

УДК 616-006:504.5-03

ИНТЕГРАЛЬНАЯ ОЦЕНКА МУТАГЕННОГО И КАНЦЕРОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ДЫМОВЫХ ВЫБРОСОВ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОМ УНИЧТОЖЕНИИ БИМЕДИЦИНСКИХ ОТХОДОВ

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

*ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина»,
Москва, e-mail: khitrovoia@mail.ru*

В экстрактах дымовых выбросов от сжигания отходов определяли количественное содержание канцерогенных полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), мутагенность в тесте Эймса, способность разобщать контакты клеток млекопитающих и способность индуцировать опухоли у дрозофилы. Показано, что при неорганизованном сжигании твердых отходов в печи открытого типа с дымом выбрасывается большое количество канцерогенных ПАУ прямого и непрямого действия. Дымовой выброс специализированной установки ЭЧУТО 150-03 при сжигании пластмассовых отходов биомедицинского назначения в беспиролизном режиме содержит в несколько раз меньше этих соединений, причем только проканцерогенов, активируемых системой цитохрома P450. Экстракты этого дыма содержат соединения, разобщающие клеточные контакты, то есть промоторы канцерогенеза. В то же время в них не содержится достаточного количества генотоксических канцерогенов, способных вызывать опухоли у дрозофилы. Низкое содержание в выбросе отдельных сильных канцерогенов не может служить показателем его мутагенной и канцерогенной безопасности, поскольку экстракты дыма от беспиролизного сжигания пластмасс, содержавшие бенз(а)пирен и бензфлуорантен в количестве на порядок ниже минимально мутагенного, вызывали значительное количество реверсий штаммов сальмонеллы в тесте Эймса. Включение пиролиза в цикл работы установки ЭЧУТО 150-03 уменьшает содержание канцерогенов в дыме на один-два порядка по сравнению с беспиролизным режимом и приближает его к ПДК в воздухе рабочей зоны. Экстракты этого дыма не обладают мутагенной активностью, но сохраняют способность разобщать клетки. Таким образом, реальная оценка генотоксической опасности продуктов термической переработки отходов возможна только при сочетании физико-химических и биологических методов.

Ключевые слова: биомедицинские отходы, сжигание, канцерогенные углеводороды, мутагенез, разобщение клеток, опухоли дрозофилы

INTEGRAL ASSESSMENT OF THE MUTAGENIC AND CARCINOGENIC POTENTIAL OF SMOKE FROM THERMAL DESTRUCTION OF BIOMEDICAL WASTE

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

*Federal State Budgetary Scientific Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center»,
Moscow, e-mail: khitrovoia@mail.ru*

The content of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), mutagenicity in the Ames test, the ability to disconnect contacts of mammalian cells and the ability to induce tumors in *Drosophila* were evaluated in extracts of smoke emissions from waste incineration. It is shown that smoke produced by burning of solid waste in an open-fire furnace contains large amounts of direct and indirect acting carcinogenic PAH's. Smoke emission of specialized installation ECHUTO 150-03 when burning plastics of biomedical waste without pyrolysis contains several times less of these compounds and only procarcinogens activated by cytochrome P450. Extracts of smoke contain compounds dissociative cell contacts, i.e. promoters of carcinogenesis. At the same time, they do not have enough genotoxic carcinogens that can induce tumors in *Drosophila*. Low content of strong carcinogens in the emissions may not ensure the lack of mutagenic and carcinogenic hazard because extracts of smoke from plastics burned without pyrolysis containing benzo(a)pyrene and benzofluoranten in an amount much lower of minimum mutagenic produced a significant number of reversions in *Salmonella* at the Ames test. Preliminary pyrolysis of plastics in ECHUTO 150-03 reduces the levels of carcinogens in the smoke by one to two orders of magnitude and make it closer to the permissible limits of the air pollution at the workstation. Extracts of this smoke are not mutagenic, but retain the ability of cell uncoupling. So, a realistic assessment of genotoxic hazard of thermal recycling products is only possible with a combination of physicochemical and biological methods.

Keywords: biomedical waste, burning, carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons, mutagenicity, disconnect contacts of cells, tumors in *Drosophila*

При термической переработке отходов образуются сложные продукты, которые в различных сочетаниях попадают в окружающую среду. Часть из них представляет реальную канцерогенную и генетическую опасность, масштабы которой постоянно

возрастают. Общепринятых критериев реальной оценки этой опасности не существует, поскольку она складывается не из суммы количественного содержания отдельных канцерогенов в выбросах, а формируется при участии модифицирующего действия

многих других содержащихся в них соединений. В связи с этим эффективным способом экспрессной оценки потенциального онкологического риска сложных смесей может быть только сочетание данных физико-химического анализа с результатами оценки суммарной мутагенной и канцерогенной активности в биологических тестах.

