

Ewa Chlebda¹
Jolanta Antonowicz-Juchniewicz²
Ryszard Andrzejak²

WPŁYW EKSPOZYCJI ZAWODOWEJ NA OŁÓW I ARSEN NA STĘŻENIE KAROTENOIDÓW W SUROWICY U PRACOWNIKÓW HUTY MIEDZI*

THE EFFECT OF OCCUPATIONAL EXPOSURE TO HEAVY METALS AND ARSENIC ON SERUM CONCENTRATIONS OF CAROTENOIDS IN COPPER FOUNDRY WORKERS

¹Z Katedry i Zakładu Farmakologii

²Z Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego

Akademii Medycznej we Wrocławiu

STRESZCZENIE

Wstęp. Celem pracy była analiza wpływu narażenia zawodowego na metale ciężkie na wydolność nieenzymatycznych mechanizmów antyoksydacyjnych, reprezentowanych w tym badaniu przez stężenie karotenoidów (KTND) w surowicy. **Materiał i metody.** Do badania włączono 96 pracowników narażonych zawodowo na metale ciężkie. Oceniano m. in. podgrupy pracowników: narażonych tylko na ołów (Pb) oraz łącznie na ołów i arsen (As). Do grupy kontrolnej zostało włączonych 81 mężczyzn, nieekspozowanych zawodowo na metale ciężkie. U badanych oznaczono stężenia ołowiu i kadmu (Cd) w krwi pełnej, seleniu, manganu, miedzi, cynku, wapnia, magnezu i karotenoidów w surowicy, arsenu w moczu oraz wolnych protoporfiryn (FEP) w erytrocytach. **Wyniki.** Zawartość KTND w surowicy była znacznie niższa u hutników ekspozowanych na metale ciężkie niż w grupie kontrolnej ($48,76 \pm 15,32$ vs. $68,36 \pm 21,46$ $\mu\text{g/dl}$; $p < 0,001$). Nie stwierdzono istotnych różnic między stężeniem karotenoidów w surowicy w podgrupie narażonych tylko na Pb, a w podgrupie ekspozowanych łącznie na Pb i As ($48,62 \pm 16,64$ vs. $48,86 \pm 14,41$ $\mu\text{g/dl}$). Wykazano istotną dodatnią korelację między stężeniem Cd we krwi a KTND w surowicy w grupie kontrolnej ($r = -0,3406$, $p < 0,05$). W analizie regresji wielokrotnej (model optymalny) stwierdzono znamienne ujemny wpływ Pb we krwi oraz dodatni wpływ Cd we krwi na zawartość KTND w surowicy w podgrupie pracowników ekspozowanych tylko na Pb ($R^2A = 0,9102$; $p < 0,001$). W podgrupie hutników narażonych na Pb i As jednocześnie zaobserwowano znamienne ujemny wpływ FEP w erytrocytach i dodatni wpływ As w moczu na stężenie KTND w surowicy w modelu optymalnym regresji wielokrotnej ($R^2A=0,9249$; $p<0,001$). **Wnioski.** Narażenie zawodowe na ołów i arsen w umiarkowanych dawkach może prowadzić do zmniejszenia stężenia karotenoidów w surowicy u narażonych osób. Med. Pr. 2004; 55 (5): 389–401

SŁOWA KLUCZOWE: metale ciężkie, ołów, arsen, karotenoidy, narażenie zawodowe, antyoksydanty nieenzymatyczne

