

УДК 541.64:541.69  
© Коллектив авторов

## КРАТКОСРОЧНЫЙ ТЕСТ НА ПОТЕНЦИАЛЬНУЮ КАНЦЕРОГЕННОСТЬ ВОДОРАСТВОРИМЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРОВ

*А.Т. Белохвостова<sup>1</sup>, Л.С. Потапенкова<sup>1</sup>, Е.Ф. Панарин<sup>2</sup>, М.В. Соловский<sup>2</sup>,  
Н.П. Иванова<sup>2</sup>, О.В. Назарова<sup>2</sup>, И.И. Гаврилова<sup>2</sup>, А.Ю. Ершов<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт онкологии им. проф. Н.Н. Петрова  
Росздрава, Санкт-Петербург, 197758, Песочный, Ленинградская ул., 68;  
тел.: (812)596-85-38; факс: (812)596-89-47; эл. почта: hanson@rion.spb.ru

<sup>2</sup>Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург.

Исследовали влияние синтетических водорастворимых полимеров различного химического строения на появление в организме мышей линии СЗНА канцероген-белковых аддуктов (КБА), содержащих эндогенный канцероген – 3 – оксиантраниловую кислоту (3-ОАК). КБА, содержащие 3-ОАК (3-ОАК-КБА), были обнаружены при введении 24 из 30 исследованных полимеров. Индукция образования 3-ОАК-КБА и характер их распределения в организме (во всех исследованных тканях: сыворотке, экстрактах тканей печени, селезенки, легких и почек, или в отдельных тканях) зависит от химического строения полимеров. Делается вывод о потенциальной канцерогенной опасности синтетических полимеров, введение которых вызывает образование в организме животных 3-ОАК-КБА.

**Ключевые слова:** канцероген-белковые аддукты, 3-оксиантраниловая кислота, синтетический полимер, онкологический риск, сыворотка крови, экстракты тканей.

**ВВЕДЕНИЕ.** Экспериментальные исследования, выполненные в ГУН НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова под руководством профессора Т.А. Коростелевой, показали появление в организме животных на стадии инициации химического канцерогенеза под влиянием бензидина канцероген-белковых аддуктов (КБА), содержащих эндогенный канцероген (продукт метаболизма триптофана) – 3-оксиантраниловую кислоту (3-ОАК). КБА, содержащие этот канцероген (3-ОАК-КБА), были в дальнейшем обнаружены в сыворотке крови больных с опухолями различных локализаций, а также в сыворотке крови рабочих текстильной и резиновой промышленности, контактирующих с канцерогенными веществами различной химической структуры [1-3]. Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что обнаружение в организме людей КБА, содержащих 3-ОАК, может служить фактором онкологического риска, а также фактором воздействия ранее неизвестных канцерогенных веществ.

Цель нашей работы – исследовать влияние водорастворимых синтетических полимеров различной химической структуры на образование 3-ОАК-КБА. Эти исследования представляются актуальными в связи с растущим интересом к производству полимеров медицинского назначения. Данный вид

## ТЕСТ НА ПОТЕНЦИАЛЬНУЮ КАНЦЕРОГЕННОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПОЛИМЕРОВ

высокомолекулярных соединений является основой конструктивных, а также обладающих специфической биоактивностью материалов, в числе которых - полимерные формы лекарств, иммобилизованные ферменты и антибиотики, заменители плазмы крови [4]. Исследования потенциального онкологического риска водорастворимых синтетических полимеров приобретают важное значение на фоне особых требований, предъявляемых фармацевтической промышленностью и медициной к комплексу свойств полимеров, которые могут быть использованы в качестве исходного сырья для изготовления специальных препаратов медицинского назначения [4]. На первом месте одним из важнейших качественных показателей при использовании полимеров должна быть минимальная токсичность в отношении живых организмов.

**МЕТОДИКА.** В работе использованы три образца поливинилпирролидона (поли-ВП) 1–3; сополимеры ВП с виниламином 4, 5; сополимеры ВП с N-гидроксисукцинимидным эфиром акриловой кислоты 6, 7; сополимер ВП с N-гидроксифталиимидным эфиром акриловой кислоты 8; сополимер ВП с N-гидроксисукцинимидным эфиром кротоновой кислоты 9; сополимер ВП с диэтилацеталем акролеина 10; сополимеры ВП с аллиловым спиртом 11,12; сополимер ВП с кротоновой кислотой 13; сополимеры ВП с йодэтилатом N,N-диэтиламиноэтилметакрилата 14, 15; сополимер ВП с 2-гидроксиэтилметакрилатом 16; полиакриловая кислота 17; йодэтилат полиэтиламиноэтилметакрилата 18; йодметилат поли-2-винилпиридина 19; полиакриламид 20; поливиниловый спирт 21; поливиниламидоантарная кислота 22; декстран 23; поливинилформамид 24; полиметакрилоиламидоглюкоза 25; полиметакрилоилглюкоза 26; полиэтиленгликоль 27; поли-N-(2-гидроксипропил) метакриламид (поли-ГПМА) 28; сополимер ГПМА с акриловой кислотой 29; поливинилацетамид 30 (рис. 1).

