Alergol. Pol. 2012; 80, 4: 323–328

Wstęp

Rak płuca stanowi 90% wszystkich nowotworów płuc. Jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym, z powodu którego rocznie na świecie umiera 1,4 mln osób. W Polsce rak płuca jest przyczyną 30% zgonów z powodu nowotworów złośliwych u mężczyzn i 11% u kobiet [1].

Wyniki badań epidemiologicznych wykazały, że 90% przypadków nowotworów jest związanych z występowaniem w środowisku człowieka związków rakotwórczych [2].

Jeden z głównych czynników przyczyniających się do rozwoju raka płuca stanowią substancje rakotwórcze, które są produktami spalania tytoniu. Zaobserwowano ścisłą korelację pomiędzy ryzykiem zachorowania na ten nowotwór a stopniem narażenia na dym tytoniowy. Ocenia się, że bierne palenie jest przyczyną 1/3 zachorowań na raka płuca wśród osób niepalących, mieszkających z palaczami tytoniu. Czynne palenie tytoniu jest przyczyną ponad 90% zachorowań na raka płuca [3, 4]. Zaprzestanie palenia powoduje stopniowe zmniejszenie się ryzyka zachorowania, ale ryzyko to nie spada do poziomu występującego u osób nigdy niepalących.

Większość czynników rakotwórczych powstających podczas spalania jest metabolizowana w organizmie przez kompleks enzymatyczny obejmujący reakcje aktywacji i detoksykacji. W aktywacji biorą udział enzymy fazy I, reakcje utleniania katalizowane są przez izoenzymy cytochromu P450 (CYPs) lub mikrosomalne hydroksylazy epoksydowe (MEH, *microsomal epoxide hydrolase*). Wynikiem tych reakcji jest niewielki wzrost hydrofilności związku [5]. W efekcie zachodzących przemian

I fazy powstające metabolity mogą stać się nieaktywne i zostać wydalone z organizmu, mogą również być tworzone związki o działaniu silniejszym niż pierwotny związek. Reakcje detoksykacji są katalizowane przez enzymy fazy II, czyli S-transferazy glutationowe (GST, *glutathione S-transferase*) i N-acetylotransferazy (NAT, *N-acetyltransferase*), które ułatwiają eliminację reaktywnych związków pośrednich z organizmu poprzez sprzężenie ich z endogennymi cząsteczkami (m.in. kwasem glukuronowym, glicyną, kwasem octowym) [6].

Jednym z enzymów biorących udział w metabolizmie związków karcinogennych, aryloamin i hydrazyn jest N-acetylotransferaza 2 (NAT2). Proces acetylacji prowadzi do przemiany związków hydrofobowych w związki rozpuszczalne w wodzie, które mogą być eliminowane przez nerki lub wydalone z żółcią [7, 8].

Detoksykacja do nieszkodliwych związków jest związana z reakcją **N-acetylacji**, natomiast bioaktywacja jest w dużym stopniu zależna od **O-acetylacji**. Równowaga pomiędzy tymi dwoma procesami zależy od wielu czynników, a przede wszystkim od aktywności NAT. Wyniki prowadzonych badań pokazały, że oprócz genetycznych mechanizmów mających wpływ na ekspresję i aktywność NAT, również czynniki środowiskowe (leki, zanieczyszczenia, promieniowanie ultrafioletowe) mogą wpływać na aktywność komórkową i funkcjonowanie enzymu [9].

U wolnych acetylatorów dochodzi do: kumulacji substancji toksycznych, wydalania substancji prokancerogennych w niezmienionej formie lub powstania nieaktywnych metabolitów [10]. Stwierdzono, że u osób z wolnym typem acetylacji występuje zwiększona liczba aberracji chromosomo-

wych. Chorzy ci są bardziej wrażliwi na niskie poziomy środowiskowych kancerogenów, a długa ekspozycja na te związki powoduje uszkodzenia chromosomów komórek somatycznych [11, 12].