ABSTRACT

Background: The aim of the project was to analyze the effect of occupational exposure to heavy metals on the efficiency of antioxidative defensive mechanisms, represented by the concentration of carotenoids (KTND) in serum. **Materials and Methods:** The study involved 96 workers exposed to heavy metals in a copper foundry. Two subgroups of workers – those exposed only to lead and those to the combination of lead and arsenic – were analyzed. The control group consisted of 81 subjects not exposed to heavy metals. We measured concentrations of lead and cadmium in whole blood, selenium, manganese, copper, zinc, calcium, magnesium and carotenoids in serum, arsenic in urine and free erythrocyte protoporphyrin (FEP). **Results:** Serum carotenoids concentration was significantly lower in workers exposed to heavy metals than in the control group (48.76 ± 15.32 vs. 68.36 ± 21.46 $\mu\text{g/dl}$; $p < 0.001$). There were no significant differences between serum concentrations of carotenoids in the subgroup exposed only to lead and the subgroup exposed to both lead and arsenic (48.62 ± 16.64 vs. 48.86 ± 14.41 $\mu\text{g/dl}$). We found significant positive correlation between blood cadmium levels and serum carotenoids in the control group ($r = -0.3406$, $p < 0.05$). In the multiple regression analysis (optimal model), there was significant negative influence of blood lead on serum KTND levels and positive influence of blood cadmium on serum KTND concentrations in the subgroup of workers exposed only to lead ($R^2A = 0.9102$; $p < 0.001$). In smelters exposed to both lead and arsenic, we observed significant negative influence of FEP and positive influence of arsenic on KTND concentrations in serum in the optimal model of multiple regression ($R^2A = 0.9249$; $p < 0.001$). **Conclusions:** Occupational exposure to lead and arsenic in moderate doses affects serum carotenoids concentration in exposed humans. Med Pr 2004; 55 (5): 389–401

KEY WORDS: heavy metals, lead, arsenic, carotenoids, occupational exposure, non-enzymatic antioxidants

Adres autorów: Mikulicza-Radeckiego 2, 50-345 Wrocław, e-mail: echlebda@mp.pl

Nadesłano: 4.02.2004

Zatwierdzono: 3.09.2004

© 2004, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi

WSTĘP

W procesach życiowych komórek przez cały czas są wytwarzane wolne rodniki tlenowe, z tego powodu organizmy wytworzyły szereg złożonych mechanizmów ochronnych, strukturalnych i metabolicznych, chroniących je przed stresem oksydacyjnym. Najważniejszymi związkami chroniącymi komórki przed toksycznym wpływem reaktywnych form tlenu są enzymy, stojące w pierwszej linii obrony, do których należą dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza glutationowa (GSH-Px), peroksydaza nadtlenu

ków fosfolipidowych oraz reduktazy. Drugie w kolejności są nieenzymatyczne antyoksydanty pochodzenia dietetycznego, zwłaszcza witaminy, w tym kwas askorbinowy (witamina C), α -tokoferol (witamina E), karotenoidy (głównie α - i β -karoten) i glutation (GSH) oraz pierwiastki śladowe. Wszystkie składowe obrony antyoksydacyjnej współdziałają ze sobą jako zintegrowany układ i pozostają ze sobą w stanie równowagi (1,2).

Karotenoidy są dużą rodziną związków chemicznych (ok. 1000 pochodnych) szeroko rozpowszechnionych we wszystkich organizmach żywych. Ludzie posiadają prawie nieograniczoną zdolność do przyswajania karotenoidów drogą po-

* Praca wygłoszona na Sympozjum „Dolnośląskie Dni Medycyny Pracy”, Polanica Zdrój, 9–11 maja 2003 r.

karmową, ale ponieważ nie posiadają zdolności ich syntezy *de novo*, dlatego muszą przyjmować je wraz z pożywieniem. Karotenoidy są obecne w pokarmach pochodzenia roślinnego (jako prowitamina A) oraz zwierzęcego (jako karotenoidy i estry retinolu). W najwyższych stężeniach występują w produktach roślinnych, zwłaszcza w żółtych i zielonych warzywach – marchewce, papryce, szpinaku, pomidorach czy brokułach. Z produktów zwierzęcych najbogatsze źródło karotenoidów stanowią mleko, sery, masło, ryby, jajka i podroby (3–5).

Za pomocą techniki chromatografii cieczowej u człowieka zidentyfikowano ponad 20 różnych karotenoidów w surowicy i w tkankach. Do głównych należą α -karoten, β -karoten, β -kryptoksantina, luteina i likopen, a do rzadszych – neoksanantyna, wiolaksantyna, astaksantyna i zeaksantyna (3,5). W surowicy karotenoidy są prawie wyłącznie związane z lipoproteinami: 75% z LDL (lipoproteiny o niskiej gęstości) i 25% z HDL (lipoproteiny o wysokiej gęstości). W największych ilościach są znajdowane w wątrobie i tkance tłuszczowej. Jednym z najważniejszych karotenoidów dla człowieka jest β -karoten, którego stężenie w surowicy charakteryzuje się znaczącą zmiennością osobniczą, dobową, sezonową, w zależności od płci, wieku i ilości spożywanego alkoholu (3,5).