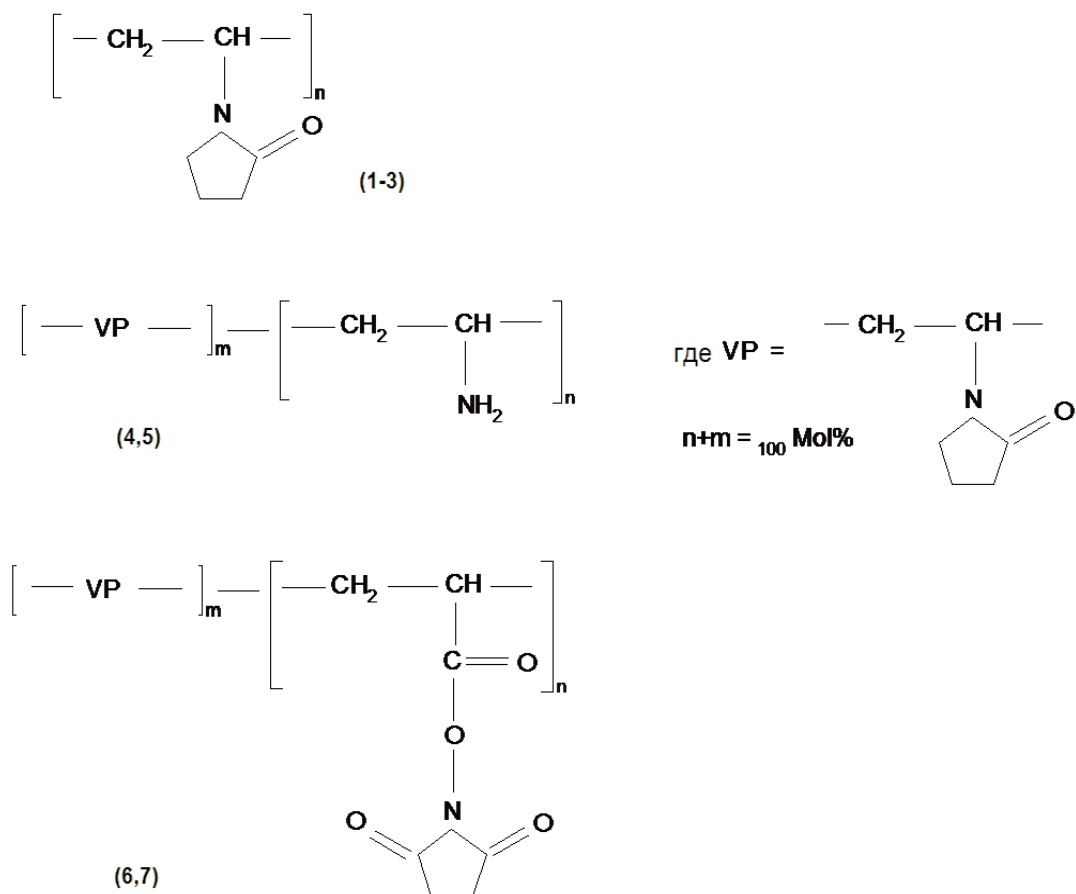


Рисунок 1 .

