

УДК 616-006-092

Л.Н.Пылев<sup>1</sup>, Л.А.Васильева<sup>1</sup>, О.В.Смирнова<sup>1</sup>, А.И.Везенцев<sup>2</sup>, Е.А.Гудкова<sup>2</sup>

## АКТИВНЫЕ РАДИКАЛЫ КИСЛОРОДА И ВОЛОКНИСТЫЙ (АСБЕСТОВЫЙ) КАНЦЕРОГЕНЕЗ

<sup>1</sup>ГУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва<sup>2</sup>Белгородский государственный университет

Обсуждается роль продуцируемых макрофагами АКР (активные кислородные радикалы) в волокнистом (асбестовом) канцерогенезе. По гипотезе авторов АКР могут играть как положительную, так и отрицательную роль. Они могут убивать трансформированные клетки мезотелия и злокачественные мезотелиомные клетки (положительная роль), а также трансформировать мезотелиомные клетки (отрицательная роль).

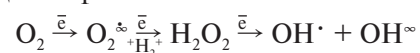
**Ключевые слова:** радикалы кислорода, мезотелий клетки, опухоль, асбест, волокна.

Проблема неблагоприятного действия асбеста на человека (прежде всего канцерогенного) и борьба против его использования в последние годы существенно обострилась и все больше приобретает политический характер. Поскольку добыча и применение амфиболовых асбестов уже давно запрещена практически во всех странах, речь идет исключительно о хризотиле. Между тем, если проанализировать результаты эпидемиологических исследований приходится констатировать, что достоверных убедительных данных, что именно хризотил представляет онкологическую опасность для населения нет [15]. Выявленное в некоторых из них увеличение риска может быть в ряде случаев связано с загрязнением хризотила амфиболами, например, тремолитом. Хотя содержание их обычно невелико, не учитывать этого, очевидно, нельзя. Это не означает, что хризотил и сам по себе не обладает определенными канцерогенными свойствами. Это многократно доказано, в частности, в экспериментах. Имеющий ряд особенностей волокнистый канцерогенез подчиняется общему для всех видов канцерогенеза биологическому закону «доза – время – эффект» [7]. Уменьшая действующую дозу и время экспозиции можно уменьшать «эффект», снижая риск возникновения опухоли или вывода его, как неоднократно говорил Л.М.Шабад, за пределы средней продолжительности жизни человека. Совершенно очевидно, что отсутствие убедительных эпидемиологических данных об опасности хризотила для населения (непрофессиональная экспозиция) объясняется еще и низкими уровнями его воздействия. Упомянутый биологический «закон» позволяет говорить не о запрещении хризотила, а о контролируемом его использовании.

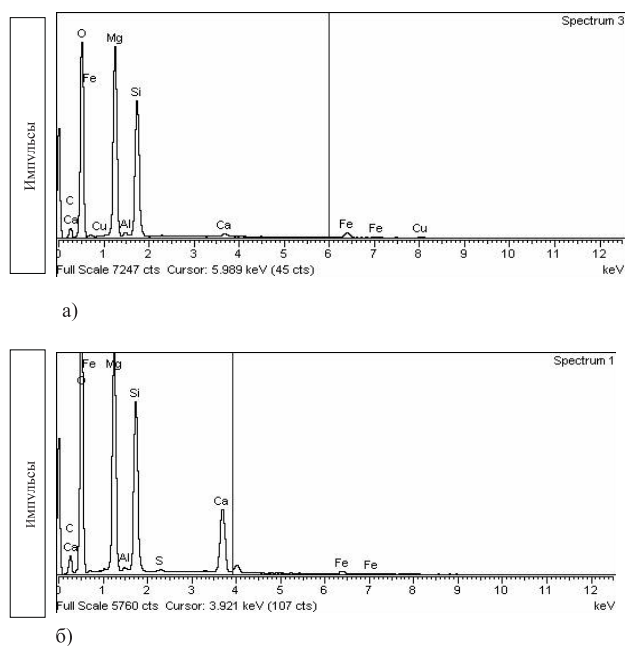
В асбестосодержащих изделиях, прежде всего асбестоцементных (асбестоцементная промышленность использует до 90% добываемого хризотила)

хризотилевое волокна, подвергаясь кальцинизации, по нашей гипотезе [1] превращаются в новый «минерал» с новыми биологическими свойствами. Мутагенная активность в отличие от хризотила у таких волокон отсутствует [8], а канцерогенность снижена. Процесс замещения в кристаллической решетке хризотилового волокна Mg на Ca очевидно растянут во времени, затрагивая вначале «наружные» слои (рис. 1). Можно гипотетически предположить, что при эксплуатации асбестоцементных изделий под действием различных природных факторов кальцинизация будет продолжаться и «углубляться». Асбестоцементные волокна, возможно, будут становиться более биоинертными, т. е. менее опасными для человека. Сказанное полностью укладывается в существующую в отечественной и зарубежной литературе [4, 11] гипотезу о важной роли свойств поверхности минеральных волокон в их биологической активности.