Методологическим подходом исследования послужила двухстадийная теория химического канцерогенеза, в соответствии с которой опухоль возникает в результате сочетанного действия иницирующих факторов, вызывающих злокачественную трансформацию клетки и промоторов, способствующих реализации ее потенциала. В связи с этим помимо определения количественного состава канцерогенных соединений в выбросах исследовали их мутагенную и промоторную активность. Кроме того, индуцировали опухоли у гетерозиготных личинок дрозофилы:

Цель работы – разработка системы оценки канцерогенной опасности выбросов, образующихся при разной технологии термического разложения биомедицинских отходов.

Материалы и методы исследования

Исследованию подвергалась корпускулярная фаза воздушного выброса, образующегося при термическом разложении пластмассовых изделий биомедицинского назначения, отсортированных по виду изделий и типу пластмассы. Данный объект был избран потому, что относительно низкая стоимость пластмасс и простота их обработки создали возможность массового производства изделий, широко применяемых в клинике и научных учреждениях медицинского профиля.

Отходы перерабатывали на новой, ранее не эксплуатировавшейся установке «ЭЧУТО-150.03» («Экологически чистая утилизация твердых отходов» (рисунок)), основным технологическим принципом работы которой является не прямое двухступенчатое сжигание, включающее предварительное термическое разложение (пиролиз) органической части исходного сырья, сжигание газообразных продуктов и дожиг коксового остатка [2, 7].

Для исследования влияния пиролиза на состав и количество канцерогенных соединений в выбросах термическую переработку проводили по двум схемам – с использованием процесса пиролиза и без пиролиза. Для сравнения часть несортированных отходов сжигали в печи открытого типа. Отбор корпускулярной фазы воздушного выброса проводили автоматическим пробоотборником «ОП-442ТЦ» с объемной скоростью 10 л/мин на фильтры АФА-РМА-20.



Установка «ЭЧУТО 150-03»

Исследование полициклических ароматических углеводородов в выбросах при термическом разложении отходов

Для определения состава и количества канцерогенных полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) фильтры экстрагировали бензолом три раза по 50 мл на ультразвуковой бане (Branson B-12, 50 Гц) по пятнадцать минут; все экстракты анализируемой пробы объединяли и концентрировали до объема 10 мл. Часть экстракта отбирали для проведения биологических экспериментов. Для качественного и количественного определения ПАУ был использован разработанный в нашей лаборатории высокочувствительный спектрально-флуориметрический метод, основанный на избирательном возбуждении

спектров флуоресценции замороженных при 77°К 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 [1, 12]

Биологические тесты

Тест Эймса. Индукция генных мутаций в системе сальмонелла/микросомы [13] проводилась в соответствии с международным стандартом [11] на индикаторных штаммах *Salmonella typhimurium* TA100,

дающих обратные мутации по механизму замены пар оснований и TA98, мутирующей в результате сдвига рамки считывания. Метаболическую активацию промутагенных соединений осуществляли микросомальной фракцией гомогената печени крыс линии «Вистар» с предварительной индукцией ферментов системы цитохрома P450 смесью полихлорированных бифенилов «Совол» [2]

Бензольные экстракты дымовых выбросов упаривали досуха, остаток растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО), инкубировали в пробирках с 0,6% селективным полуобогатенным агаром, суспензией бактерий и микросомальной активирующей смесью S9, либо растворителем. Далее содержимое пробирок наносили на слой минимального агара без гистидина в чашках Петри. Позитивным контролем служили стандартные мутагены. В качестве прямого мутагена для штамма TA100 использовали азид натрия или нитрозогуанидин, для штамма TA98 2,7-диамино-4,9-диокси-5,10-диокси-4,5,9,10-тетрагидро-4,9-диазапирен (ДДДТДП). Способность фракции S9 активировать промутагены контролировали бенз/а/пиреном (БП) и 2-ацетиламинофлуореном (ААФ) для обоих штаммов. Учет результатов проводили через 48–72 часа инкубации при 37°C. Наличие и величину мутагенного эффекта определяли по количеству колоний обратных ревертантов. В каждом варианте использовали по 3 чашки Петри на дозу.

Тест на нарушение метаболической кооперации клеток

В работе использовали линию иммортализованных клеток печени крысы IAR-2 [8]. Клетки рассевали на 6-луночные планшеты с покровными стеклами на дне. Через 24 часа после посева к клеткам добавляли экстракты в разведениях 1/100, 1/1000, 1/10000 и 1/100000 и инкубировали в течение 72 часов. За 2 часа до проведения эксперимента клетки, служащие положительным контролем, обрабатывали ТРА (12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетат) (Cell Signaling Technology) в концентрации 5 нг/мл. После окончания инкубации клетки дважды промывали PBS, покрывали раствором люминесцентного индикатора (люцифер желтый) и наносили на монослой клеток царапины хирургическим скальпелем. Затем клетки инкубировали 2 минуты при 37°C, во влажной атмосфере без доступа света, трижды промывали PBS в течение 1 мин при комнатной температуре. После промывки клетки покрывали фиксирующим раствором и инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре. Стекла с клеточным монослоем исследовали на флуоресцентном микроскопе Zeiss с фотонасадкой (AxioPlan 2 imaging), с использованием фильтра для FITC-флуоресценции и при 400-кратном увеличении.