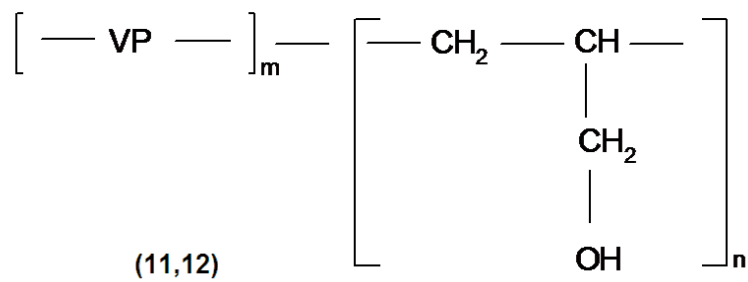
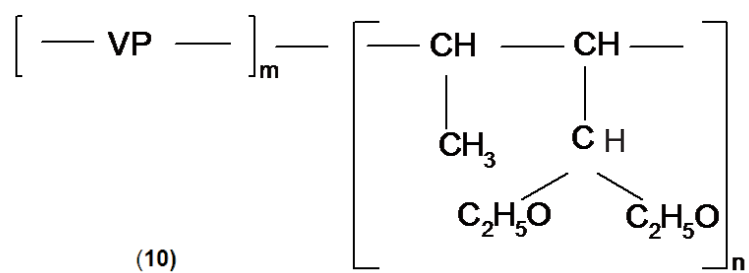
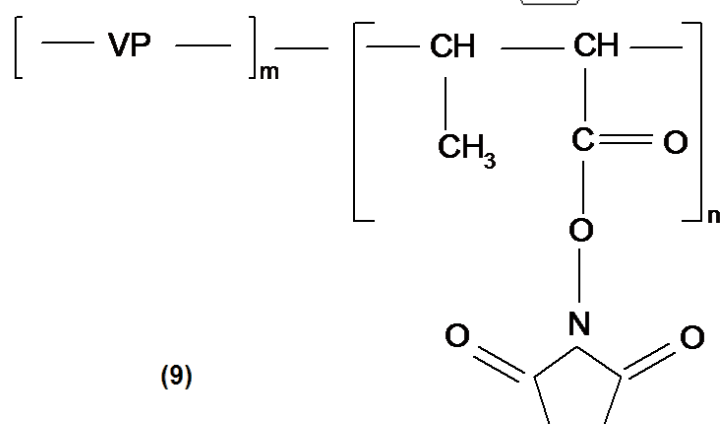
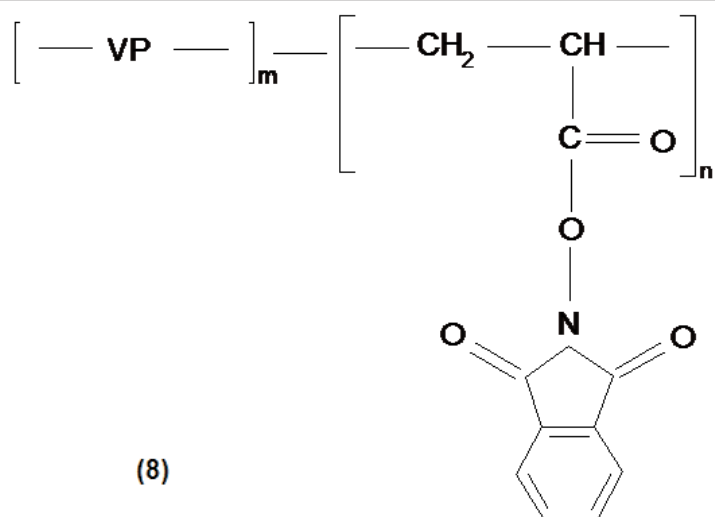
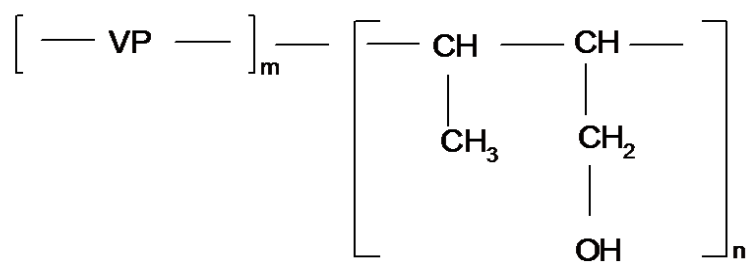
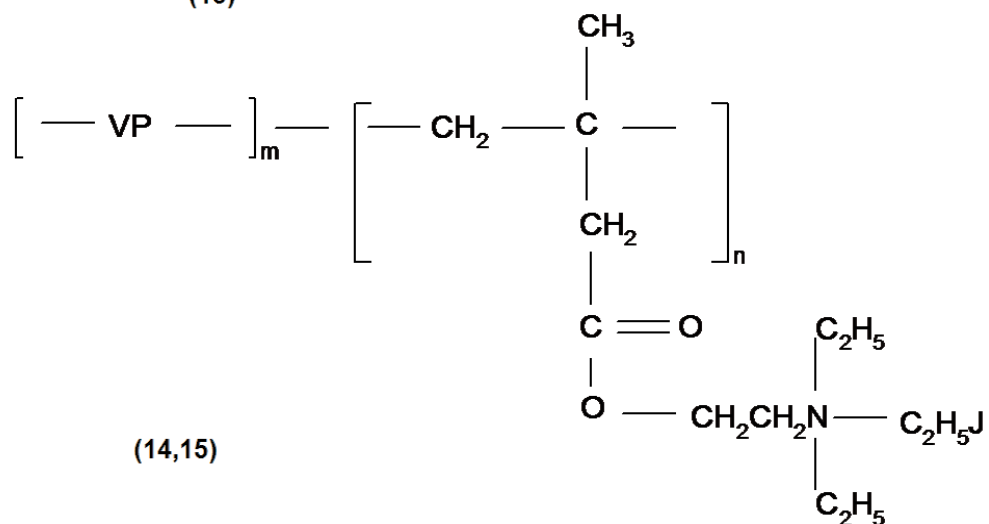