В реализации канцерогенного потенциала волокна важную роль отводят активным кислородным радикалам (АКР), обладающим, как известно, токсическим, мутагенным и трансформирующим воздействием на клетку, в частности, вызывая в ней повреждение ДНК [2, 11, 12]. К активным радикалам относятся высоко реактивные молекулы или их фрагменты, имеющие на внешней орбитали один или несколько неспаренных электронов. Они могут нести положительный и отрицательный заряды, либо быть нейтральными. Процессы, приводящие к образованию активных радикалов кислорода в биологических субстратах, могут быть записаны следующим образом:



При этом образуются АКР – супероксид анион  $O_2^{\cdot -}$  и гидроксил радикал –  $OH^{\cdot}$ .



**Рис. 1. Энергодисперсионный спектр волокон хризотил-асбеста**

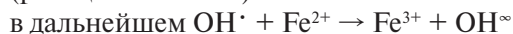
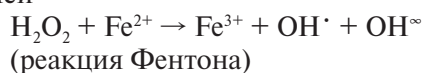
а) товарного

б) из асбестоцементной пыли

Содержание оксида кальция в товарном хризотил-асбесте составляет 0,8–0,9 мас.%, а в волокнах из асбестоцементной пыли достигает 10–15 мас.%

Катализатором процессов является  $\text{Fe}^{2+}$ , образующийся из  $\text{Fe}^{3+}$  при участии супероксид аниона  $\text{Fe}^{3+} \xrightarrow{\text{O}_2^{\cdot -}} \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2$ .

Образование  $\text{OH}^{\cdot}$  идет также из гидроперекиси



Таким образом, в организме постоянно имеет место своеобразный «круговорот» образования и разрушения АКР. Жизненный их цикл составляет наносекунды (для  $\text{OH}^{\cdot}$  около 100 нсек), т. е. они, вероятно, могут воздействовать только на близлежащие клетки-мишени.

На волокне синтез АКР проходит на положительно и отрицательно электрически заряженных активных центрах, количество и сила которых, в зависимости от свойств поверхности может изменяться [4, 8]. Воздействие на поверхность волокна меняет также взаимодействие его с макрофагами (через рецепторы, интегрины, белки), клетками «первого уровня» защиты организма от ксенобиотиков и, вероятно, с нейтрофилами. При таком взаимодействии происходит активация этих клеток и, в частности, увеличение ими синтеза АКР. Следует отметить, что нейтрофилы более активны в этом отношении [3]. «Кальцинизация» волокна хризотила даже, вероятно, как в нашем образце [8], только поверхностных его

слоев, при контакте с макрофагами ведет к снижению их активности, т. е. способности синтезировать АКР по сравнению с чистым асбестом (рис. 2), естественно, при этом уменьшается и токсический эффект на клетки. Эти результаты сопоставимы, поскольку дисперсность и содержание волокон в образцах обычного и «кальцинизированного» хризотила примерно одинаковы [8]. Пыль цементного камня (не содержащая волокон), волокна из образца шифера, подвергнувшегося многократному замораживанию и оттаиванию (1,2% волокон), вызывали существенно меньшую хемилюминесценцию. Однако асбестоцементная пыль, содержащая примерно 3–5% волокон, обладала такой же активностью, что и нативный асбест (рис. 2). Отобранная при распиловке «свежего» шифера эта пыль обладает существенно большей чем у хризотила удельной поверхностью (соответственно 165,6 и 49 м<sup>2</sup>/г). Поскольку содержание в ней волокон мало, ответственны за это, очевидно, частицы цемента; удельная поверхность пыли измельченного цементного камня составляет 496 м<sup>2</sup>/г. Функции кислотности и суммарное количество активных центров на поверхности также различны (табл.).

