

УДК 616-006:504.5-03

КАНЦЕРОГЕННАЯ ОПАСНОСТЬ ДЫМОВЫХ ВЫБРОСОВ ПРИ ОТКРЫТОМ СЖИГАНИИ ОТХОДОВ ПОЛИМЕРНЫХ И ЛАТЕКСНЫХ ИЗДЕЛИЙ

¹Кривошеева Л.В., ¹Хитрово И.А., ¹Оглоблина А.М., ¹Кирсанов К.И., ¹Лесовая Е.А.,
¹Иванов А.А., ¹Белицкий Г.А., ²Дмитриева О.В., ¹Якубовская М.Г.

¹ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

²ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» РАН,
Москва, e-mail: lvkrivosheeva@mail.ru

В дымовых выбросах, отобранных при открытом сжигании пластмассовых и латексных отходов биомедицинских лабораторий, найдено высокое содержание канцерогенных и не канцерогенных полициклических ароматических углеводородов, их нитропроизводных и летучих N-нитрозаминов. Экстракты выбросов обладали выраженной мутагенной активностью в тесте Эймса, как с метаболической активацией, так и без нее, что свидетельствует о наличии в них проканцерогенных соединений и канцерогенов прямого действия. Кроме того экстракты обладали способностью разобщать клетки в монослое immortalized гепатоцитов крысы (один из эффектов промоции канцерогенеза) и индуцировать опухоли у личинок дрозофилы, гетерозиготных по гену супрессору опухолевого роста warts, гомологичного человеческому lats. Таким образом, открытое сжигание пластмассовых и латексных отходов биомедицинских учреждений представляет значительную мутагенную и канцерогенную опасность.

Ключевые слова: пластмассы, латекс, открытое сжигание, мутаген, канцероген, полициклические углеводороды, нитрополиарены, N-нитроамины, разобщение клеток, опухоли дрозофилы

CARCINOGENIC RISKS OF SMOKE EMISSIONS FROM OPEN BURNING OF PLASTIC AND LATEX WASTE

¹Krivosheeva L.V., ¹Khitrovo I.A., ¹Ogloblina A.M., ¹Kirsanov K.I., ¹Lesovaya E.A.,
¹Ivanov A.A., ¹Belitskiy G.A., ²Dmitrieva O.V., ¹Yakubovskaya M.G.,

¹Federal State Budgetary Scientific Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center»,
Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow;

²Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences,
Moscow, e-mail: lvkrivosheeva@mail.ru

The high content of carcinogenic and non carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), as well as nitrated PAH and volatile N-nitrosamines were detected in extracts of smoke emissions produced by open burning of plastic and latex waste used in biochemical laboratories. These extracts produced high mutagenic effects in the Ames test both with and without metabolic activation evidencing their contamination by indirect and direct acting carcinogens. According to that they inhibit cell contacts in monolayer of immortalized rat hepatocytes which is one of the cancer promoters effects, and also induce tumors in *Drosophila* larvae heterozygous by tumor suppressor gene warts a homologue of human gene lats. Thus emissions from open burning of biomedical plastic and latex waste poses a significant mutagenic and carcinogenic risk.

Keywords: plastic, latex, open burning, carcinogen, mutagen, polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH), nitrated PAH, N-nitrosamine, cell contacts inhibition, tumors, *Drosophila*

Пластмассы являются универсальным полимерным материалом, производимым в мировом масштабе и используемым во всем мире. Их производство растет высокими темпами и еще в 2000 году достигло 150 млн тонн в год при ежегодном росте потребления около 7% [2], увеличивая количество отходов в первую очередь за счет изделий одноразового использования. Для решения проблемы их утилизации и уничтожения создаются различные технологии переработки, однако значительная часть пластмасс попадает на свалки и подвергается случайному или преднамеренному сжиганию. Дым от открытого сжигания пластмассовых изделий содержит в корпускулярной фазе продукты деполимеризации пластика, летучие добавки и продукты их разложения [12]. Кроме того, как было ранее показано нами и другими авторами, в нем содержится множество токсичных соединений, в том числе обладающих канцерогенными и мутагенными свойствами, таких как полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) и нитрозосоединения [1, 7]. В то же время мы не нашли работ, посвященных комплексному исследованию канцерогенной опасности выбросов, содержащих продукты прямого сжигания этих видов отходов. В предыдущем исследовании [1] нами была разработана система интегральной оценки канцерогенной опасности продуктов термической переработки твердых бытовых отходов, на основе которой мы предполагаем оценить канцерогенную опасность дымовых выбросов, образующихся при широко практикуемом открытом сжигании пластмассовых и латексных отходов.

Материалы и методы исследования

Работа включала физико-химические и биологические методы исследования. Объектом исследования служили дымовые выбросы при сжигании отходов изделий биомедицинского назначения (чашки Петри, пипетки и латексные перчатки).