Для каждой исследуемой дозы экстракта делали 10 независимых снимков области монослоя клеток, прилегающих к линии царапины. Разобшение межклеточных контактов определяли 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).

Индукция опухолей у дрозофилы

Тестирование проводили на гетерозиготах wtsP4/+ , полученных путем скрещивания: ♀ w; wtsP4/TM3 x ♂ D-32 по методике, описанной нами ранее [14]

Родителей скрещивали массово, помещая по 10 самок и 5 самцов в пробирки со стандартной питательной средой на 36–40 часов. Личинок первого возраста F₁ обрабатывали испытуемыми соединениями из расчета 0,2 мл раствора тестируемого вещества на пробирку (10% экстракта корпускулярной фазы выброса в диметилсульфоксиде + 90% дистиллированной воды). В качестве отрицательного контроля использовали 10% ДМСО в дистиллированной воде, в качестве положительного – 3 мМ водный раствор оксоплатина (Lachema, Чехия).

Взрослых самцов и самок из F₁ просматривали под бинокулярной лупой на наличие опухолей. Подсчитывали количество просмотренных особей (N), количество опухолевых клонов (OK), рассчитывали частоту опухолей на 100 особей $p = (OK/N) \cdot 100\%$.

Во всех экспериментах статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента для определения $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего, (стандартное отклонение \sqrt{n}) с помощью пакета программ Microsoft Excel.

Результаты исследования и их обсуждение

В дыме печи открытого типа и установки ЭЧУТО было измерено содержание 6 ПАУ, из которых БП и БФЛ обладают высокой канцерогенной и мутагенной активностью. Количество всех ПАУ в дыме печи неорганизованного сжигания было на порядок выше, чем в выбросах установки ЭЧУТО, работавшей для сравнимости результатов по технологической схеме, не включающей процесс пиролиза (табл. 1).

Максимальное содержание БП в выбросах этой установки при сжигании пластмасс без пиролиза составило 65,85 мкг/м³, т.е. было в 33 раза меньше, чем в дымовом выбросе печи открытого типа, а БФЛ в 170 раз (табл. 1). В случае сжигания с пиролизом количество ПАУ в выбросе ЭЧУТО снизилось еще на 1–2 порядка и приблизилось по содержанию БП к ПДК в воздухе рабочей зоны, которая составляет 0,15 мкг/м³ (табл. 2).

Это связано с тем, что при пиролизе пластмассы разлагаются на простые олефины, которые сгорают при высокой температуре практически полностью [12, 7].

Вывяснилось, что дымовые выбросы от сгорания различных изделий из одного и того же вида пластмасс образуют разное количество БП (табл. 2). В частности, сжигание без пиролиза полистироловых флаконов для культивирования клеток давало в несколько раз больше БП, чем сжигание других изделий из полистирола. Это связано с тем, что название «полистирол» объединяет ряд вариантов с различным строением молекулы. В исходном виде полистирол гидрофобен и не пригоден для изготовления флаконов, в которых культивируются клетки, поскольку они не могут прикрепляться

к их поверхности. Для повышения гидрофильности и улучшения условий адгезии клеток в его состав вводят дополнительные NH₂ группы.

Таблица 1

Содержание ПАУ в дымовых выбросах при сжигании отходов в печи открытого типа и в установке ЭЧУТО без пиролиза

Исследуемый объект	Способ термической переработки	Материал	Полициклические ароматические углеводороды (мкг/м ³)					
			Б(а)П	Б(е)П	БФЛ	ДБА	БА	Ф
Несортированные бытовые отходы	Печь открытого типа	Смесь	2210,6	913,9	2707,1	197,6	2420,6	н.и.
Флаконы для культур	Технология ЭЧУТО без пиролиза	полистирол	65,85	16,23	15,83	24,61	49,59	36,56
Стаканы пищевые		полипропилен	61,23	13,88	12,68	23,45	48,89	46,65
Ложки пищевые		полипропилен	13,77	3,21	2,77	5,27	10,19	7,60
Наконечники для дозаторов		полистирол	22,32	4,39	3,96	6,16	18,23	14,09
Пробирки центрифужные		полистирол	9,57	1,89	1,89	2,87	8,18	6,29
Перчатки		нитрил	2,32	0,57	0,55	0,79	2,54	3,78
Чашки Петри		полистирол	3,19	1,09	0,89	1,26	2,46	2,60
Пипетки		полистирол	0,77	0,22	0,14		0,43	0,92

Примечания :

н.и. – не идентифицирован
 Б(а)П – бенз(а)пирен; Б(е)П – бенз(е)пирен; БФЛ – бенз(б)флуорантен + бенз(к)флуорантен;
 ДБА – дибенз(а,һ)антрацен + дибенз(а,с)антрацен; БА – бенз(а)антрацен; Ф – фенантрен.