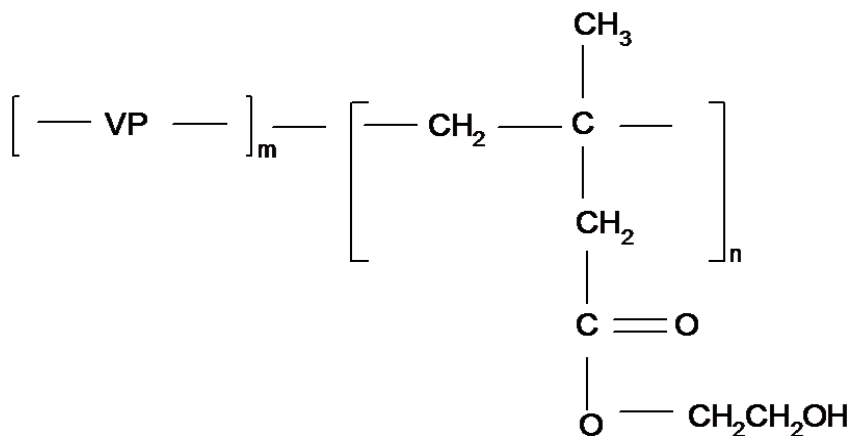
Рисунок 1 (продолжение).



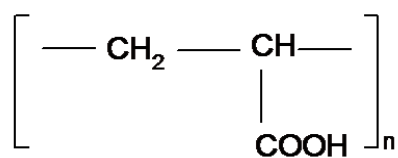
(13)



(14,15)



(16)



(17)

Рисунок 1 (продолжение).