Между кислотностью активного центра и энергетическим уровнем состояния поверхности существуют корреляционные связи. Кислотная сила в определенной степени является выражением сродства к электрону. Меньшие значения кислотности соответствуют большей кислотной силе, сродству к электрону и следовательно большей окислительной способности активных центров поверхности. По нашей гипотезе [8], чем выше последняя, тем, возможно, больше биологическая активность субстрата. В то же время значения функций кислотности, кислотной силы и окислительной способности активного центра не самостоятельные показатели. Необходимым является еще и оценка количества активных центров, что приведено на рис. 3. Оказалось, что при большой кислотной силе, т. е. сродству к электрону и высокой окислительной способности частиц цементного камня, количество активных центров на их поверхности очень мало (табл., рис. 3), а способность к синтезу АКР и токсическое действие на макрофаги низкие (рис. 2). В эксперименте с асбестоцементной пылью мы имеем противоположную картину: низкую кислотную силу, низкую окислительную способность активного центра, но большое их число, а в результате высокую токсичность и способность активировать макрофаги синтезировать АКР. Сопоставление с данными по хризотилу (табл., рис. 2 и 3) полностью подтверждают сказанное. Таким образом, полученные данные (рис. 2) вписываются в нашу ги-

Функция кислотности и количество активных центров поверхности изучаемых образцов

Образец	Функция кислотности, $H_0$ (безразмерная величина)	Количество активных центров $q_{pKa}$ , мг-экв/г
Хризотил-асбест	6,52	39,38
Продукты морозной деструкции	6,37	28,84
Пыль от распиловки а/ц изделий	9,16	58,43
Цементный камень	5,81	14,81
Волокна из асбестоцемента	6,17	32,69

потезу [8], но можно ли по этим показателям судить о канцерогенности. Хорошо известно [2], что способностью активировать макрофаги синтезировать АКР обладают также различные неволокнистые пыли, кремнезема, цеолитов и др., причем она в ряде случаев даже больше чем у пыли асбеста. Однако они не обладают канцерогенностью ни в опытах на животных, ни по данным эпидемиологических исследований. Асбестовый канцерогенез – это волокнистый канцерогенез. «Единицей» действия является волокно с присущими ему физико-химическими особенностями. Даже аналогичная по химическому составу хризотилу, но не волокнистая пыль змеевика не обладает канцерогенными свойствами [6].

Выявленные различия спектров хемилюминесценции (рис. 2), вызываемой обычным и «кальцинированным» хризотилом, представляют существенный интерес. С одной стороны, они показывают, что активация макрофагов и количество воздействующих на клетку-мишень (эпителий легких, мезотелий) АКР в единицу времени меньше при асбестоцементном волокне, чем «чистом» асбесте. С другой, поскольку очевидно, токсическое действие на макрофаги первого меньше, воздействие АКР растянуто во времени и суммарное их количество может быть

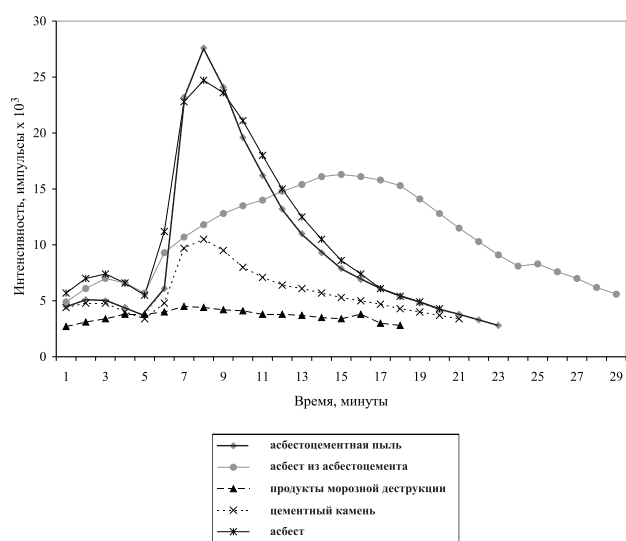


Рис. 2. Хемилюминесценция макрофагов

даже большим, чем при воздействии необработанного хризотила.