Отсортированные изделия сжигали открытым способом. Отбор проб дымовых выбросов проводили с использованием автоматического пробоотборника «ОП-442ТЦ». Для определения ПАУ, нитро-ПАУ отбор проводили с объемной скоростью 5 л/мин на фильтры АФА-РМА-20; для определения летучих N-нитрозосоединений – с объемной скоростью 0,5 л/мин в жидкий поглотитель – 10% раствор КОН.

Исследование канцерогенных составляющих в дымовых выбросах

Для определения состава и количества ПАУ и нитро-ПАУ фильтры трижды экстрагировали бензолом методом ультразвуковой экстракции (ультразвуковая установка Branson B-12, 50 Гц), экстракты анализируемой пробы объединяли и концентрировали до объема 10 мл. Часть экстракта отбирали для проведения биологических экспериментов. Выделение отдельных соединений проводили методом тонкослойной хроматографии на окиси алюминия с использованием в качестве подвижной фазы смеси бензол:гексан. Отобранные фракции экстрагировали бензолом; для проведения спектрального анализа в подготовленный к анализу экстракт добавляли n-октановый раствор соответствующего стандартного соединения. При проведении высокоэффективной жидкостной хроматографии экстракты переводили в ацетонитрил. Для биологических методов исследования, в частности, для проведения теста Эймса, первичную экстракцию проводили дихлорметаном.

Для качественного и количественного определения ПАУ и нитро-ПАУ был использован разработанный в нашей лаборатории высокочувствительный спектрально-люминесцентный метод, основанный на избирательном возбуждении спектров флуоресценции замороженных при 77°K поликристаллических n-октановых растворов (эффект Шпольского). Анализ исследуемых соединений осуществляли низкотемпературным спектрально-люминесцентным методом на спектрофлуориметре Hitachi M-850 (Япония) с двойным монохроматором на входе (возбуждение) и выходе (эмиссия люминесценции) и приставкой для низкотемпературной люминесценции (флуоресценции и фосфоресценции) с ксеноновым источником возбуждения [3, 4]

Определение N-нитрозаминов проводилось методом, основанным на извлечении исследуемых соединений водяным паром [5]. Из водного дистиллята экстракцию проводили хлористым метиленом. Экстракт высушивали Na_2SO_4 и концентрировали до необходимого объема. Анализ проводили методом газохроматографического разделения на хроматографе (газовый хроматограф) с термоэнергетическим детектором TEA 810 (Cambridge Scientific Instr.) и компьютерной системой регистрации и обработки данных.

Биологические методы

Бактериальный тест на мутагенную активность (тест Эймса)

Изучение потенциальной мутагенной активности было проведено в соответствии с международным стандартом [8], заключающимся в регистрации спо-

собности испытуемого соединения (смеси соединений в экстракте) и/или его метаболитов индуцировать генные мутации типа сдвига считывания или замены пар оснований у индикаторных микроорганизмов (*S. Typhimurium* TA100 и TA98). Ввиду предполагаемого наличия в выбросах канцерогенов прямого и непрямого действия, была использована методика с активацией проканцерогенов микросомной фракцией клеток печени крысы и без активации. Мутагенный эффект экстрактов сравнивали с действием стандартных генотоксических канцерогенов. Результаты учитывали при наличии мутагенного эффекта во всех вариантах позитивного контроля и в нормальном фоновом варианте.

Тест на промоторную активность

Для изучения промоторной активности выбросов был адаптирован тест, регистрирующий нарушение межклеточных контактов в монослойной культуре клеток крысы [9]. Разобшая клетки, промоторы способствуют выживанию и пролиферации трансформированных злокачественных клеток. Показателем эффекта является ширина зоны распространения флуоресцирующего красителя по обе стороны от нанесенной на монослой царапины. Положительным контролем на разобшение является действие стандартного разобшителя – 12-O-тетрадеканойл-форбол-ацетата (ТРА). В работе использовали линию иммортализованных клеток печени крысы IAR-2. Клетки рассеивали на 6-луночные планшеты с покровными стеклами на дне. Через 24 часа после посева в клеткам добавляли экстракты в разведениях 1/100, 1/1000, и 1/10000 и инкубировали в течение 72 часов. Разобшение межклеточных контактов определяли после нанесения царапины как отношение среднего числа слоев клеток, в которые произошло проникновение красителя для каждой концентрации исследуемого препарата к среднему числу слоев клеток, в которые произошло проникновение красителя в контрольных образцах (клетки, обработанные растворителем). Количество слоев периферических от «раны» клеток подсчитывали на флуоресцентном микроскопе Zeiss с фотонасадкой (AxioPlan 2 imaging), с использованием фильтра для FITC-флуоресценции и при 400-кратном увеличении. Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента для определения $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего, (стандартное отклонение/) с помощью пакета программ Microsoft Excel.

Индукция опухолей у дрозофилы (SMART-тест)

Для выявления бластомогенной активности исследуемых проб использовали оптимизированный протокол теста на соматический мутагенез и рекомбинацию на дрозофиле (SMART), разработанный в нашей лаборатории [11].