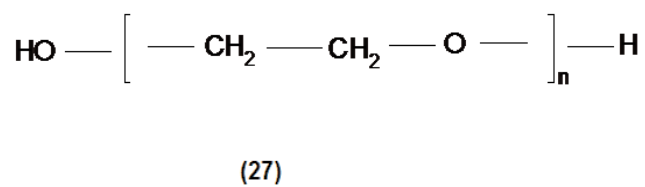
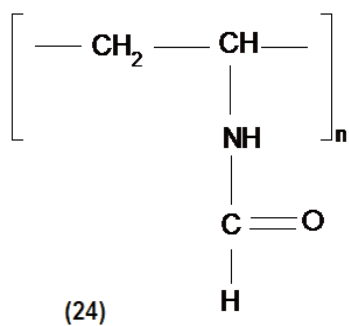
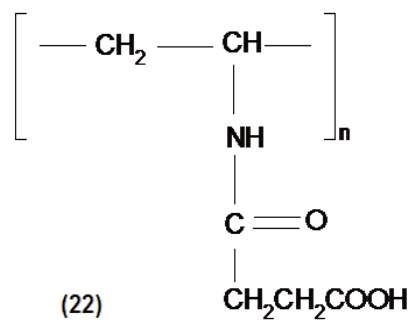
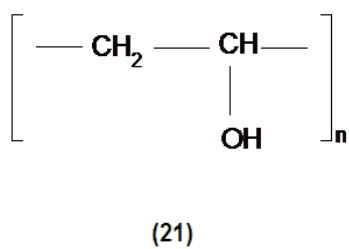
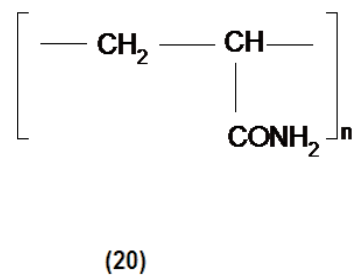
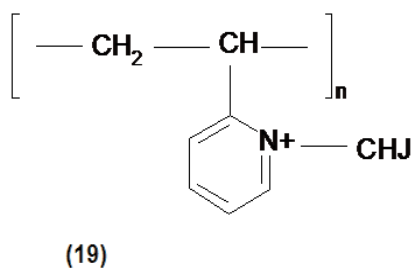
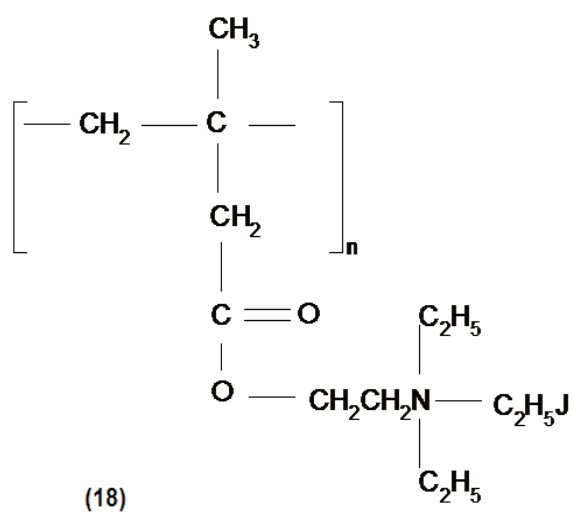
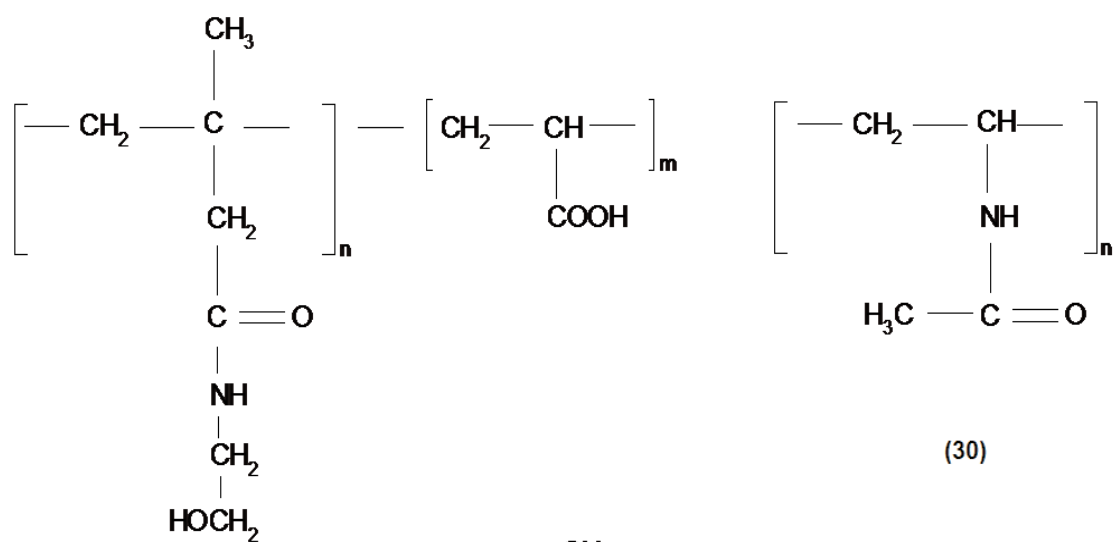
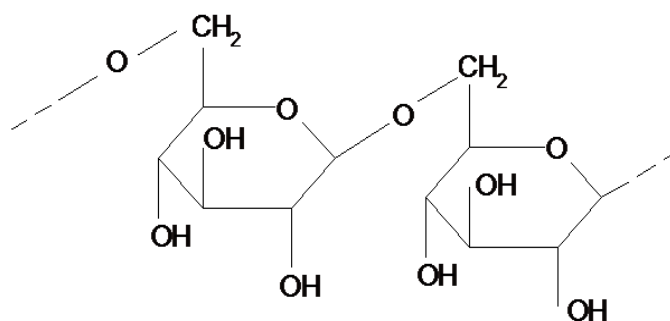


Рисунок 1 (продолжение).

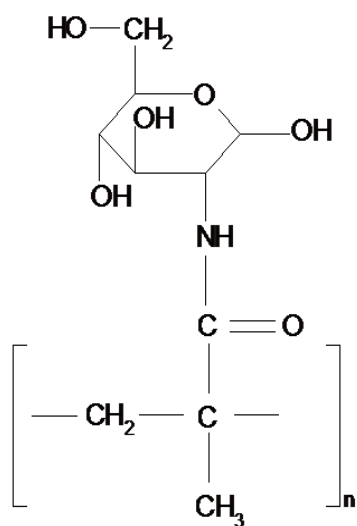


(30)

(28)



(23)



(25)

Рисунок 1 (продолжение).