Aktywność antyoksydacyjna karotenoidów jest wielotorowa, gdyż mogą one działać zarówno w pierwszej, jak i w drugiej linii obrony przed wpływem reaktywnych form tlenu, a podstawowym mechanizmem ich działania jest zdolność do wygaszania tlenu singletowego oraz rodników nadtlenkowych (5,6). Te właściwości zostały wykazane dla witaminy A₁ (retinol), A₂ (dehydroretinol), innych związków będących witaminami A, jak również nieposiadających aktywności prowitaminowej (5). Ponadto karotenoidy posiadają właściwości antyoksydacyjne niezależne od fotowrażliwości, dzięki czemu mogą hamować peroksydację lipidów. W warunkach fizjologicznych przeważają właściwości antyoksydacyjne karotenoidów, niemniej jednak w szczególnych warunkach, jak bardzo wysokie ciśnienie tlenu czy wysokie stężenia karotenoidów, które nie występują fizjologicznie w organizmie, związki te mogą wykazywać aktywność prooksydacyjną, której wynikiem może być produkcja jonu nadtlenkowego, rodnika hydroksylowego i nadtlenku wodoru w reakcji Fentona (4,6).

Tworzenie się toksycznych, reaktywnych form tlenu jest powiązane ze stresem oksydacyjnym i może zostać zainicjowane przez procesy oddychania komórkowego, toksyny egzogenne (np. ksenobiotyki, w tym metale ciężkie), ekspozycję na promieniowanie jonizujące oraz liczne czynniki utleniające endo- i egzogenne (m. in. palenie tytoniu) (1).

Metalami ciężkimi, które stanowią jedne z głównych czynników skażenia środowiska, są ołów (Pb), kadm (Cd) i arsen (As). Są one szeroko rozpowszechnione w środowisku człowieka – w powietrzu atmosferycznym, wodzie, pożywieniu czy glebie i mogą pochodzić zarówno ze źródeł naturalnych, jak i antropogenicznych (zwłaszcza z przemysłu). Należy podkreślić znaczenie ekspozycji czynnej i biernej na dym tytoniowy, jako istotnego źródła narażenia ludzi na metale ciężkie (7–9).

Metale te powodują różnorakie zmiany biochemiczne, fizjologiczne i czynnościowe, jednakże dotychczas znane mechanizmy nie wyjaśniają całkowicie niektórych objawów zatrucia związkami tych pierwiastków, tak więc brane są pod uwagę nowe, alternatywne hipotezy. Wyniki wielu badań wskazują, że metale ciężkie posiadają zdolność pośredniego indukowania stresu oksydacyjnego, a u podłoża patofizjologicznego niektórych oddziaływań toksycznych ołowiu, kadmu czy arsenu leży nasilanie produkcji wolnych rodników lub osłabianie mechanizmów obronnych (10–12). Z uwagi na to, że ołów i kadm nie biorą udziału w reakcji Fentona, tak więc nie prowadzą bezpośrednio do zwiększenia produkcji wolnych rodników (12).

Gurer H. (10) do zasadniczych mechanizmów działania prooksydacyjnego, czyli indukowania stresu oksydacyjnego przez ołów zalicza:

- 1) bezpośredni wpływ ołowiu na błony komórkowe, zwłaszcza erytrocytów,
- 2) interakcje między ołowiem a hemoglobina,
- 3) tworzenie reaktywnych form tlenu indukowane przez kwas δ -aminolewulinowy (ALA),
- 4) wpływ ołowiu na antyoksydacyjne układy obronne.

Ołów wywiera toksyczny wpływ na strukturę i funkcję błon komórkowych, szczególnie na błony erytrocytów. Krwinki czerwone cechują się wysokim powinowactwem do ołowiu (wiążą 99% Pb zawartego w krążeniu) oraz większą wrażliwością na uszkodzenia oksydacyjne niż inne komórki (10). Sugeruje się, że podstawowym mechanizmem działania ołowiu na błony jest autooksydacja hemoglobiny, katalizowana przez ten metal, co może inicjować peroksydację nienasyconych kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytów (10). Ponadto jony ołowiu nasilają procesy peroksydacji lipidów błonowych w różnych narządach, co może prowadzić do zaburzeń integralności, przepuszczalności i czynności błon biologicznych (10–13).

