

<https://doi.org/10.3176/biol.1972.3.09>

УДК 616—006.6—402; 615.54:547.68:547.56

ТИИНА КАРУ, УУВЕ КИРСО, ЛЕВ АНДРИАНОВ, ЛЕОН ШАБАД,  
МАРК ГУБЕРГРИЦ

### ВЛИЯНИЕ ФЕНОЛОВ НА РЕЗОРБЦИЮ 3,4-БЕНЗПИРЕНА В КОЖЕ ЖИВОТНЫХ

Этиологическая роль некоторых полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в возникновении злокачественных опухолей, в частности опухолей кожи, у человека и животных при непосредственном контакте с ними получила в последние годы неопровержимые доказательства [1, 2].

В связи с этим особый интерес исследователей привлекают вопросы, связанные с резорбцией канцерогенов в коже животных, т. е. со скоростью проникновения их в организм и метаболического превращения, длительностью задержки на месте нанесения и т. п. [3-7]. При оценке канцерогенной опасности реальных загрязнений, содержащих ПАУ и попадающих на кожу из внешней среды, следует учесть возможное воздействие сопутствующих им примесей других химически и (или) физиологически активных веществ.

К последним следует отнести в первую очередь фенолы, влияние которых на канцерогенез изучено главным образом при разделенном во времени попадании их и канцерогенных ПАУ на кожу (кокканцерогенез) и лишь в незначительной мере при совместном и одновременном контакте их с кожей животного [8-10]. Специфическая способность фенолов к ингибированию реакций окисления дает основание полагать *a priori*, что в начальных этапах воздействия ПАУ на организм (кожу) наличие примеси фенолов может весьма существенно влиять на канцерогенез.

В последние годы в этом направлении предприняты некоторые экспериментальные исследования и попытки теоретической оценки ингибирующей либо промоторной роли фенолов в канцерогенезе [11-13], причем обобщение сравнительно немногочисленных данных дает основание полагать, что их влияние связано, во-первых, со структурой [13] и, во-вторых, с концентрацией фенолов в смеси [14].

Для раскрытия механизма явлений, протекающих при таком совместном воздействии канцерогенных ПАУ и фенолов на организм, необходима постановка комплексного эксперимента, результаты которого позволили бы сопоставить патофизиологическую (развитие кожных поражений, время проявления и скорость роста опухолей, характер метаболизма) динамику процесса и физико-химические особенности участвующих в нем веществ, а также кинетическую характеристику их деградации в этом процессе.

В настоящей статье приведены результаты первого этапа таких исследований.

### Методика и объекты исследования

В работе использованы методика и аппаратура, специально разработанные для изучения динамики резорбции канцерогенных ПАУ в коже живых мышей, которая измерялась при помощи относительной интенсивности специфической флюоресценции на месте нанесения ПАУ [15]. Опыты проведены на 8—10-месячных самках безволосых мышей. В качестве исходного ПАУ выбран наиболее типичный и активный их представитель — 3,4-бензпирен (БП). Раствор последнего в ацетоне (при неизменной концентрации 0,2 мМ) с добавкой того или иного фенола в заданной концентрации наносится в количестве 0,1 мл на кожу животных в межлопаточной области при помощи шприца. Контрольным животным на кожу наносился раствор только БП, без добавки фенола. Во всех опытах разовая доза БП на одну мышь составляла 5 мкг, концентрация же (и следовательно, доза) фенолов варьировала от 0,05 до 3 мМ. Измерение интенсивности флюоресценции в специфической для БП области 403 нм производилось по методике, описанной в [15], непосредственно после нанесения раствора на кожу (в пределах 1—5 мин) и затем через каждые 30 мин. Измерения для каждого варианта концентрации производились параллельно на двенадцати животных, в девяти точках у каждой мыши.