Каким образом это может отразиться на канцерогенном эффекте? Наши эксперименты на животных [10] показали, что растянутое во времени введение животным нативного асбеста малыми дозами ведет к усилению канцерогенеза. В этом случае речь идет о кратковременном повторном «сильном» воздействии на клетки-мишени и на сами макрофаги, что предполагает, однако, также и уменьшение числа последних. В опытах на культурах клеток [5, 13] макрофаги оказывали выраженный токсический эффект на клетки мезотелиом и трансформированные клетки мезотелия, но не на «нормальные» мезотелиальные клетки. Макрофаги замедляли также спонтанную трансформацию клеток мезотелия и «предотвращали» вызываемую асбестом [14]. В процессе асбестового (волокнистого) канцерогенеза, вероятно, происходит, с одной стороны, трансформация клеток-мишеней под действием, в частности, и АКР, а с другой, преимущественная гибель трансформированных клеток под действием тех же и, возможно, других факторов.

Все эти данные позволяют высказать гипотезу о «плюрипотентной» роли (функции) мак-

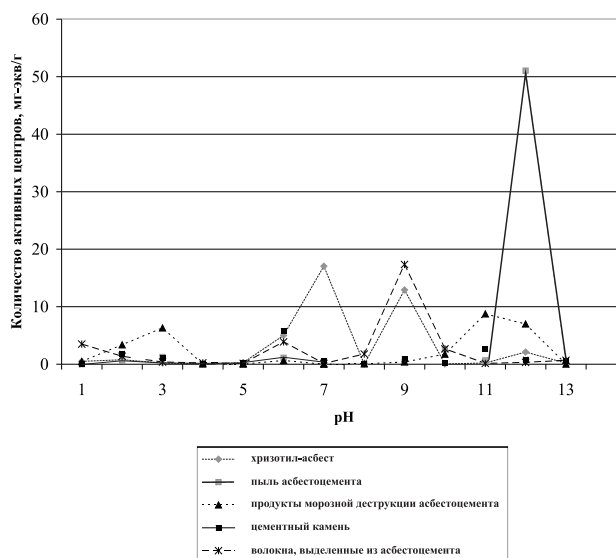


Рис. 3. Распределение активных центров на поверхности различных хризотил-содержащих материалов

рофагов в процессе асбестового (волоконистого) канцерогенеза, не считая элиминации волокон из организма. Генерируя, в частности, АКР они, с одной стороны, участвуют в трансформации клеток-мишеней (усиление канцерогенеза), а с другой, способствуют гибели т. е. «элиминации» трансформированных и злокачественных клеток (торможение канцерогенеза), причем как показано [13] последнее имеет дозозависимый эффект. Какой из этих процессов превалирует, первый – отрицательный или второй – положительный, вероятно, зависит от многих условий (на уровне организма, органа, клетки), которые нуждаются в дальнейшем изучении.

Подтверждением возможного «положительного эффекта» являются, в частности, результаты наших экспериментов на животных. Введение в систему асбестового канцерогенеза факторов, способствующих хемотаксису макрофагов, вызывало резкое его торможение или существенное ослабление [9]. Систематическое введение в брюшную полость крыс пептона вело к двукратному уменьшению у них числа вызванных асбестом мезотелиом брюшины. Оказалось, и это также укладывается в нашу гипотезу, что эффект не зависел от времени начала инъекций пептона (в течение всего эксперимента или через год после его начала). Вероятно, речь идет как о ранних, так и о поздних стадиях возникновения и развития опухолей.

Асбест усиливает синтез АКР и клетками мезотелия [5]. Показано и повреждающее их действие на ДНК и нарушение некоторых внутриклеточных сигнальных путей [12]. Синтез АКР клетками-мишенями, по нашему мнению, может иметь существенно большее количественное и качественное значение для опухолевой их трансформации при асбестовом канцерогенезе, чем «стороннее» воздействие «макрофагальных» АКР. Можно предположить, что макрофаги при асбестовом канцерогенезе больше играют роль «ликвидаторов», чем «индукторов».

Использование клеток мезотелия для изучения способности волокнистых пылей индуцировать синтез АКР более правомерно с позиций оценки их канцерогенного потенциала, чем опыты с макрофагами.

**Заключение.** Полученные данные и высказанные на их основе, но требующие дальнейшего подтверждения гипотезы, помимо теоретического интереса, имеют достаточно большую практическую важность. Они могут оказать позитивное влияние на существующую в мире напряженность в отношении асбеста вообще и

снизить (если не снять вовсе) негативное отношение к асбестоцементной промышленности и ее продуктам, как представляющим «онкоопасность». Эти результаты позволяют также рассматривать возможности уменьшения биоагрессивности самого асбеста и опасности с ним контакта, хотя бы вначале с чисто теоретических и пилотных позиций.