Тестирование проводили на личинках дрозофилы гетерозиготных по рецессивной мутации гена супрессора опухолевого роста warts (wts) гомолога человеческого lats. В гомозиготном состоянии этот мутантный ген вызывает опухоли из клеток имагинальных дисков, которые после вылета имаго можно обнаруживать и подсчитывать под бинокулярным микроскопом.

Скрещивание проводили, помещая по 10 самок и 5 самцов в пробирки со стандартной питательной средой на 36–40 ч. Личинок первого возраста F_1

обрабатывали испытуемыми соединениями из расчёта 0,2 мл раствора тестируемого вещества на пробирку. В качестве отрицательного контроля использовали дистиллированную воду, поскольку ранее нами было показано, что нет различий в частоте появления клонов при обработке личинок дистиллированной водой, 10% ДМСО, либо без обработки, в качестве положительного – 0,3 мМ водный раствор оксоплатина (Lachema, Чехия). В предварительных экспериментах по определению токсичности экстрактов дыма для дрозофилы было установлено, что минимальной нетоксической дозой является доза, соответствующая 0,05 л дымового выброса на пробирку. Взрослых самцов и самок из F1 просматривали под бинокулярной лупой на наличие опухолей. Подсчитывали количество просмотренных особей, количество опухолевых клонов и рассчитывали частоту опухолей на 100 особей.

Результаты исследования и их обсуждение

В первой стадии исследования в дымовых выбросах определяли содержание бенз(а)пирена, – индикаторного соединения, характеризующего наличие и состав основных приоритетных ПАУ.

Во всех образцах было отмечено высокое содержание БП, причем при сжигании латексных перчаток количество БП значительно превышало содержание этого соединения в дыме открытого сжигания несортированных бытовых отходов, как было показано нами в предыдущем исследовании (табл. 1).

В дымовых выбросах открытого сжигания образцов было определено количественное содержание ПАУ и ряда нитро-

ПАУ, часть из которых обладает высокой канцерогенной и мутагенной активностью (табл. 2).

Таблица 1
Содержание бенз(а)пирена в дыме открытого сжигания

Исследуемый объект	Количество БП, мкг/м ³
Несортированные ТБО*	2210,6
Чашки Петри	3957,0
Пипетки	2328,0
Перчатки, латекс	13467,0

Примечание. * Результат предыдущего исследования [1].

Из данных табл. 2, и рис. 1 видно, что в дыме от сжигания латексных перчаток содержалось наибольшее суммарное количество ПАУ – более 168000 мкг/м³. Также и содержание ПАУ, имеющих высокую канцерогенную активность, было в нем значительно выше, чем в дыме от сжигания пластмассовых изделий. Соотношение количественного содержания отдельных ПАУ различалось. В частности, в дыме от сжигания чашек Петри было в 2–3 раза больше неканцерогенного перилена, по сравнению с другими образцами, а при сжигании латексных перчаток во столько же раз больше слабо канцерогенного бенз(g,h,i)перилена.

Таблица 2
ПАУ и нитро-ПАУ в дыме открытого сжигания

№ п/п	Соединение	Сокращен. название	Канцерогенная активность соединения	Количество ПАУ, мкг/м ³		
				Чашки Петри	Пипетки	Перчатки, латекс
1	Фенантрен	Фн	–	13787	1443	5466
2	Флуорантен	Фл	–	1325	2142	12151
3	Пирен	П	–	56774	13435	22936
4	Бенз(а)антрацен	Б(а)А	+	5184	2654	10736
5	Хризен	Х	+	4090	1862	9223
6	Бенз(б)флуорантен	Б(б)Фл	+++	5050	1260	10248
7	Бенз(к)флуорантен	Б(к)Фл	+	307	186	9321
8	Бенз(а)пирен	Б(а)П	++++	3957	2328	13420
9	Дибенз(а,h)антрацен	ДБ(аh)А	++++	22637	10662	20496
10	Бенз(g,h,i)перилен	Б(ghi)Пл	+	15475	9936	50898
11	Индено(1,2,3-сd)пирен	Ин(1,2,3-сd)П	-	н.и*	н.и	3269
12	2-нитрофлуорен	2-нФл	+++	н.и	н.и	3396
13	1-нитропирен	1-нП	+++	6124	4596	5720
14	2,5-динитрофлуорен	2,5-днФл	-	980	1196	н.и
15	2,7-динитрофлуорен	2,7-днФл	+	2544	2988	3556
16	4-нитробифенил	4-нбф	++	н.и	н.и	2200

Примечание. *ниже предела чувствительности метода.