В эксперименте использовались следующие реактивы: 3,4-бензпирен чистый (Fluka A. G., Buchs S. G.); оксибензол, *o*-, *p*- и *m*-крезолы и 2,6-дитретбутил, 4-метилфенол или ионол (ТУ-1315-63), подвергнутые дополнительной очистке; 4-нитро- и 2,4-динитрофенол (С. Erba); 5-метилрезорцин (Merck A. G.); растворитель — ацетон х. ч.

### Результаты исследования и их обсуждение

Типичные кривые изменения относительной интенсивности флюоресценции БП в ходе опыта на месте нанесения его приведены на рис. 1 и 2

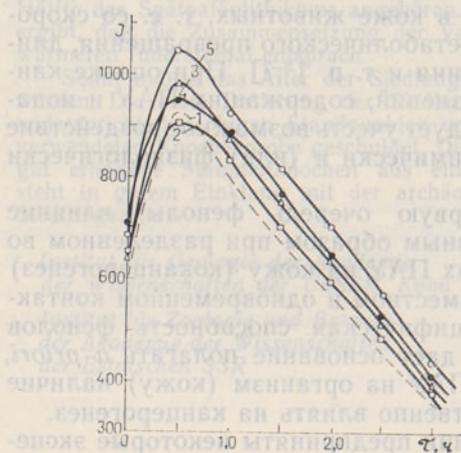


Рис. 1. Изменение интенсивности флюоресценции 3,4-бензпирена при резорбции в коже мышей (1) под влиянием добавки 5-метилрезорцина при концентрации: 2 мМ (2), 1 мМ (3), 0,4 мМ (4) и 0,2 мМ (5).

для случаев совместного воздействия БП с 2,4-динитрофенолом и 5-метилрезорцином в разных концентрациях. На этих рисунках кривые для контрольных групп (раствор БП без добавки фенолов) обозначены индексом 1. В соответствии с указанным выше, каждая точка на графике представляет арифметическое среднее не менее чем 108 измерений. Каж-

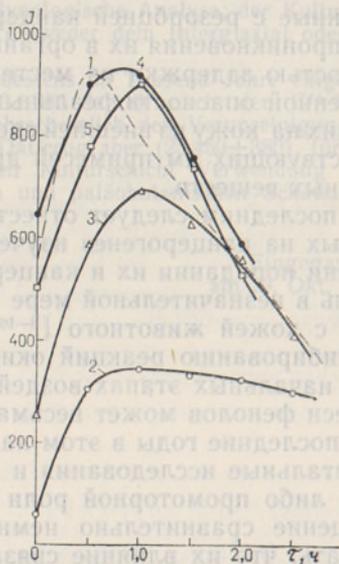


Рис. 2. Изменение интенсивности флюоресценции 3,4-бензпирена (1) при резорбции в коже мышей под воздействием 2,4-динитрофенола при концентрации: 2 мМ (2), 0,2 мМ (3), 0,1 мМ (4) и 0,05 мМ (5).

дая кривая на графиках обладает некоторым максимумом. Восходящий отрезок кривой на рис. 1 и 2 отражает процесс растворения БП в липоидных частях ткани — свободных (секрет сальных желез) и клеточных (аминопотеидные мембраны, эндоплазматическая сеть). Спад кривой соответствует снижению концентрации БП в доступном для наблюдения слое кожи вследствие метаболизма и диффузии в глуболежащие слои и кровяное русло.

Для остальных фенолов нами получены аналогичные данные (см. табл. 1, 2). По кинетическим кривым, приведенным на рис. 1 и 2, следует, что влияние фенолов на резорбцию БП в коже мышей проявляется в заметном изменении максимальной величины интенсивности флюоресценции и длительности высвечивания («задержки» БП в коже), сугубо индивидуально для каждого гомолога, и находится в тесной связи с величиной его концентрации в растворе. При дальнейшем обсуждении следует иметь в виду, что два представителя фенолов из используемых в эксперименте, а именно 4-нитро- и 2,4-динитрофенол, обладают способностью к заметному тушению флюоресценции БП при концентрации их в растворе выше  $0,05 \text{ мМ}$ , что явствует из рис. 2 (кривые 2, 3, 5). Для остальных гомологов эта способность в эксперименте *in vitro* не установлена.