Celem obecnego badania pilotażowego była ocena polimorfizmu genu NAT2 umożliwiającego określenie typu acetylacji u chorych na raka płuca.

Materialy i metody

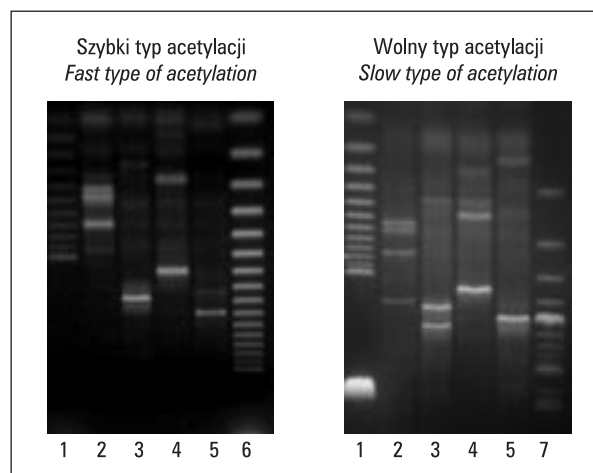
W badaniach do chwili obecnej brało udział 39 chorych na raka płuca diagnozowanych w Instytucie Gruźlicy i Chorób Płuc, 20 kobiet i 19 mężczyzn (zakres wieku 42–72 lata, mediana 59 lat). Dwadzieścia dziewięć osób chorowało na raka niedrobnokomórkowego (NDRP), a 10 na drobnokomórkowego raka płuca (DRP). W analizowanej puli chorych dwie osoby były niepalące, natomiast wśród 37 palaczy średnia liczba paczkolet wynosiła 38,5. W celu określenia typu acetylacji pobierano 5 ml krwi do próbek PAX gene Blood DNA przed włączeniem chemioterapii. Z krwi izolowano genomowe DNA według protokołu dostarczonego wraz z zestawem odczynników PAX Gen DNA firmy Qiagen. W pierwszym etapie wyizolowane DNA poddawano reakcji amplifikacji z primerami: NAT2 i NAT3. Otrzymany produkt reakcji poddawano oczyszczaniu z użyciem kitu Gen Elute PCR Clean Up Kit firmy Sigma. Oczyszczony produkt reakcji pierwszej stanowił matrycę do drugiej reakcji amplifikacji z użyciem primerów NAT1 i NAT2. Genotypowanie N-acetylotransferazy 2 wykonano według metody opracowanej przez Cascorbiego i wsp. [13]. Analiza PCR-RFLP (*polymorase chain reaction-restriction fragment length polymorphism*) wykrywała substitucje nukleotydowe w pozycjach C⁴⁸¹T, G⁵⁹⁰A, A⁸⁰³G i G⁸⁵⁷A (ryc. 1).

Na badania uzyskano zgodę Komisji Etycznej Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc 138/2011.

Wyniki

Na podstawie przeprowadzonej analizy genotypów wyróżniono wśród chorych dwa typy acetylacji: szybkich i wolnych acetylatorów. Do szybkiego typu acetylacji zaliczono osoby z dwoma dzikimi allelami (NAT2*4) oraz chorych z jednym allelem dzikim, a drugim zmutowanym — genotyp heterozygotyczny. Chorzy wolno acetylujący to osoby posiadające dwa allele zmutowane kodujące białko o obniżonej aktywności.

W analizowanej grupie 39 chorych najczęściej występującymi allelami były NAT2*5 — 28 (35,9%) i NAT2*6 — 21 (26,9%).