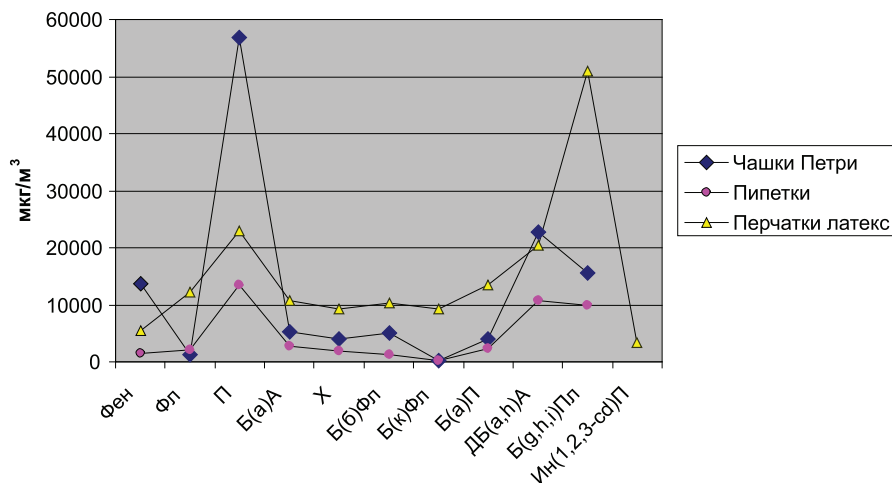


Рис. 1. ПАУ в экстрактах дыма от открытого сжигания образцов

При температурах открытого сжигания возможна реакция ПАУ с двуокисью азота с образованием нитро-ПАУ, часть которых является прямыми мутагенами и канцерогенами. Так, неканцерогенный пирен, превращаясь в нитропирены, приобретает эти свойства. В частности 1-нитропирен зарегистрирован как потенциально токсичное, мутагенное и канцерогенное соединение [10]

В продуктах сгорания были определены нитропроизводные ПАУ, обладающие канцерогенными свойствами и являющиеся прямыми мутагенами (табл. 2). Наибольшее суммарное содержание обнаруженных нитро-ПАУ отмечено в дыме сгорания латексных перчаток – более 14000 мкг в м³.

Формирование ПАУ и нитро-ПАУ зависит от температуры. Температура открытого горения пластмасс и резины сравнительно невелика (от 250°C), при этих условиях образуется наибольшее количество ароматических углеводородов. Повышение температуры горения приводит к существенному уменьшению формирования большинства ПАУ и нитро-ПАУ, что было показано в наших предыдущих экспериментах с использованием установки ЭЧУТО [1]. По данным литературы известно, что более 99% нитро-ПАУ, образовавшихся в первичной зоне горения мусоросжигательной установки, разлагаются во вторичной камере сгорания при 900°C. Кроме того сжигание при разных температурах в зоне горения и газификации зоны влияет на видовой состав ПАУ (минимальный выброс углеводородов достигается при самом высоком значении температуры (1150°C) и времени удерживания газов в зоне горения [13]).

В продуктах открытого сжигания пластмассовых и латексных изделий были обна-

ружены и канцерогенные N-нитрозамины (рис. 2), которые образуются в результате сжигания материалов, продукты горения которых содержат вторичные амины. Найденные нами соединения обозначены в перечне National Toxicology Program, Department of Health and Human Services; Report on Carcinogens, Thirteenth Edition как потенциально опасные для человека.

В дыме от сжигания чашек Петри и пипеток наибольшая концентрация N-нитрозодиметиламина N-нитрозоморфолина составила 4 и 4, мкг/м³ соответственно. При сжигании латексных перчаток содержание этих соединений составило до 38 и 6,2 мкг/м³ соответственно. ПДК N-нитрозаминов в атмосферном воздухе 0,050 мкг/м³; в воздухе рабочей зоны 2,5 мкг/м³. Поскольку недостаточно работ, посвященных исследованию содержания в промышленных и дымовых выбросах канцерогенных нитрозосоединений, в дальнейших исследованиях необходимо определять вклад этих соединений в состав загрязненной воздушной среды.

Биологические эксперименты

Тест Эймса

Результаты экспериментов представлены в табл. 3 и 4.

Табл. 3 содержит данные, полученные при испытаниях на штамме *Salmonella typhimurium* TA100, чувствительном к мутагенам, индуцирующим мутации типа замены пар оснований. Даны результаты двух повторных опытов. В каждом опыте представлен фоновый вариант, позитивные контроли с использованием стандартных мутагенов и результаты исследований в вариантах с микросомальной активирующей смесью (+S9) и без нее (-S9).