Таблица 1

Влияние концентрации фенолов различной структуры на интенсивность флюоресценции 3,4-бензпирена (в контроле — 930 условных единиц)

Фенол	Максимальная интенсивность флюоресценции БП, усл. единиц, при концентрации фенола $10^{-4} \text{ М}$		
	2	10	20
5-Метилрезорцин	1050	980	910
Оксибензол	1000	950	900
3-Метилфенол	940	910	930
4-Нитрофенол	930	850	820
4-Метилфенол	890	920	940
2,6-Дитретбутил, 4-метилфенол	830	800	790
2-Метилфенол	740	680	880
2,4-Динитрофенол	690	500	350

Для более наглядной количественной оценки установленного влияния структуры фенола и его концентрации на динамику резорбции БП в табл. 1 приведены данные о зависимости максимальной интенсивности высвечивания от уровня концентрации фенолов в растворе. Большинство изученных фенолов во всем диапазоне варьирования их концентрации обладает способностью к ослаблению флюоресценции БП, максимальная интенсивность которой для контроля составляет 930 условных единиц. Количественное проявление этого воздействия определяется как уровнем концентрации, так и структурой данного фенола. При этом отчетливо выступает влияние расположения заместителя в молекуле фенола, которое качественно отвечает порядку (по убывающей интенсивности) *орто* > *пара* > *мета* (см. табл. 1). Эта зависимость наиболее ясно видна в случае эквимольного соотношения концентрации в растворе 3,4-бензпирена и фенола.

При сопоставлении влияния добавки фенолов на продолжительность флюоресценции и зависимости этого эффекта от концентрации фенола (см. табл. 2) наблюдается, что длительность интенсивного высвечивания, т. е. «задержки» БП на месте нанесения (1,2 ч для полуволны в случае контроля), сокращается лишь под влиянием ионола и оксибензола, последний лишь в небольшой степени снижает максимум флюоресценции.

Таблица 2

Влияние концентрации фенолов различной структуры на длительность флюоресценции 3,4-бензпирена (в контроле 1,2 ч)

Фенол	Длительность флюоресценции, ч (для полуволны), при концентрации фенолов $10^{-4}$ М		
	2	10	20
2,4-Динитрофенол	2,4	3,2*	4,0*
4-Нитрофенол	2,2	2,2*	2,2
4-Метилфенол	1,45	1,45	1,6
3-Метилфенол	1,6	1,6	1,55
2-Метилфенол	1,45	1,3	1,75
5-Метилрезорцин	1,3	1,25	1,15
Оксибензол	1,1	1,0	1,2
2,6-Дитретбутил-4-метилфенол	1,0	1,0	1,0

\* Определено путем экстраполяции по графикам.

Остальные же гомологи способствуют увеличению «задержки» БП по сравнению с контролем. Расположение заместителей в молекуле фенола и в данном случае оказывает закономерное влияние, хотя и выраженное несколько менее отчетливо. Длительность «задержки» возрастает в ряду *пара*->*мета*->*орто*-замещенных фенола. Исключение, которое составляет 2,4-динитрофенол, может быть связано с его высокоспецифичным влиянием на метаболизм как разобчителя процесса окислительного фосфорилирования.

### Выводы

Полученные данные свидетельствуют об активном влиянии фенолов на процесс резорбции 3,4-бензпирена при совместном нанесении их на кожу животных. Оно проявляется в сугубо индивидуальном для каждого гомолога изменении скорости выведения БП из места нанесения, что отражается на изменении динамики характерной его флюоресценции (403 нм).