Таблица 2

Влияние пиролиза на содержание бенз(а)пирена в дымовом выбросе

№ п/п	Образец отходов	Материал	Количество бенз(а)пирена, мкг/м ³ выброса		
			пиролиз		%*
			–	+	
1	Флаконы для культур	полистирол	65,85	0,24	0,36
2	Стаканы пищевые	полипропилен	61,23	0,22	0,35
3	Ложки пищевые	полипропилен	13,77	0,04	0,29
4	Наконечники для дозаторов	полистирол	22,32	0,10	0,45
5	Перчатки	латекс	15,95	0,08	0,50
6	Пробирки центрифужные	полистирол	9,57	0,09	0,94
7	Перчатки	нитрил	2,32	0,21	9,05
8	Чашки Петри	полистирол	3,19	0,07	2,19
9	Пипетки	полистирол	0,77	0,03	3,89

Примечание.* остаток БП при сжигании с пиролизом в % к его количеству при сжигании без пиролиза.

Таким образом, утилизация пластмасс биомедицинского назначения на установке ЭЧУТО с пиролизом приближает выброс БП, индикатора содержания ПАУ, к уровню ПДК для воздуха рабочей зоны.

Мутагенное действие экстрактов дымового выброса

Экстракт дыма печи открытого типа вызвал значимый мутагенный эффект, по типу замены пар оснований (ТА 100) в варианте

с метаболической активацией (+S9), был получен при добавлении в культуры эквивалента 0,14 литра дыма, а без активации (-S9) от эквивалента 1,35 литра, т.е. на порядок больше (табл. 3). Такая же разница, но при меньших концентрациях была получена и на штамме ТА 98. Это свидетельствует о том, что в дыме содержалось значительно больше стабильных канцерогенов непрямого действия, чем менее устойчивых с прямым действием.

Таблица 3

Мутагенное действие экстракта дыма печи открытого типа на индикаторные штаммы бактерий TA 100 и TA 98

Исследуемый объект	Доза мкг/чашка	Штамм TA 100					
		-S9			+ S9		
		M ± m	M _i /M _o	МА	M ± m	M _i /M _o	МА
Контроль фона	0	53 ± 2,0	1,0	–	68 ± 4,4	1,0	–
БП	4,4				980 ± 32	14,4	+
ААФ	22				915 ± 45	13,5	+
НГ	4,4	440 ± 93,3	8,3	+			
	л/чашка*						
Экстракт дыма	0,014	53 ± 12,2	1,0	–	108 ± 18,3	1,6	–
	0,14	86 ± 10,9	1,6	–	542 ± 33,1	8,0	+
	0,27	104 ± 5,6	2,0	–	525 ± 62,2	7,7	+
	1,35	229 ± 37,4	4,3	+	378 ± 72	5,6	+
		Штамм TA 98					
Контроль фона	0	8 ± 1,3	1,0	–		1,0	–
БП	4,4				155 ± 11	14,1	+
ААФ	22				310 ± 20,1	28,4	+
ДДТ/ПД	4,4	440 ± 93,3	55	+			
Экстракт дыма	0,014	8 ± 1,4	1,0	–	34 ± 5,1	3,1	+
	0,14	34 ± 4,0	4,3	+	237 ± 18,4	21,5	+
	0,27	43 ± 6,9	5,4	+	274 ± 10,4	24,9	+
	1,35	93 ± 9,3	11,6	+	162 ± 6,2	14,7	+

Обозначения к табл. 3–7:

* – доза на чашку в пересчете на 1 литр выброса.

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

МА – мутагенная активность препарата.

«+» наличие, «–» отсутствие мутагенной активности.

M ± m – стандартная ошибка среднего

В выбросе установки ЭЧУТО при сжигании без пиролиза статистически значимый мутагенный эффект экстрактов дыма был обнаружен только от пищевых полипропиленовых стаканов и полистироловых флаконов для культивирования клеток. В обоих случаях эффект проявлялся при метаболической активации экстрактов, которые индуцировали как мутации типа сдвига рамки считывания, так и замены пар оснований. Эффект мутагенов прямого действия отсутствовал. Добавление в культуры сальмонеллы экстракта 0,47 л дыма, образовавшегося при сгорании пищевых стаканов из полипропилена, который в соответствии с табл. 1 должен содержать около 0,03 мкг БП и 0,007 мкг БФЛ, вызвало у штамма TA100 повышение количества ревертантов в 3,6 раза по сравнению с фоном и такое же при добавлении к штамму TA98 экстракта эквивалентного 1,18 л дыма (0,09 мкг БП и 0,021 мкг БФЛ). При этом в положительном контроле данного опыта чистый БП вызвал превышение фонового уровня мута-

ций на штамме TA100 в 21,6 раза при дозе на два порядка большей – 4,4 мкг на чашку (табл. 4).

На штамме TA98 (табл. 5) БП при дозе 10 мкг в положительном контроле повысил уровень мутирования в 6 раз – на величину того же порядка, что и экстракт, содержащий БП, согласно табл. 1, БП в дозе – 0,09 мкг БП и 0,021 мкг БФЛ.