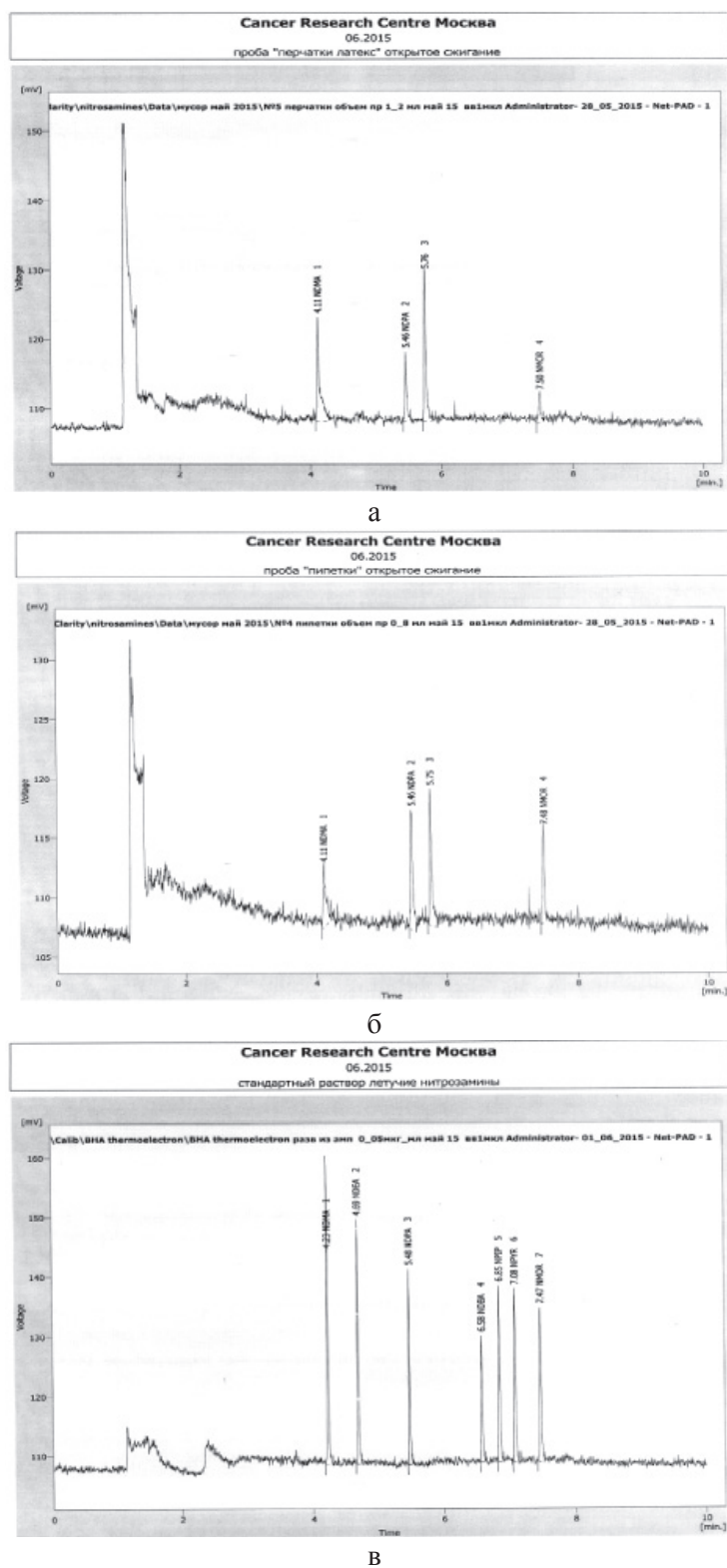


Рис. 2. Хроматограммы N-нитрозаминов:
 а – перчатки латекс; б – лабораторные пипетки, пластик;
 1 – N-нитрозодиметиламин (НДМА); 2 – N-нитрозодипропиламин (НДПА -внутренний стандарт); 3 – неизвестное соединение; 4 – N-нитрозоморфолин (НДМА);
 в – хроматограмма стандартной смеси:
 1 – N-нитрозодиметиламин (НДМА); 2 – N-нитрозодиэтиламин (НДЭА);
 3 – N-нитрозодипропиламин; 4 – N-нитрозодибутиламин (НДБА); 5 – N-нитрозопиперидин (НППП);
 6 – N-нитрозопирролидин (НППР); 7 – N-нитрозоморфолин (НМОР)

Таблица 3

Действие выбросов открытого сжигания на индикаторный штамм бактерий TA100 в тесте Эймса (*Salmonella*/микросомы)

Исследуемое вещество	Доза	Штамм TA100					
		-S9			+S9		
		М ± m	M _i /M _o	МА	М ± m	M _i /M _o	МА
Контроль фона	0	35 ± 0,9	1,0	–	42 ± 2,9	1,0	–
БП	4,4				350 ± 79,8	8,3	+
ААФ	22				661 ± 26,2	15,7	+
НГ	4,4	710 ± 66,7	20,3	+			
	л/чашка						
чашки Петри	0,001	40 ± 4,9	1,1	–	64 ± 4,9	1,5	–
	0,011	39 ± 8,2	1,1	–	188 ± 4,3	4,5	+
	0,055	69 ± 2,2	2,0	–	209 ± 39,6	5,0	+
	0,11	90 ± 4,4	2,6	+	232 ± 14,7	5,5	+
	0,22	101 ± 5,6	2,9	+	180 ± 22,6	4,3	+
Пипетки	0,001	38 ± 1,5	1,1	–	53 ± 3,1	1,3	–
	0,011	47 ± 4,5	1,3	–	163 ± 4,8	3,9	+
	0,055	130 ± 6,4	3,7	+	286 ± 54,7	6,8	+
	0,11	157 ± 7,1	4,6	+	296 ± 9,3	7,0	+
Перчатки	0,001	38 ± 4,9	1,1	–	130 ± 9,8	3,1	+
	0,011	96 ± 11,8	2,7	+	405 ± 30,2	9,6	+
	0,055	224 ± 3,1	6,4	+	538 ± 56,7	12,8	+
	0,11	333 ± 17,8	9,5	+	518 ± 34,7	12,3	+

Примечания:

M_i / M_o – отношение числа ревертантов в опыте к числу ревертантов в контроле.