Rycina 1. Identyfikacja alleli N-acetylotransferazy 2. Analiza restrykcyjna produktu PCR (ścieżka 1 — wzorzec 25 pz, ścieżka 2 — Tag1, ścieżka 3 — Kpn1, ścieżka 4 — Dde1, ścieżka 5 — BamH1, ścieżka 6 — wzorzec 50 pz, ścieżka 7 — wzorzec 100 pz)

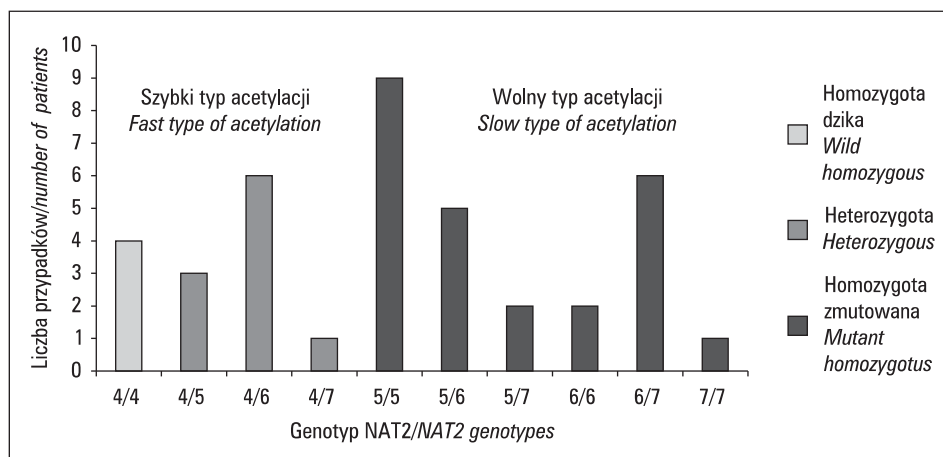
Figure 1. Identification of N-acetyltransferase 2 alleles. Restriction analysis of PCR product (lane 1 — molecular size marker 25 bp, lane 2 — Tag1, lane 3 — Kpn1, lane 4 — Dde1, lane 5 — BamH1, lane 6 — molecular size marker 50 bp, lane 7 — molecular size marker 100 bp)

Czternastu chorych (35,9%) zostało sklasyfikowanych, jako szybcy acetylatorzy, a 25 (64,1%) jako wolni acetylatorzy. W grupie 14 szybkich acetylatorów 4 osoby (28,6%) miały genotyp NAT2*4/4, natomiast u 10 osób (71,4%) zidentyfikowano heterozygotyczny genotyp. Analiza genotypów wśród chorych heterozygotycznych wykazała, obecność 3 genotypów: NAT2*4/5 — 3 chorych (30%); NAT2*4/6 — 6 chorych (60%); NAT2*4/7 — 1 chory (10%). Analiza genotypów wśród 25 wolnych acetylatorów wykazała, obecność 6 genotypów: NAT2*5/5 — 9 chorych (36%); NAT2*5/6 — 5 chorych (20%); NAT2*5/7 — 2 chorych (8%); NAT2*6/6 — 2 chorych (8%); NAT2*6/7 — 6 chorych (24%) i NAT2*7/7 — 1 chory (4%) (ryc. 2).

Analizowana grupa ze względu na rozpoznawanie została podzielona na dwie podgrupy: chorych na drobno- i niedrobnokomórkowego raka płuca. Wśród 10 chorych na DRP — 4 chorych to szybcy acetylatorzy, zaś wśród 29 chorych na NDRP dominował wolny typ acetylacji — 19 chorych (ryc. 3). Ze względu na małą liczebność grupy badanej nie wykonano obliczeń statystycznych.

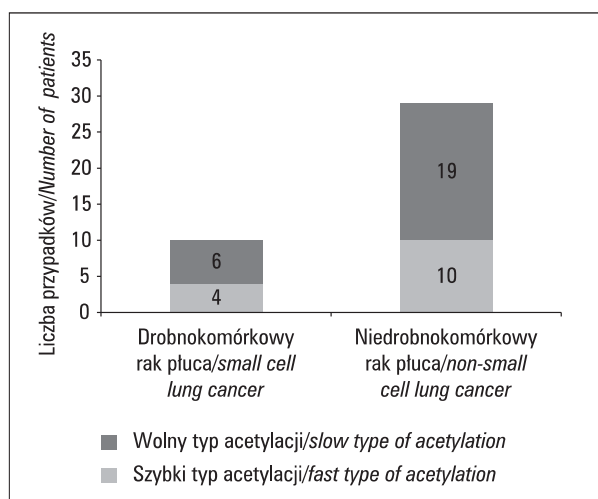
W grupie pacjentów z DRP na obecnym etapie analizy nie można określić dominującego genotypu. Wśród chorych na NDRP przeważali pacjenci z genotypami NAT2*5/5 i NAT2*5/6 (ryc. 4).