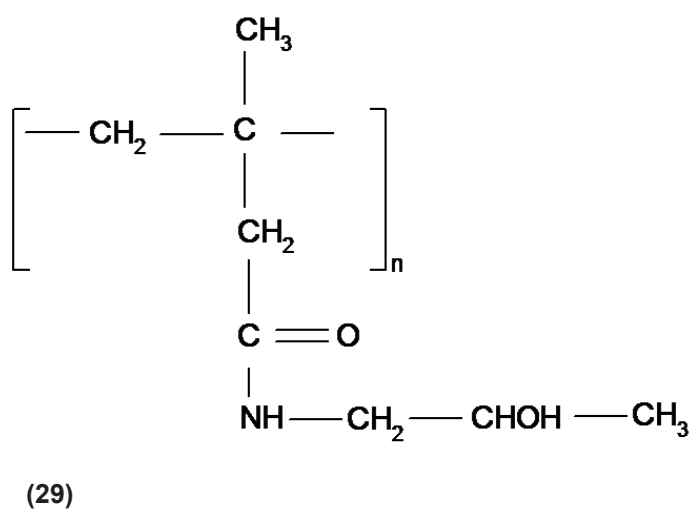
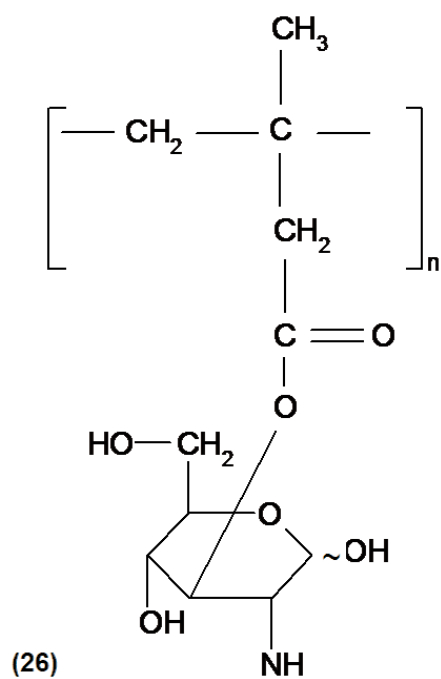


Рисунок 1 (окончание).

## ТЕСТ НА ПОТЕНЦИАЛЬНУЮ КАНЦЕРОГЕННОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПОЛИМЕРОВ

Большинство полимеров синтезированы путем радикальной (со)полимеризации мономеров в присутствии инициатора. Поливиниловый спирт **21** и поливиниламидоуксусная кислота **22** получены щелочным гидролизом соответственно поливинилацетата и поливинилсукцинимиды. Молекулярные массы (ММ) полимеров определены вискозиметрическим методом или методом сочетания диффузии и седиментации. Содержание в сополимерах звеньев второго сомономер (тг) определяли методами функционального или спектрального анализа.

Экспериментальные исследования влияния водорастворимых полимеров на образование 3-ОАК-КБА проводились на мышах-самцах линии СЗНА разводки питомника Рапполово. В работе были исследованы 29 синтетических полимеров различной структуры и один биосинтетический полимер-декстран **23**. Полимеры вводили в виде 1%-х водных растворов внутрибрюшинно в дозе 100 мг/кг массы животных 6 раз через день. Выбор дозы и сроки введения соответствовали дозе и срокам введения канцерогенного соединения - бензидина, вызывающего у мышей этой линии, как показали результаты наших предыдущих исследований, образование 3-ОАК-КБА. Контролем служили интактные мыши той же линии. По окончании опыта контрольные и подопытные животные забивались декапитацией. Кровь использовалась для получения сыворотки. Для получения тканевых экстрактов использовался пул исследованных органов от 5 животных. Из тканей печени, селезенки, легких и почек готовились тканевые экстракты. В реакциях использовали водные тканевые экстракты, содержащие 3-5% белка.

3-ОАК-КБА в сыворотке крови и тканевых экстрактах определяли методом встречной иммунодиффузии в агаре [5] при помощи иммуносывороток кроликов, содержащих антитела против 3-ОАК как гаптена. Для иммунизации кроликов использовали азопротеины, полученные путем диазотирования и последующего азосочетания диазосоединения 3-ОАК с альбуминами лошадиной сыворотки крови. На присутствие в исследуемых материалах 3-ОАК-КБА указывало появление четкой линии преципитации, образующейся при взаимодействии антител против канцерогена, содержащихся в иммуносыворотке, с 3-ОАК-КБА, присутствующими в исследуемом материале (сыворотка крови, тканевые экстракты), отсутствующей в реакции той же иммуносыворотки с соответствующими материалами контрольных животных.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Результаты исследований влияния полимеров на появление в организме мышей 3-ОАК-КБА представлены в таблице. Как видно из таблицы, из 30 исследованных водорастворимых полимеров введение только 6 полимеров не вызывало появления 3-ОАК-КБА крови и в тканях.