МА – мутагенная активность препарата. «+» означает наличие, «–» отсутствие мутагенной активности.

Табл. 4 содержит результаты аналогичных испытаний, но со штаммом *Salmonella typhimurium* TA98, чувствительным к мутагенам, индуцирующим мутации типа сдвига рамки считывания. В обеих таблицах активность каждой дозы представлена в виде средних значений (три чашки на дозу).

Как показывают результаты экспериментов, в контрольном (фоновом) варианте частота индуцируемых мутаций не превышала стандартного уровня, соответствующего генетическим особенностям каждого тестерного штамма. Варианты позитивного контроля показали хорошую активность фракции S9: промутагены ААФ и БП индуцировали высокий уровень реверсий. Высокая специфичность мутагенного ответа была подтверждена испытаниями штамма TA98 с мутагеном ДДТДП (индуктор мутаций сдвига рамки считывания) и штамма TA100 с мутагеном НГ (индукция мутаций замены пар оснований).

Исследования мутагенной активности выбросов, полученных при сжигании образцов открытым способом, показали, что в пределах чувствительности данного ме-

тода, при достигаемых в препаратах концентрациях органических соединений выбросы экстракты дыма всех трех видов образцов являются мутагенными для штаммов *Salmonella typhimurium* TA100 и TA98. При этом наименьшей мутагенной активностью обладали экстракты дыма от сжигания чашек Петри. Прямой мутагенный эффект на штамме TA100 (замена пар оснований) наблюдался при концентрации, соответствующей 0,11 л дымового выброса на чашку, тогда как для экстрактов дыма пипеток и перчаток он достигался соответственно при дозах в 2 и 10 раз меньших. Непрямой эффект от проканцерогенных соединений, требующих метаболической активации изоформами цитохрома P450, был также максимальным от дыма горящего латекса. Достоверное повышение числа ревертантов вызывало его количество в 11 раз меньшее, чем в случае сжигания пластмасс. Содержание прямых мутагенов, вызывающих мутации по типу сдвига рамки считывания (штамм TA98) было одинаковым для всех экстрактов, в то время как непрямым было на порядок больше в экстрактах дыма горения перчаток.

Таблица 4

Действие выбросов открытого сжигания на индикаторный штамм бактерий TA98 в тесте Эймса (Salmonella/микросомы)

Исследуемое вещество	Доза мкг/чашка	Штамм TA98					
		-S9			+S9		
		M ± m	M _i /M _o	MA	M ± m	M _i /M _o	MA
Контроль	0	9 ± 0,4	1,0	–	15 ± 1,8	1,0	–
БП	4,4				121 ± 14,0	8,1	+
ААФ	22				449 ± 26,2	29,9	+
ДДТДП	4,4	317 ± 28,9	35,2	+			
	л/чашка						
Чашки Петри	0,001	10 ± 0,7	1,1	–	25 ± 2,0	1,7	–
	0,011	24 ± 2,2	2,7	+	63 ± 6,7	4,2	+
	0,055	43 ± 2,7	4,8	+	95 ± 3,5	6,3	+
	0,11	48 ± 1,3	5,3	+	111 ± 7,1	7,4	+
Пипетки	0,001	11 ± 1,1	1,2	–	14 ± 2,0	0,9	–
	0,011	25 ± 2,2	2,8	+	61 ± 3,8	4,1	+
	0,055	58 ± 2,9	6,4	+	109 ± 6,2	7,3	+
	0,11	77 ± 4,4	8,6	+	125 ± 1,8	8,3	+
Перчатки	0,001	20 ± 2,4	2,2	–	37 ± 5,8	2,5	+
	0,011	53 ± 8,0	5,9	+	181 ± 10,2	12,1	+
	0,055	153 ± 13,0	17,0	+	284 ± 15,6	18,9	+
	0,11	189 ± 26,0	21,0	+	322 ± 13,6	21,5	+

Примечания:

M_i / M_o – отношение числа ревертантов в опыте к числу ревертантов в контроле.