Еще более выраженное несоответствие мутагенного эффекта экстрактов дыма в сравнении с содержанием в них БП выявилось при анализе образцов от сжигания без пиролиза культуральных флаконов. В этом эксперименте на штамме TA100 экстракт, содержащий 0,18 мкг БП и 0,04 мкг БФЛ, вызвал повышение уровня мутаций в 5 раз, а 4,4 мкг чистого БП – в 10,7 раза (табл. 6). В культуре TA98 эффект был аналогичным: 7-кратное повышение количества ревертантов от экстракта с 0,18 мкг БП и 0,04 мкг БФЛ и практически такое же – в 10,9 раза от 4,4 мкг чистого БП в положительном контроле (табл. 7).

Таблица 4

Мутагенное действие экстракта дыма от установки ЭЧУТО на индикаторный штамм бактерий ТА 100

Исследуемый объект	Доза	Штамм ТА 100					
		-S9			+ S9		
		M ± m	M _i /M ₀	МА	M ± m	M _i /M ₀	МА
литр/чашка*							
Наконечники для дозаторов, полистирол (без пиролиза)	0,005	33 ± 6,7	0,9	–	29 ± 6,2	0,7	–
	0,045	28 ± 6,2	0,8	–	35 ± 7,6	0,8	–
	0,45	42 ± 4,0	1,2	–	87 ± 3,8	2,0	–
Наконечники для дозаторов, полистирол (пиролиз)	0,07	26 ± 3,5	0,7	–	39 ± 4,2	0,9	–
	0,7	32 ± 3,1	0,9	–	31 ± 5,3	0,7	–
	7,0	27 ± 6,2	0,8	–	39 ± 12,7	0,9	–
Стаканы пищевые, полипропилен (без пиролиза)	0,005	25 ± 8,9	0,7	–	39 ± 3,5	0,9	–
	0,047	37 ± 1,8	1,0	–	39 ± 5,3	0,9	–
	0,47	54 ± 1,6	1,5	–	158 ± 20,2	3,6	+
Стаканы пищевые, полипропилен (пиролиз)	0,07	32 ± 2,2	0,9	–	39 ± 3,5	0,9	–
	0,7	37 ± 1,8	1,0	–	39 ± 5,3	0,9	–
	7,0	38 ± 5,5	1,1	–	46 ± 3,5	1,0	–
Контроль							
	мкг/чашка						
Контроль фона	0	36 ± 1,3	1,0		44 ± 3,1	1,0	–
БП	4,4				950 ± 150,0	21,6	+
ААФ	22				429 ± 121,8	9,8	+
Азид натрия	8,8	1300 ± 60,0	36,1	+			

Таблица 5

Мутагенное действие экстракта дыма от установки ЭЧУТО на индикаторный штамм бактерий ТА 98

Исследуемый объект	Доза	Штамм ТА 98					
		-S9			+ S9		
		M ± m	M _i /M ₀	МА	M ± m	M _i /M ₀	МА
литр/чашка*							
Наконечники для дозаторов, полистирол (без пиролиза)	0,011	38 ± 0,5	1,0	–	51 ± 1,0	1,3	–
	0,11	34 ± 6,9	0,9	–	46 ± 6,9	1,2	–
	1,13	43 ± 3,1	1,1	–	73 ± 6,7	1,8	–
Наконечники для дозаторов, полистирол (пиролиз)	0,16	32 ± 5,0	0,8	–	48 ± 14,0	1,2	–
	1,6	31 ± 6,0	0,8	–	62 ± 5,6	1,6	–
	16,0	36 ± 8,4	0,9	–	53 ± 12,9	1,3	–
Стаканы пищевые, полипропилен (без пиролиза)	0,012	29 ± 1,8	0,7	–	38 ± 6,7	1,0	–
	0,12	39 ± 4,4	1,0	–	56 ± 6,7	1,4	–
	1,18	73 ± 8,0	1,9	–	149 ± 5,3	3,7	+
Стаканы пищевые, полипропилен (пиролиз)	0,16	29 ± 1,8	0,7	–	38 ± 6,7	1,0	–
	1,6	39 ± 4,4	1,0	–	56 ± 6,7	1,4	–
	16,0	36 ± 4,4	0,9	–	38 ± 8,5	1,0	–
Контроль							
	мкг/чашка						
Контроль фона	0	39 ± 5,8	1,0	–	40 ± 2,2	1,0	–
БП	10,0				242 ± 31,5	6,1	+
ААФ	50,0				1080 ± 266,7	27,0	+
ДДТДП	20,0	1165 ± 112,0	29,9	+			

Таблица 6

Мутагенное действие экстракта выбросов на индикаторный штамм бактерий ТА 100 (сжигание без пиролиза)

Исследуемый объект	Доза	Штамм ТА 100					
		-S9			+ S9		
		M ± m	M _i /M _o	МА	M ± m	M _i /M _o	МА
мкг/чашка							
Контроль фона	0	49 ± 5,1	1,0	–	54 ± 4,5	1,0	–
БП	4,4				580 ± 40,0	10,7	+
ААФ	22				292 ± 38,7	5,4	+
Азид натрия	8,8	1183 ± 155,6	24,1	+			
	литр/чашка*						
Флаконы для культур, полистирол	0,01	37 ± 2,4	0,8	–	56 ± 10,9	1,0	–
	0,11	40 ± 1,1	0,8	–	103 ± 4,4	1,9	–
	1,10	103 ± 8,0	2,1	–	271 ± 14,2	5,0	+
Перчатки, латекс	0,01	33 ± 1,6	0,7	–	46 ± 3,3	0,9	–
	0,11	40 ± 5,8	0,8	–	48 ± 10,7	0,9	–
	1,10	43 ± 1,1	0,9	–	73 ± 5,1	1,4	–
Пробирки центрифужные	0,01	37 ± 3,1	0,8	–	49 ± 4,4	0,9	–
	0,11	41 ± 2,2	0,8	–	50 ± 5,3	0,9	–
	1,10	46 ± 8,0	0,9	–	92 ± 13,6	1,7	