W chwili obecnej nie można określić zależności pomiędzy paleniem a zachorowaniem na raka płuca, ponieważ w badanej grupie 39 chorych tylko dwie osoby były niepalące. Średnia liczba pacz-



Rycina 2. Genotypy N-acetylotransferazy 2 zidentyfikowane w badanej grupie

Figure 2. Distribution of N-acetyltransferase 2 genotypes in the study group



Rycina 3. Typ acetylacji a rodzaj raka płuca

Figure 3. Type of acetylation according to the type of lung cancer

kolat u szybkich i wolnych acetylatorów wynosiła 37,2 v. 38,7. Analizując liczbę paczkolet w zależności od typu raka płuca nie stwierdzono różnic znamienych statystycznie (34,7 v. 39,0).

Dyskusja

U ludzi acetylacja jest główną drogą biotransformacji leków oraz związków kancerogennych [14, 15]. W związku z tym szybkość acetylacji może wpływać na efekty leczenia jak również na wystąpienie chorób zależnych od wrażliwości na ksenobiotyki [16, 17].

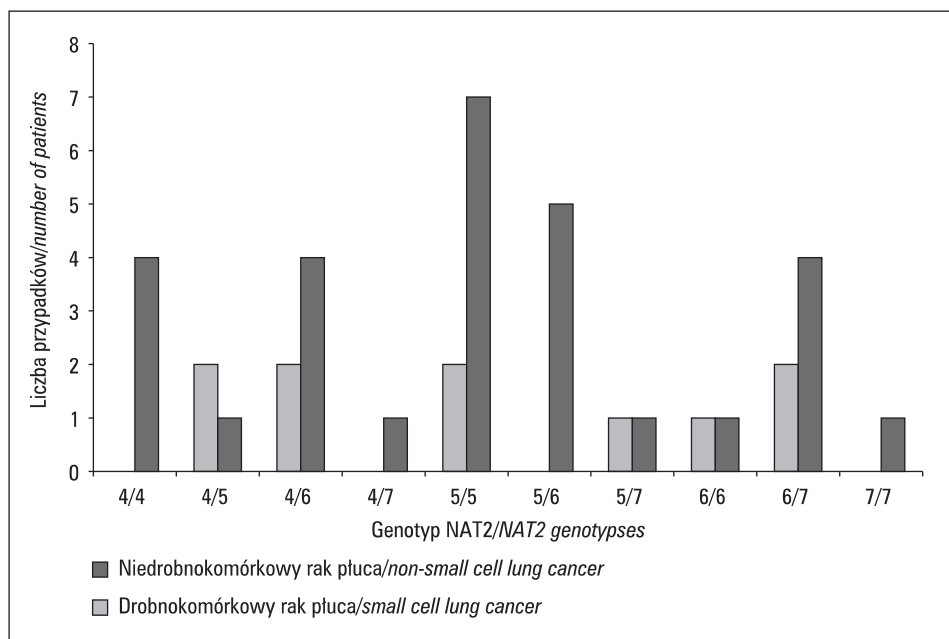
Większość rakotwórczych substancji nie jest niebezpieczna *per se*, ale wymaga aktywacji metabolicznej, zanim będzie mogła wejść w reakcję z makrocząsteczkami na przykład kwasem dezoksy-

rybonukleinowym [2]. N-acetylotransferazy są enzymami biorącymi udział w detoksykacji niektórych rakotwórczych amin występujących w dymie tytoniowym oraz w aktywacji do reaktywnych rakotwórczych półproduktów, mających znaczenie w ryzyku wystąpieniu nowotworów związanych z paleniem tytoniu [18].