MA – мутагенная активность препарата. «+» означает наличие, «–» отсутствие мутагенной активности

Деление на прямые и непрямые мутагены в тесте Эймса связано с тем, что у бактерий отсутствуют или слабо активны ферменты, способные превращать проканцерогены в активные метаболиты (изоформы цитохрома P450), что требует внешней активации испытуемых соединений микросомной фракцией печени млекопитающих, богатой этими ферментами. В связи с этим прямой мутагенный эффект оказываю соединения, не требующие метаболической активации (электрофилы типа нитрозометилмочевины, эпоксидов и диолэпоксидов). При таком условном разделении нитроПАУ попадают в категорию прямых канцерогенов, поскольку в клетках сальмонеллы присутствует система нитроредуктаз, способных превращать нитро ПАУ в электрофильные метаболиты. Таким образом, найденные в выбросах нитро-ПАУ (1-нитропирен, 2-нитрофлуорантен и др.) являются сильными прямыми мутагенами в тесте Эймса и прямая мутагенная активность дыма от сгоревших пластмасс может быть вызвана этими соединениями. Высокая концентрация ПАУ, в том числе канцерогенных, может нести ответственность за непрямую мутагенную активность выбросов.

Нарушение клеточной кооперации экстрактами дымовых выбросов

Из данных табл. 5 видно, что все экстракты дыма в соответствующих разведениях практически одинаково ингибировали распространению в клетках флуоресцирующего красителя, т.е. разобщали их щелевые межклеточные контакты. Эффект был дозозависимым но не пропорциональным концентрации. Так, при разведении экстрактов в 100 раз, от $1 \cdot 10^{-2}$ до $1 \cdot 10^{-4}$ доля прокрашенных клеток уменьшалась всего в 2 раза.

Кроме того, эффект разобщения не коррелировал с содержанием в экстрактах ПАУ, нитроПАУ и N-нитрозаминов. Канцерогенные варианты этих соединений являются полными канцерогенами, то есть обладают способностью не только инициировать процесс злокачественного превращения клетки, но и промотировать с помощью своих метаболитов выживание и размножение трансформированных клонов. В предыдущем исследовании мы нашли, что агенты, вызывающие разобщение гепатоцитов являются термостойкими соединениями, не разлагающимися при высокой температуре и пиролизе.

Таблица 5

Разобшение клеток экстрактами дымовых выбросов

Экстракт дыма от сжигания изделий	Материал	Кратность разведения экстракта	Доля прокрашенных клеток (%)
Чашки Петри	полистирол	$1 \cdot 10^{-2}$	35 ± 2
		$1 \cdot 10^{-3}$	61 ± 2
		$1 \cdot 10^{-4}$	70 ± 2
Пипетки	полистирол	$1 \cdot 10^{-2}$	31 ± 2
		$1 \cdot 10^{-3}$	58 ± 3
		$1 \cdot 10^{-4}$	67 ± 2
Перчатки	латекс	$1 \cdot 10^{-2}$	28 ± 2
		$1 \cdot 10^{-3}$	45 ± 2
		$1 \cdot 10^{-4}$	61 ± 2
Контроль			
Вода дистиллированная			100 ± 1
Раствор ТРА $\times 5$ нг/мл			8 ± 2

Примечания:

Во всех случаях доля прокрашенных клеток значительно отличалась от контроля с H₂O (P<0,01).

* (12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетат).

Поскольку способность разобщать клеточные контакты является одним из механизмов промоции канцерогенеза [6], есть основания полагать, что при термическом разложении пластмасс и латексов в атмосферу поступает термостойкий промотор. Дальнейшее исследование этого вопроса представляется весьма важным.

Индукция опухолей у дрозофилы (SMART-тест)

В табл. 6 представлены результаты исследования способности экстрактов корпускулярной фазы, соответствующей 0,05 л дымового выброса индуцировать опухоли у дрозофилы в тесте SMART.

Значимое увеличение частоты появления опухолевых клонов wts/wts, т.е. клонов, в которых произошла инактивация

нормального аллеля в результате соматической рекомбинации, точечной мутации, либо геновой или хромосомной делеции с образованием гомозиготы по мутантному гену, было получено при обработке личинок экстрактами дыма от сжигания латексных перчаток и пипеток из полистирола, но не чашек Петри, изготовленных также из полистирола (табл. 6). Это может быть связано с тем, что пипетки и чашки Петри были изготовлены из разных типов полистирола, которые подразделяются на атактический, изотактический и синдиотактический варианты. Эти типы значительно различаются по структуре молекулы, механическим свойствам и жаропрочности, с которой связана температура термического разложения.

Таблица 6

Индукция опухолей у дрозофилы экстрактами дымовых выбросов

Экстракт дыма от сжигания изделий	Материал	Посмотрено особей	Количество опухолей	Процент опухолей
Чашки Петри	Полистирол	517	14	2,71
Перчатки	Латекс	274	54	9,49*
Пипетки	Полистирол	226	22	9,73*
Контроль				
Оксоплатин, 0,3мМ		964	818	82,68*
дистиллированная вода		1210	37	3,06

Примечание. * – частота статистически значимо отлична от чистого контроля (дистиллированная вода) P < 0,01.