#### Список литературы

1. Везенцев А.И., Гудкова Е.А., Пылёв Л.Н. и др. К вопросу об изменениях поверхностных и биологических свойств хризотила в асбестоцементе // *Строительные материалы*, 2008. – № 9. – С. 26-27.
2. Дурнев А.Д., Сулова Т.Б., Черемисина З.П. и др. Исследование мутагенного действия пыли природных цеолитов и хризотил-асбеста // *Экспер. онкология*, 1990. – Т. 12. – № 2. – С. 21-24.
3. Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Розин А.Н. и др. Действие грибов *Lentinus edodes* (Шиитаке) на рост подкожной перевитой аденокарциномы Эрлиха у мышей // *Росс. биотерапевтический ж.*, 2006. – Т. 5. – № 1. – С. 98-104.
4. Пылёв Л.Н., Васильева Л.А., Кринари Г.А. и др. Электрические свойства поверхности волокон и токсичность асбеста // *Гигиена и санитария*, 2002. – № 3. – С. 61-64.
5. Пылёв Л.Н., Васильева Л.А., Стадникова Н.М. и др. Макрофаги в асбестовом канцерогенезе // *Вопросы онкологии*, 2004. – Т. 50. – № 6. – С. 678-681.
6. Пылёв Л.Н., Кулагина Т.Ф. Морфологическая оценка опухолей плевры, вызванных у крыс Джэтыгаринским хризотил-асбестом и лизардитом // *Гигиена труда и профзабол.*, 1985. – № 3. – С. 27-29.
7. Пылёв Л.Н., Курляндский Б.А., Невзорова Н.И. и др. О возможности использования зависимости доза–время–эффект для прогнозирования ПДК канцерогенного аэрозоля (на примере асбеста) // *Гигиена труда и профзабол.*, 1990. – № 2. – С. 35-39.
8. Пылёв Л.Н., Смирнова О.В., Васильева Л.А. и др. Влияние модификации поверхности волокон хризотила на его биологическую активность // *Гигиена и санитария*, 2007. – № 2. – С. 77-80.
9. Пылёв Л.Н., Смирнова О.В., Васильева Л.А. Введение пептона тормозит асбестовый канцерогенез в брюшной полости крыс // *Гигиена и санитария*, 2009. – № 1.
10. Пылёв Л.Н., Стадникова Н.М., Клеймёнова Е.В. и др. Интермиттирующее действие асбестовой пыли и плевральный канцерогенез у крыс // *Гигиена и санитария*, 1994. – № 7. – С. 30-32.

11. Kane A.B., Boffetta P., Saracci R., Wilbourn J.D. (Eds.) *Mechanisms of fibre carcinogenesis* // International Agency for Research on Cancer Sci. Publ. – Lyon, 1996. – № 140.

12. Kopyn P.B., Kravchenko I.V., Furalyov V.A. *et al.* Cell type-specific effect of asbestos on intracellular ROS levels, DNA oxidation and G1 cell checkpoints // *Oncogene*, 2004. – V. 23. – P. 8834-8840.

13. Kravchenko I.V., Furalyov V.A., Vasilyeva L.A. *et al.* Inhibition of asbestos-induced transformation of rat mesothelial cells in co-culture with rat macrophag-

es // *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*, 2001. – V. 21. – P. 315-323.

14. Kravchenko I.V., Furalyov V.A., Pylev L.N. Factors secreted by peritoneal macrophages are cytotoxic for transformed rats pleural mesothelium and mesothelioma cells // *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*, 2003. – V. 1. – P. 207-214.

15. Yarborough C.M. Chrysotile as a cause of mesothelioma: an assessment based on epidemiology // *Critical Reviews in Toxicology*, 2006. – V. 36. – P. 165-187.

Материал поступил в редакцию 15.05.08.

L.N.Pylyov<sup>1</sup>, L.A.Vasilyeva<sup>1</sup>, O.V.Smirnova<sup>1</sup>, A.I.Vezentsev<sup>2</sup>, Ye.A.Gudkova<sup>2</sup>

## REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS) AND FIBER (ASBESTOS) CARCINOGENESIS

<sup>1</sup>N.N. Blokhin Russian Oncology Scientific Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

<sup>2</sup>Belgorod State University

The role of macrophages-induced ROS in fiber asbestos carcinogenesis is discussed. According to authors' hypothesis, ROS could play both positive and negative roles in it. They may kill transformed and malignant mesothelial cells (positive role) and may transform mesothelial cells as well (negative role).