Mutacje w genie kodującym N-acetylotransferazę 2 wpływają na aktywność kodowanego enzymu, jego stabilność oraz liczbę zsyntetyzowanych cząsteczek. Pierwsze badania przeprowadzone przez Deguchiego w 1990 roku zidentyfikowały w obrębie genu trzy mutacje C⁴⁸¹T (allel NAT2*5), G⁵⁹⁰A (allel NAT2*6) i G⁸⁵⁷A (allel NAT2*7), odpowiedzialne za wolny typ acetylacji [19]. Dotychczas zidentyfikowano 53 allele, które zostały zarejestrowane na stronie internetowej (<http://louisville.edu/medschool/pharmacology/NAT.HTM>). Każdy z wariantów allelu genu NAT2 zawiera od jednej do czterech substytucji nukleotydowych, występujących w pozycjach 111, 190, 191, 282, 341, 364, 411, 434, 481, 499, 590, 759, 803, 845, 857 i 859 [13, 20].

Dziewięć mutacji powoduje zmianę kodowanego aminokwasu i aktywności enzymu, natomiast cztery mutacje nie mają wpływu na strukturę białka. Zmiany w regionie kodującym białko powodują powstanie enzymu o zmienionej sekwencji aminokwasowej, która przyczynia się do obniżenia aktywności i stabilności N-acetylotransferazy 2. Mutacje w regionie regulacyjnym, powodują zmienną ekspresję genu NAT2, co skutkuje zmniejszeniem ilości syntetyzowanego białka i w efekcie przyczynia się do spadku aktywności enzymu spowalniając proces acetylacji komórkowej.

Biorąc pod uwagę aktywność produkowanego białka przez poszczególne allele, ustawiono je



Rycina 4. Genotypy NAT2 u chorych na drobno- i niedrobnokomórkowego raka płuca

Figure 4. NAT2 genotypes in the patients with small cell and non-small lung cancer

w szeregu zwiększającej się aktywności enzymatycznej: NAT2*5, NAT2*6, NAT2*7, NAT2*4 [21]. W przeprowadzonej przez autorów niniejszej pracy analizie materiału uzyskanego od 39 chorych na raka płuca dominowały allele o najniższej aktywności — NAT2*5 i NAT2*6.

Wyniki przeprowadzonych dotychczas badań na świecie są niespójne; niektórzy autorzy wskazują wolny typ acetylacji, jako predysponujący do wystąpienia raka płuca, podczas gdy inni większe ryzyko zachorowania wśród szybkich acetylatorów lub brak wpływu polimorfizmu NAT2 [17, 22–26]. W analizowanej grupie chorych dominował wolny typ acetylacji. Wśród chorych na DRP nie stwierdzono dominacji określonego typu acetylacji, natomiast wśród pacjentów z NDRP płuca było 2 razy więcej pacjentów wolno acetylujących niż szybkich acetylatorów.

Nyberg, analizując interakcje pomiędzy liczbą wypalanych papierosów a genotypem, stwierdził, że zwiększone ryzyko wystąpienia nowotworu u palaczy z szybkim typem acetylacji rośnie wraz z liczbą wypalanych papierosów oraz z długością trwania nałogu. Wyniki te wskazują na wzrost ryzyka wystąpienia raka płuca u szybkich acetylatorów palących oraz wśród osób z wolnym typem acetylacji nigdy niepalących [26]. Podobne wyniki przedstawił Sorensen, wśród osób palących powyżej 20 papierosów dziennie obciążenie substancjami rakotwórczymi jest tak duże, że nawet szybki typ acetylacji nie jest w stanie unieszkodliwić