Таблица 7

Мутагенное действие экстракта выбросов на индикаторный штамм бактерий ТА 98 (сжигание без пиролиза)

Исследуемый объект	Доза	Штамм ТА 98					
		-S9			+ S9		
		M ± m	M _i /M _o	МА	M ± m	M _i /M _o	МА
мкг/чашка							
Контроль	0	9 ± 2,0	1,0	–	13 ± 1,1	1,0	–
БП	4,4				142 ± 16,0	10,9	+
ААФ	22				310 ± 33,3	23,8	+
ДДТДП	8,8	415 ± 35,0	46,1	+			
	л/чашка*						
Флаконы для культур, полистирол	0,01	8 ± 0,7	0,9	–	14 ± 2,0	1,1	–
	0,11	14 ± 6,9	1,6	–	17 ± 1,1	1,3	–
	1,10	24 ± 7,6	2,7	–	91 ± 5,0	7,0	+
Перчатки, латекс	0,01	12 ± 1,8	1,3	–	20 ± 3,6	1,5	–
	0,11	13 ± 1,8	1,4	–	14 ± 0,4	1,1	–
	1,10	22 ± 3,1	2,4	–	17 ± 3,6	1,3	–
Пробирки центрифужные	0,01	9 ± 1,3	1,0	–	13 ± 1,8	1,0	–
	0,11	8 ± 1,6	0,9	–	15 ± 4,9	1,2	–
	1,10	14 ± 4,0	1,6	–	30 ± 6,7	2,3	–

Таким образом, полученные эффекты не могут быть отнесены за счет действия только сильных мутагенов БП и БФЛ, поскольку их суммарное содержание в мутагенных

дозах экстракта было на порядок ниже минимальной мутагенной дозы, которая при изолированном действии БП составляет 2 мкг на чашку. Очевидно, что полученный

эффект зависит от наличия в дыме помимо БП и ДБА других сильных мутагенов типа бензфенантронов, тетрафенов, бензпирен-хинонов, требующих других методов определения [4, 10]. Существенно, что если в процесс был включен пиролиз, то во всех случаях мутагенная активность отсутствовала, то есть при этом разрушаются и не определявшиеся нами мутагены. Таким образом, мутагенность дымового выброса в установке ЭЧУТО зависит от типа пластмассы и режима ее переработки. В целом низкое содержание одного или нескольких

избранных канцерогенов, определяемых в дыме, не может быть гарантией его мутагенной безопасности.

Нарушение клеточной кооперации экстрактами дымовых выбросов

Все экстракты дыма в исследованном диапазоне концентраций практически в равной степени препятствовали распространению в клетках флуоресцирующего красителя, т.е. разобщали их щелевые межклеточные контакты (табл. 8). Эффекты были дозозависимыми при разведениях $1 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-4}$.

Таблица 8

Разобщение клеток экстрактами дымовых выбросов

Исследуемый объект	Материал	Кратность разведения экстракта	Доля прокрашенных клеток (%)	
			без пиролиза	с пиролизом
Флаконы для культур	полистирол	$1 \cdot 10^{-3}$	63 ± 2	
		$1 \cdot 10^{-4}$	78 ± 2	
		$1 \cdot 10^{-5}$	83 ± 2	
Перчатки	латекс	$1 \cdot 10^{-2}$	64 ± 2	
		$1 \cdot 10^{-3}$	63 ± 3	
		$1 \cdot 10^{-4}$	84 ± 2	
Наконечники для дозаторов	полистирол	$1 \cdot 10^{-2}$	69 ± 2	74 ± 2
		$1 \cdot 10^{-3}$	61 ± 2	79 ± 2
		$1 \cdot 10^{-4}$	70 ± 2	83 ± 2
		$1 \cdot 10^{-5}$	79 ± 2	87 ± 2
Пищевые стаканы	полипропилен	$1 \cdot 10^{-2}$	67 ± 5	79 ± 2
		$1 \cdot 10^{-3}$	67 ± 3	70 ± 2
		$1 \cdot 10^{-4}$	82 ± 3	73 ± 6
		$1 \cdot 10^{-5}$	97 ± 3*	71 ± 2
Пробирки центрифужные	полистирол	$1 \cdot 10^{-3}$	65 ± 2	
		$1 \cdot 10^{-4}$	83 ± 2	
		$1 \cdot 10^{-5}$	84 ± 2	
Контроль				
Вода дистиллированная			100 ± 1	
Раствор ТРА** 5 нг/мл			8 ± 2	

Примечание. Во всех случаях, кроме *, доля прокрашенных клеток значимо отлична от контроля с H₂O (P < 0,01). ** (12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетат).