Первые эксперименты были поставлены с поливинилпирролидоном (поли-ВП) - известным дезинтоксикатором [6] (как с отечественным препаратом "Гемодез" **2**, так и с препаратом фирмы Англии **1** с ММ 10000). Исследовали также лабораторный образец поли-ВП с ММ 130000 **3**. Из сводной таблицы, в которой приведены все полученные результаты, видно, что образец **3** является активным стимулятором образования в организме животных 3-ОАК-КБА. КБА в этом случае обнаруживаются в крови, печени, селезенке, легких и почках мышей. При введении "Гемодеза" и поли-ВП **1** КБА, содержащие 3-ОАК, были найдены только в печени и почках подопытных животных. Таким образом, характер распределения 3-ОАК-КБА в крови и тканях при введении поли-ВП, возможно, зависит от молекулярной массы поли-ВП.



Таблица. Результаты исследований образования 3-ОАК-КБА в сыворотке крови и экстрактах тканей мышц линии СЗНА при введении им полимеров различного строения.

№ полимера	Молекулярная масса полимера	T <sub>2</sub> моль %	Число поставленных опытов	Число опытов, в которых были обнаружены 3-ОАК-КБА				
				сыворотка крови	печень	селезенка	лёгкие	почки
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 (Англия)	10000	0	5	0	0	0	3	2
2 («Гемодез»)	12500	0	5	0	0	0	3	1
3	130000	0	7	4	4	3	3	3
4	38000	12,4	5	0	15/15*	0	0	0
5	60000	19,6	4	4	13/13*	0	0	0
6	18000	11,6	3	0	1/15*	2	0	3
7	84000	8,6	5	5	0	0	0	0
8	30000	8,4	5	3	5/13*	1	1	
9	24000	8,6	5	2	0	0	0	0
10	23000	10,2	5	5	4	0	0	0
11	15000	10,4	3	3	13/14*	3	3	3
12	8000	8,2	5	1	4/18*	0	4	3
13	15000	13,2	4	4	0	0	1	0
14	70000	8,0	5	0	0	0	3	0
15	62000	13,0	5	0	0	0	1	0
16	86000	33,6	5	0	0	0	0	0
17	121000	0	3	2	3	1	0	1
18	10000	0	5	5	0	0	1	0
19	200000	0	5	0	0	0	2	0
20	500000	0	5	3	0	0	0	0
21	5000	0	7	4	4	3	3	3
22	—	0	4	4	0	0	0	0
23	20000	0	5	2	0	2	4	0
24	70000	0	5	1	0	0	5	3
25	100000	0	5	2	0	0	0	5
26	40000	0	5	0	0	0	0	0
27	20000	0	5	0	0	0	0	0
28	20000	0	5	0	0	0	0	0
29	50000	28,2	5	0	0	0	0	0
30	112000	0	5	0	0	0	0	0

Примечание: \* - В этих опытах печень исследовалась от каждого животного отдельно: в знаменателе указано число поставленных опытов, в числителе - число опытов, в которых были обнаружены 3-ОАК-КБА.

## ТЕСТ НА ПОТЕНЦИАЛЬНУЮ КАНЦЕРОГЕННОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПОЛИМЕРОВ

Переход от поли-ВП к сополимерам ВП модифицирует действие поли-ВП. Сополимер ВП с виниламином **5** вызывал образование 3-ОАК-КБА только в печени и в сыворотке крови, в то время как сополимер ВП с кротоновой кислотой **13** - в крови и в легких. Сополимер ВП с диэтилацеталем акролеина **10** вызывал появление 3-ОАК-КБА в крови и в печени мышей, Сополимер ВП с N-гидроксисукцинимидным эфиром акриловой кислоты **6** (ММ 18000) индуцировал образование 3-ОАК-КБА в печени, селезенке и почках, а сополимер ВП с аллиловым спиртом **12** - в крови, печени, легких и почках. Сополимер ВП с N-гидроксифталиимидным эфиром акриловой кислоты **8**, а также сополимер ВП с аллиловым спиртом **11** вызывали появление 3-ОАК-КБА в сыворотке крови и во всех экстрактах тканей. Сополимеры ВП с N-гидроксисукцинимидным эфиром соответственно акриловой **7** и кротоновой **9** кислот, сополимеры ВП с йодэтилатом НТЧ-диэтиламиноэтилметакрилата **14**, **15** индуцировали образование 3-ОАК-КБА в организме мышей лишь в единичных случаях. Наконец, сополимер ВП с 2-гидроксиэтилметакрилатом **16** не индуцировал образования 3-ОАК-КБА ни в крови, ни в тканях подопытных животных. Это наблюдение имеет важное практическое значение, поскольку свидетельствует о том, что на индукцию сополимерами ВП 3-ОАК-КБА большое влияние может оказывать характер вводимых в них звеньев сомономеров. К полимерам, не вызывающим продукцию 3-ОАК-КБА, относятся также полиэтиленгликоль **27**, полиметакрилоилглюкоза **26**, поливинилацетамид **30**, поли-N-(2-гидроксипропил)метакриламид (поли-ГПМА) **28**, сополимер ГПМА с акриловой кислотой **29**.