tych substancji [23]. W innych badaniach sugerowano, że wśród osób niepalących NAT2 jest alternatywną drogą dla N-oksydacji amin aromatycznych przez CYP1A. Reakcja katalizowana przez CYP1A generuje powstawanie reaktywnych hydroksyloamin, natomiast N-acetylacja katalizowana przez NAT2 powoduje unieszkodliwianie amin aromatycznych. U osób palących, wysokie stężenie substancji kancerogennych w dymie tytoniowym indukuje N-oksydację katalizowaną przez CYP1A, co prowadzi do wzrostu stężenia reaktywnych hydroksyloamin. Związki te następnie są O-acetylowane przez NAT2 do reaktywnych metabolitów, a tym samym wysoka aktywność NAT2 może teoretycznie powodować wzrost ryzyka zachorowania na raka u palących szybkich acetylatorów [25, 27, 28].

Podsumowanie

1. Wśród badanych chorych na raka płuca dominowali pacjenci wolno acetylujący (65%).
2. Wśród 10 chorych na DRP nie stwierdzono dominacji określonego genotypu acetylacji, natomiast wśród 29 pacjentów z NDRP przeważali chorzy z genotypami NAT2*5/5 i NAT2*5/6 (wolni acetylatorzy).

Rozpoczęte badania nad poszukiwaniem korelacji pomiędzy typem acetylacji a zachorowaniem na raka płuca są w początkowym stadium analizy. W celu określenia predyspozycji do wy-

stąpienia nowotworu związanego z indywidualnym genotypem acetylacji konieczna jest kontynuacja badań.

Konflikt interesów

Autorzy oświadczają, że podczas przygotowania niniejszej publikacji nie wystąpił żaden konflikt interesów.

Piśmiennictwo:

1. Jassem J. Nowotwory płuca i opłucnej. W: Szczeklik A. (red.). Choroby wewnętrzne. Stan wiedzy na 2010 rok. Medycyna Praktyczna, Kraków 2010; 671–692.
2. Raunio H., Husgafvel-Pursiainen K., Anttila S., Hietanen E., Hirvonen A., Pelkonen O. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility — a review. *Gene* 1995; 159: 113–121.
3. Radzikowska E., Głaz P. Rak płuca — różnice w zachorowaniach związane z płcią. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2000; 9–10: 417–424.
4. Radzikowska E., Głaz P., Roszkowski K. Lung cancer in women: age, smoking, histology, performance status, stage, initial treatment and survival. Population-based study of 20 561 cases. *Ann. Oncol.* 2002; 13: 1087–1093.
5. Makarova S.I. Human N-acetyltransferases and drug-induced hepatotoxicity. *Curr. Drug Metab.* 2008; 9: 538–545.
6. Bouchardy Ch., Benhamou S., Jourenkova N., Dayer P., Hirvonen A. Metabolic genetic polymorphisms and susceptibility to lung cancer. *Lung Cancer* 2001; 32: 109–112.
7. Zabost A., Augustynowicz-Kopeć E., Brzezińska S. i wsp. Porównanie biodostępności wskaźników izoniazydu metodą biologiczną i chromatograficzną. *Pneumonologia i Alergologia Polska* 2008; 76: 31. XXX Zjazd Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc.
8. Augustynowicz-Kopeć E., Zabost A., Kosińska M., Brzezińska S., Zwolska Z. Wykrywanie mutacji w genie NAT II jako metoda określania typu acetylacji izoniazydu (INH) u ludzi. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2007; 75: 134–139.
9. Rodrigues-Lima F., Daiou J., Dupret J.M. Effect of environmental substances on the activity of arylamine N-acetyltransferases. *Curr. Drug Metab.* 2008; 9: 505–509.
10. Zabost A. Polimorfizm w genie N-acetylotransferazy 2 jako metoda wyznaczania typu acetylacji u ludzi. Praca doktorska IG-iChP Warszawa 2010.
11. Niewiński P., Orzechowska-Józwenko K. Znaczenie uwarunkowanej genetycznie acetylacji leków i ksenobiotyków w patogenezie chorób nowotworowych. *Post. Med. Dośw.* 1996; 50: 131–143.
12. Kłodowska-Duda G., Samelska J., Opala G. Polimorfizm N-acetylotransferazy 2 a patogeneza chorób nowotworowych. *Wiadomości Lekarskie* 2005; 58: 212–217.
13. Cascorbi I., Brockmöller J., Mrozikiewicz P.M., Müller A., Roots I. Arylamine N-acetyltransferase activity in man. *Drug Metab. Rev.* 1999; 31: 489–502.
14. Blum M., Demierre A., Grant D.M., Heim M., Meyer U.A. Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in human. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1991; 88: 5237–5241.
15. Butcher N.J., Tiang J., Minchin R.F. Regulation of arylamine N-acetyltransferases. *Curr. Drug Metab.* 2008; 9: 498–504.
16. Butcher N.J., Boukouvala S., Sim E., Minchin R.F. Pharmacogenetics of the arylamine N-acetyltransferases. *Pharmacogenomics* 2002; 2: 30–42.
17. Belogubova E.V., Kuligina E.Sh., Togo A.V. i wsp. 'Comparison of extremes' approach provides evidence against the modifying role of NAT2 polymorphism in lung susceptibility. *Cancer Letters* 2005; 21: 177–183.
18. McKay J.D., Hashibe M., Hung R.J. i wsp. Sequence variants of NAT1 and NAT2 and other xenometabolic genes and risk of lung and aerodigestive tract cancers in Central Europe. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2008; 17: 141–147.
19. Deguchi T., Mashimo M., Suzuki T. Correlation between acetylator phenotypes and genotypes of polymorphic arylamine N-acetyltransferase in human liver. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 12575–12670.
20. Boukouvala S., Fakis G. Arylamine N-acetyltransferases: what we learn from genes and genomes. *Drug Metab. Rev.* 2005; 37: 511–564.
21. Hein D.W., Doll M.A., Rustan T.D., Ferguson R.J. Metabolic activation of N-hydroxyarylamines and N-hydroxyarylamides by 16 recombinant human NAT2 allozymes: effects of 7 specific NAT2 nucleic acid substitutions. *Cancer Res.* 1995; 55: 3531–3536.
22. Seow A., Zhao B., Lee E.J., i wsp. NAT2 slow acetylator genotype is associated with increased risk of lung cancer among non-smoking Chinese women in Singapore. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1877–1881.
23. Sørensen M., Autrup H., Tjønneland A., Overvad K., Raaschou-Nielsen O. Genetic polymorphisms in CYP1B1, GSTA1, NQO1 and NAT2 and the risk of lung cancer. *Cancer Letters* 2005; 221: 185–190.
24. Cascorbi I., Brockmöller J., Mrozikiewicz P.M., Bauer S., Lodenkemper R., Roots I. Homozygous rapid arylamine N-acetyltransferase (NAT2) genotype as a susceptibility factor for lung cancer. *Cancer Res.* 1996; 56: 3961–3966.
25. Zhou W., Liu G., Thurston S.W. i wsp. Genetic polymorphisms I N-acetylotransferase-2 and microsomal epoxide hydrolase, cumulative cigarette smoking, and lung cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2002; 11: 15–21.
26. Nyberg F., Hou S.M., Hemminki K., Lambert B., Pershagen G. Glutathione S-transferase 1 and N-acetyltransferase 2 genetic polymorphisms and exposure to tobacco smoke in nonsmoking and smoking lung cancer patients and population controls. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1998; 7: 875–883.
27. Sesardic D., Pasanen M., Pelkonen O. i wsp. Differential expression and regulation of members of the cytochrome P450IA gene subfamily in human tissues. *Carcinogenesis* 1990; 11: 1183–1188.
28. Hein D.W., Doll M.A., Rustan T.D. i wsp. Metabolic activation and deactivation of arylamine carcinogens by recombinant human NAT1 and polymorphic NAT2 acetylotransferases. *Carcinogenesis* 1993; 14: 1633–1638.