Наиболее вероятно, что этот эффект не связан с ПАУ, поскольку в результате пиролиза их содержание в выбросах на примере БП уменьшалось на несколько порядков, но при этом способность разобщать клетки практически не изменялась. Относительно их природы можно сказать только, что они обладают термостойкостью.

Данный фрагмент исследования впервые показал, что при термическом разложении пластмасс образуются соединения, обладающие способностью ингибировать клеточную кооперацию и по этому свойству могущие быть промоторами канцерогенеза, как это было показано относительно других соединений [9, 15].

Индукция опухолей у дрозофилы экстрактами дымовых выбросов

Результаты экспериментов показали, что канцерогены, к которым чувствительна дрозофила – канцерогенные металлы, N-нитрозосоединения и некоторые другие агенты [14] не образуются при сгорании пластмассовых изделий медико-биологического назначения и что концентрация канцерогенных ПАУ находится ниже уровня, способного вызывать у них опухоли (табл. 9). Канцерогенные ПАУ вызывают опухоли у личинок дрозофилы только в относительно высоких концентрациях, поскольку, как показали наши исследования, ферменты системы цитохрома P450 в их клетках менее активны, чем у млекопитающих

Таблица 9

Индукция опухолей у дрозофилы экстрактами дымовых выбросов

Исследуемый объект	Материал	Посмотрено особей	Количество опухолей	% опухолей
Флаконы для культур	Полистирол	405	12	2,96
Перчатки	Латекс	708	16	2,26
Наконечники для дозаторов (без пиролиза)	Полистирол	358	9	2,51
Наконечники для дозаторов (пиролиз)	Полистирол	268	6	2,23
Пищевые стаканы (без пиролиза)	Полипропилен	328	11	3,3
Пищевые стаканы (пиролиз)	Полипропилен	550	18	3,27
Пробирки центрифужные	Полистирол	485	11	2,27
Контроль				
Оксплатин, 3мМ в 10% водном растворе ДМСО		564	128	22,7*
10% ДМСО в дистиллированной воде		1289	30	2,3

Примечания: N – количество особей; ОК – количество опухолевых клонов; * – частота статистически значимо отлична от контроля, $P < 0,01$.

Заключение

При неорганизованном сжигании твердых отходов в печи открытого типа с дымом выбрасывается большое количество канцерогенных ПАУ прямого и непрямого действия. Дымовой выброс специализированной установки ЭЧУТО 150-03 от сжигания пластмассовых отходов биомедицинского назначения в беспирилизном режиме содержит в несколько раз меньше этих соединений, причем только с непрямым механизмом действия. Пиролиз уменьшает содержание канцерогенов в дыме на один-два порядка и приближает его к ПДК в воздухе рабочей зоны. Низкое содержание в выбросе одного или двух индикаторных канцерогенов не может служить показателем его мутагенной и канцерогенной безопасности, поскольку значительное количество реверсий штаммов сальмонеллы в тесте Эймса было получено при содержании бенз(а)пирена и бензфлуорантенов в экстрактах дыма в количестве на порядок ниже минимально мутагенного. Различные типы полистирола и полипропилена дают при горении дым с различным содержанием ПАУ. Экстракт этого дыма содержит соединения, разобщающие клеточные контакты, причем пиролиз не снижает их содержание. Разобщающий эффект экстракта не коррелирует ни с их мутагенностью, ни с содержанием в них ПАУ, т.е., по-видимому, связан с неизвестными пока термостабильными соединениями. Корпускулярная фаза дыма от сжигания пластмасс на установке ЭЧУТО не содержит соединений, которые в полученных концентрациях увеличивали бы частоту образования опухолей у гете-

розиготных личинок дрозофилы, высоко чувствительных к действию многих канцерогенов млекопитающих, за исключением ПАУ. Относительно установки ЭЧУТО 150-03 можно заключить, что она эффективно перерабатывает пластмассовые изделия медицинского назначения при минимальном загрязнении воздушного бассейна мутагенными и канцерогенными выбросами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 13-0401308 А.

Список литературы

1. Аветов Г.А., Аствацатуров, Двоскин Г.И. Процесс пиролиза как основа технологии экологически чистого уничтожения твердых органоспецифических отходов строительного производства // Научно-технический и производственный журнал нефтегазового строительства. – 2013. – № 2. – С. 47–49
2. Белицкий Г.А., Фонштейн Л.М., Худолей В.В. Совол как индуктор микросомальных ферментов, активирующих проканцерогены // Экспериментальная онкология. – 1987. – Т.9, № 3. – С. 20–23.
3. Молчанова И.В., Константинова Т.М., Двоскин Г.И. Применение установок «ЭЧУТО-150» для решения задач по обезвреживанию, обеззараживанию, переработке и утилизации медицинских отходов // Медицинские отходы: проблемы и пути решения. Сб. матер. III Всероссийской научной конф. с международным участием. (Москва, 26–30 мая 2014 г.). – М., 2005. – С. 46–48.
4. Ровинский Ф.Я., Теплицкая Т.А., Алексеева Т.А. Фоновый мониторинг полициклических ароматических углеводородов. – Л.: Гидрометеоздат, 1988. – 224 с.
5. Руководство по контролю загрязнения атмосферы: РД 52.04. – М., 1991. – С. 186–189.
6. Хесина А.Я., Левинский С.С., Кривошеева Л.В., Хитрово И.А. // Патент РФ № 2122199, 20.11.1998
7. Шафран Л.М., Басалаева Л.В., Копа М.Р. Сравнительные санитарно-гигиенические исследования газообразных продуктов термоокислительной деструкции и пиролиза полимерных материалов // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2009. – № 4(18). – С. 124–131