Таким образом, экстракты выбросов, полученных при сжигании пипеток и латексных перчаток открытым способом, содержали достаточное количество веществ или комплексов, способные вызывать опухоли у дрозофилы. Причины, по которым экстракты дыма от сжигания чашек Петри не вызвали опухоли на этой модели подлежат дальнейшему исследованию, поскольку содержание в них сильных канцерогенов было сравнимым с их количеством в из дыма от пипеток. В то же время эти экстракты были значительно менее активными индукторами реверсий у сальмонеллы в тесте Эймса. Возможно здесь играет роль тот факт, что содержание в них неканцерогенного пирена было в 2–3 раза выше, чем в двух других. Учитывая тот факт, что система активации проканцерогенов, представленная в клетке изоформами цитохрома P450 метаболизирует также и пирен, превращая его в столь же неканцерогенные производные, можно предполагать, что пирен конкурирует с канцерогенными ПАУ и блокирует их превращение в активные электрофилы.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что количественные показатели содержания в сложной смеси отдельных канцерогенов не могут служить единственным критерием оценки канцерогенной опасности всего сложного продукта. В целом, принимая во внимание наши предыдущие исследования, в которых была продемонстрирована чувствительность дрозофилы к канцерогенам млекопитающих, можно со значительной долей вероятности считать исследованные дымовые выбросы канцерогенными для человека, а открытое сжигание наиболее опасным способом их уничтожения.

Современные специализированные мусоросжигающие установки позволяют минимизировать генотоксические выбросы. Ранее мы показали, что сжигание тех же материалов в современной специализированной установке ЭЧУТО (экологически чистая утилизация отходов) с использованием процесса пиролиза резко уменьшает количество канцерогенных соединений в выбросах [1]. Содержание в них бенз(а)пирена даже без процесса пиролиза ока-

залось на два-три порядка ниже, чем при сжигании открытым способом, а при включении в процесс пиролиза содержание бенз(а)пирена непосредственно на выходе из трубы снизилось до уровня ПДК рабочей зоны. Очевидно, что на границе санитарно-защитной зоны концентрация БП при этом должна снизиться до уровня ПДК в атмосферном воздухе.

Список литературы

1. Кривошеева Л.В. Интегральная оценка мутагенно- и канцерогенного потенциала дымовых выбросов при термическом уничтожении биомедицинских отходов / Кривошеева Л.В., Хитрово И.А., Иванов А.А., Белицкий Г.А. и др. // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10. – С. 1514–1523
2. Михасенок О.Я. Тенденции индустрии пластмасс // Журн. Полимерные материалы. Итоги и прогнозы. – 2003. – Вып.1. – С.6–9.
3. Руководство по контролю загрязнения атмосферы / РД 52.04. – М., 1991. – С. 186–189.
4. Хесина А.Я., Левинский С.С., Кривошеева Л.В., Хитрово И.А. // Патент РФ № 2122199, 20.11.1998.
5. Жукова Г.Ф. Флуориметрический и хемиллюминесцентный методы определения Ннитрозаминов / Жукова Г.Ф., Хесина А.Я., Кривошеева Л.В. и др. // Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов. – М.: Брандес-«Медицина» 1998. – С. 286–298.
6. Budunova I.V., Mittelman L.A., Belitsky G.A. The effect of complete carcinogens on intercellular transfer of lucifer yellow in fibroblast culture // Cell Biol Toxicol. – 1990. – № 6(1). – P. 47–61.
7. EPB 433- Health and Environmental Effects of Burning Waste Plastics.
8. International Standard ISO 10993-3:1992(E) Biological evaluation of medical devices. Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity. Method 471 Genetic toxicology: Salmonella typhimurium, Reverse Mutation Assay.
9. Naa M.R., Kooa S.K., Kim D.Y., Parkb S.D., Rhee S.K., Kanga K.W., Joe C. In vitro inhibition of gap junctional intercellular communication by chemical carcinogens // Toxicology. 1995. – № 98. – P. 199–206.
10. Scheepers P.T., Martens M.H., Velders D.D., Fijne-man P., van Kerkhoven M., Noordhoek J., Bos R.P. 1-Nitropyrene as a marker for the mutagenicity of diesel exhaust-derived particulate matter in workplace atmospheres // Environ Mol Mutagen. – 1995. – № 25(2). – P. 134–47.
11. Sidorov R.A.1, Ugnivenko E.G., Khovanova E.M., Belitsky G.A. // Mutat Res. – 2001. – № 15, 498 (1–2). – P. 181–191.
12. Simoneit B.R., Medeiros P.M., Didyk B.M. Combustion products of plastics as indicator for refuse burning in the atmosphere // Environmental Science & Technology. – 10/2005. – № 39(18). – P. 6961–6970.
13. Watanabe M., Noma Y. Influence of Combustion Temperature on Formation of Nitro-PAHs and Decomposition and Removal Behaviors in Pilot-Scale Waste Incinerator // Environ. Sci. Technol. – 2009. – № 43 (7). – P. 2512–2518.