Сложный характер концентрационных зависимостей для большинства гомологов, очевидно, отражает двойственность механизма процесса: непосредственного участия фенолов в комплексе реакций окисления 3,4-бензпирена, с одной стороны, и их опосредованного действия благодаря влиянию на регуляторные механизмы клеток ткани в целом, с другой. В случае 2,4-динитрофенола, когда этот последний путь ярко выражен, эффект влияния монотонно возрастает с концентрацией.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Шабад Л. М., Методы определения и изучения бластоогенных химических веществ, М., 1970.
2. Hueber W. C., Chemical carcinogenesis and cancers, Illinois, 1964.
3. Белицкий Г. А., Хесина А. Я., Культура тканей в онкологии, М., 1968, с. 211.
4. Alvares A. P., Schilling G. et al., Biochem. Pharmacol., **19**, 1449 (1970).
5. Ло Синь-мао, Вопр. онкол., **10**, 41 (1964).
6. Sloane G. H. J., Loeser C. M., Cancer Res., **23**, 1555 (1963).
7. Sims P., Biochem. Pharmacol., **16**, 613 (1967).
8. Boutwell R. K., Bosch D. K., Cancer Res., **19**, 413 (1959).
9. Chan Po Chuen, Goldman A., Wyunder E. L., Science, **168**, 130 (1970).
10. Kothari M. L., Metha Lopa A., J. Postgrad. Med., **15**, 101 (1969).
11. Kunte H., Z. Krebsforsch., **72**, 57 (1969).
12. Бурлакова Е. Б., Гаицева В. Д., Эмануэль М. Н., Изв. АН СССР, сер. биол., **31**, 511 (1966).
13. Губергриц М. Я., Кирсо У. Э., Вопр. онкол., **16**, 96 (1970).
14. Храпова Н. Г., Тр. Моск. об-ва испыт. природы, **32**, 227 (1970).
15. Андрианов Л. А., Турусов В. С., Вопр. онкол., **15**, 63 (1969).

Институт химии  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
2/VII 1971

Институт экспериментальной и клинической онкологии  
Академии медицинских наук СССР

TIINA KARU, UUV KIRSO, LEV ANDRIANOV, LEON SABAD, MARK GUBERGRITS

FENOOLIDE MÖJUST 3,4-BENSOPÜREENI RESORPTSIOONILE  
LOOMADE NAHAS

Resüme

Uuriti erinevate fenoolide (oksübenseen, *p*-, *o*-, *m*-kresoolid, 5-metüülresortsiin, 2,6-ditertbutüül-4-metüül-, 4-nitro- ja 2,4-dinitrofenoolid) mõju 3,4-bensopüreeni fluorestsentsi kustumisele hiire nahal. Katsed näitasid, et kõigi loeletud fenoolide toimel muutub 3,4-bensopüreeni fluorestsentsi intensiivsus ja kestus, kusjuures fenoolide struktuuri kõrval on oluliseks faktoriks ka nende lähtekontsentratsioon.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Keemia Instituut

Toimetusse saabunud  
2. VII 1971

NSV Liidu Meditsiiniakadeemia  
Eksperimentaalse ja Kliinilise Onkoloogia Instituut

TIINA KARU, UUV KIRSO, LEV ANDRIANOV, LEON SHABAD, MARK GUBERGRITS

INFLUENCE OF PHENOLS ON THE RESORPTION OF 3,4-BENZOPYRENE  
FROM ANIMAL SKIN

Summary

The influence of various phenols (oxybenzene, *o*-, *p*-, *m*-cresols, 5-methylresorcinol, 2,6-ditertbutyl-4-methyl-, 4-nitro- and 2,4-dinitrophenols) on the extinction of fluorescence of 3,4-benzopyrene has been studied on the skin of mice. All the phenols affect both the intensity and duration of the fluorescence in a different manner, which depends on their chemical structure and initial concentration level.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,  
Institute of Chemistry

Received  
July 2, 1971

Academy of Medical Sciences of the USSR,  
Institute of the Experimental and Clinical Oncology