8. Ayollo DV, Zhitnyak IY, Vasiliev JM, Gloushankova NA. Rearrangements of the actin cytoskeleton and E-cadherin-based adherens junctions caused by neoplastic transformation change cell-cell interactions // *PLoS One*. – 2009. – № 4(11). – 8027 p.

9. Budunova IV, Mittelman LA, Belitsky GA. The effect of complete carcinogens on intercellular transfer of lucifer yellow in fibroblast culture // *Cell Biol Toxicol*. – 1990. – № 6(1). – P. 47–61.

10. DeMarini DM, Shelton ML, Bell DA. Mutation spectra of chemical fractions of a complex mixture: role of nitroarenes in the mutagenic specificity of municipal waste incinerator emissions // *Mutat Res*. – 1996. – № 17; 349(1). – P. 1–20.

11. 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.

12. Kiran Ciliz N1, Ekinci E, Snape CE. Pyrolysis of virgin and waste polypropylene and its mixtures with waste polyethylene and polystyrene // *Waste Manag*. – 2004. – № 24(2). – P. 173–181

13. Maron D.M., Ames B.N. Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test // *Mutat Res*. – 1983. – № 113(3–4). – P. 173–215.

14. Sidorov RA1, Ugnivenko EG, Khovanova EM, Belitsky GA. *Mutat Res*. – 2001. – № 15, 498 (1–2). – P. 181–91.

15. Yamasaki H, Naus CC. Role of connexin genes in growth control // *Carcinogenesis*. – 1996. – № 17(6). – P. 1199–1213.

4. Rovinskij F.Ja., Teplickaja T.A., Alekseeva T.A. *Fonovyy monitoring policiklicheskih aromatischeskih uglevododov*. Leningrad, Gidrometeoizdat 1988 pp. 224.

5. *Rukovodstvopokontroljuzagrjaznenijaatmosfery*. Moscow, 1991, RD 52.04. pp. 186–189.

6. Hesina A.Ja., Levinskij S.S., Krivosheeva L.V., Hitrovo I.A. *Patent* RF no. 2122199, Moskva, 20.11.1998.

7. Shafran L.M, Basalaeva L.V., Kopa M.R. *Aktual'nye problemy transportnoj mediciny*, 2009, no 4(18) pp. 124–131

8. Ayollo D.V., Zhitnyak I.Y., Vasiliev J.M., Gloushankova N.A. *PLoS One*, 2009, no.4(11), pp. 8027.

9. Budunova I.V., Mittelman L.A., Belitsky G.A. *Cell Biol Toxicol* 1990 Jan;6(1):47–61

10. DeMarini D.M., Shelton M.L., Bell D.A. *Mutat Res*. 1996. no. 17; 349(1), pp. 1–20.

11. 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.

12. Kiran Ciliz N1, Ekinci E, Snape CE. *Waste Manag*. 2004, no. 24(2), pp. 173–81.

13. Maron D.M., Ames B.N. *Mutat Res*. 1983, no. 113 (3–4), pp. 173–215.

14. Sidorov R.A., Ugnivenko E.G., Khovanova E.M., Belitsky G.A. *Mutat Res*. 2001, no.15; 498(1–2), pp. 181–191.

15. Yamasaki H., Naus C.C. *Carcinogenesis*. 1996, no.17(6), pp.1199–1213.

References

1. Avetov G.A., Astvacaturov, Dvoskin G.I. *Nauchnotekhnicheskij i proizvodstvennyj zhurnal neftegazovogo stroitel'stva*. 2013, no. 2, pp. 47–49.

2. Belitsky G.A., Fonshtejn L.M., Hudolej V.V. *Jeksperimental'naja onkologija*, 1987, t.9, no. 3, pp. 20–24.

3. Molchanova I.V., Konstantinova T.M., Dvoskin G.I. *Medicinskie othody problemy i putireshenija: Sbornik materialov III Vserossijskoj nauchnoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem*. Moscow, 2005, pp. 46–48.

Рецензенты:

Ильницкий А.П., д.м.н., ведущий научный сотрудник, НИИ института канцерогенеза ФГБНУ «Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина», г. Москва;

Соленова Л.Г., д.б.н., ведущий научный сотрудник, НИИ института канцерогенеза ФГБНУ «Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина», г. Москва.

Работа поступила в редакцию 19.12.2014.