Остальные полимеры или стимулировали появление 3-ОАК-КБА у мышей в крови и во всех исследованных тканях (поливиниловый спирт **21**), или только в отдельных биологических материалах (полимеры **18**, **23**, **24**). Некоторые из исследованных гомополимеров индуцировали появление 3-ОАК-КБА лишь в единичных органах. К ним относятся: полиакриламид **20**, йодэтилат поли-2-винилпиридина **19**.

Интересно отметить, что среди поливинилсахаридов способность образовывать 3-ОАК-КБА зависит от характера химической связи между основной цепью и углеводным фрагментом: в случае амидной связи образуется 3-ОАК-КБА. в случае сложноэфирной связи 3-ОАК-КБА не образуются.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что введение синтетических водорастворимых полимеров может вызвать появление в организме мышей КБА, содержащих эндогенный канцероген - 3-ОАК. Индукция образования 3-ОАК-КБА и характер их распределения в организме (во всех исследованных органах или в отдельных тканях) зависят от химического строения полимеров. Особый интерес вызывают полимеры-иммуностимуляторы, такие, как полиметакрилоилглюкоза **26**, не вызывающие такого нежелательного побочного действия, как образование 3-ОАК-КБА. Результаты исследований свидетельствуют о том, что синтетические полимеры, вызывающие образование 3-ОАК-КБА в организме подопытных животных, могут являться факторами потенциального онкологического риска. Полученные нами данные указывают на возможность использования в дальнейшем метода определения 3-ОАК-КБА в организме подопытных животных при введении им химических соединений различной химической структуры в качестве дополнительного краткосрочного теста на потенциальную канцерогенность, позволяющего прогнозировать канцерогенные свойства химических соединений.

Работа выполнена при финансовой поддержке научных школ (грант НШ-1823.2003.3).

---

ЛИТЕРАТУРА

1. Белохвостова А.Т., Потапенкова Л.С., Каверзнева Т.Т., Мишуков В.И., Худолей В.В. (1997) Экспериментальная онкология, **19**, 284-288.
2. Коростелева Т.А., Белохвостова А.Т. (1984) Практические и научные основы профилактики канцерогенных воздействий. Л., НИИ онкологии, с. 61-73.
3. Коростелева Т.А., Ключарев Б.В., Мельников Р.А., Белохвостова А.Т. (1976) Бюлл. эксп. биол. мед., №7, 850-852.
4. Лапенко В.Л. (1986) Ненасыщенные производные углеводов. Воронеж.
5. Бем Э. (1987) Иммунодиффузия. М.: Медицина.
6. Машковский М.Д. (2002) Лекарственные средства. 14 издание М.: Новая волна.

Поступила: 10. 03. 2005.

**A SHORT TEST FOR POTENTIAL CARCINOGENICITY OF WATER SOLUBLE SYNTHETIC POLYMERS**

*A.T. Belokhvostova<sup>1</sup>, L.S. Potapenkova<sup>1</sup>, E.F. Panarin<sup>2</sup>, M.V. Solovskij<sup>2</sup>, N.P. Ivanova<sup>2</sup>, O.V. Nazarova<sup>2</sup>, I.I. Gaurilova<sup>2</sup>, A. Ju.Jershov<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>N.N. Petrov Oncology Research Institute of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg 197758, Pesochnyi, Leningradskaya ul., 68; fax (812) 596-89-47,

<sup>2</sup>Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, Bolshoj prospect, 31, St-Petersburg, 199004 Russia; fax (812) 328-68-69

The effect of synthetic water-soluble polymer with different structure on the appearance in SZNA mice of carcinogen-protein adducts (CPA) containing endogenous carcinogen, 3 – oxyanthranilic acid (3 – OAA), was investigated. CPA containing 3-OAA (3- OAA-CPA) were detected during the administration of 24 of 30 investigated polymers. The induction of 3-OAA-CPA and the character of their distribution in the organism (in all investigated tissues: serum, extracts of liver, spleen, lungs and kidneys tissues or in single tissues) depended on the chemical structure of polymers. It is concluded, that synthetic polymers represent potential cancerogenic danger, because their administration causes formation of 3-OAA-CPA in the organism of animals.

**Key words:** carcinogen-protein adducts, 3-oxyanthranilic acid, synthetic polymer, oncological risk, blood serum, tissue extracts.