Powszechnie uznaje się, że gromadzący się ALA na skutek zaburzeń syntezy hemu wywołanych przez ołów, szczególnie w wątrobie i szpiku kostnym, stanowi źródło reaktywnych form tlenu, a przez to podłożę uszkodzeń oksydacyjnych i stanowi istotny mechanizm patofizjologiczny zatrucia ołowiem (10,14).

Zachwianie równowagi pomiędzy pro- i antyoksydantami w komórce na skutek oddziaływania ołowiu może prowadzić do uszkodzeń oksydacyjnych (10). Ołów wykazuje wysokie powinowactwo do grup sylfhydrylowych białek, na tej drodze hamując aktywność wielu enzymów, szczególnie ALAD (dehydratazy kwasu δ -aminolewulinowego) oraz licznych enzymów antyoksydacyjnych (10,12), co obserwowano w badaniach na zwierzętach eksperymentalnych zatrutowanych ołowiem lub u pracowników narażonych zawodowo na ten metal (10,14,15). Aktywność enzymów antyoksydacyjnych (dysmutaza nadnadtlenkowa, peroksydaza, peroksydaza glutationowa, katalaza) jest zależna od wielu pierwiastków śladowych, którą są istotne do zachowania prawidłowej struktury i funkcji tych enzymów (1). Ołów, działając antagonistycznie

lub konkurując, np. z selenem, żelazem, miedzią czy cynkiem, może dodatkowo zaburzać funkcję i osłabiać obronę antyoksydacyjną komórek (11,12,16). Wykazywano ponadto, że ekspozycja na ołów w warunkach doświadczalnych oraz narażenie zawodowe lub środowiskowe może prowadzić do zmniejszenia zasobów różnych witamin antyoksydacyjnych, zwłaszcza kwasu askorbinowego czy α -tokoferolu (11,12,13,15,16).

Wydaje się, że kluczowym czynnikiem w toksycznym oddziaływaniu kadmu jest zubożenie komórkowych zasobów zredukowanego glutationu i całkowitej puli grup tiolowych (związków zapobiegających stresowi oksydacyjnemu), prowadzące do hamowania syntezy mitochondrialnego ATP (adenozynotrójfosforanu) i niedostatecznego wytwarzania energii (12,13). Kadm pośrednio sprzyja wytwarzaniu stanu stresu oksydacyjnego, prowadząc wtórnie do wzmożenia peroksydacji lipidów, uszkodzenia kwasów nukleinowych, hamowania czynności białek antyoksydacyjnych poprzez wiązanie z ich grupami sulfhydrylowymi i zaburzenia homeostazy wapnia (12,16). Na oddziaływanie kadmu również wpływa rozmieszczenie i stężenie innych metali w organizmie, przede wszystkim miedzi, żelaza i selenu. Kadm działa niespecyficznym, a zwiększoną peroksydację lipidów obserwowano w licznych narządach zwierząt doświadczalnych (12,13,16).

Kolejnym niekorzystnym oddziaływaniem kadmu może być wpływ na komórkowe systemy ochronne. Szczególnie istotne jest hamowanie czynności enzymów antyoksydacyjnych, obserwowane w licznych badaniach *in vitro* i *in vivo* (12,13). Obserwowano zubożenie zasobów witamin antyoksydacyjnych w organizmach zwierząt doświadczalnych lub pracowników narażonych zawodowo na ten metal, zwłaszcza wit. C i E (12,13). Z drugiej strony na udział kadmu w procesach wolnorodnikowych wskazuje fakt, że antyoksydanty, takie jak α -tokoferol, kwas askorbinowy, cynk czy selen mogą być użytecznymi czynnikami protekcyjnymi i hamować oddziaływania toksyczne tego metalu (12,13,16).

Mechanizmy toksyczności arsenu oraz jego udział w procesach oksydoredukcyjnych nie zostały w sposób jednoznaczny wyjaśnione. Większość obserwacji dotyczących wpływu na procesy wolnorodnikowe została przeprowadzona w warunkach *in vitro*, natomiast ich przebieg *in vivo* jest słabo poznany. Wyniki badań wskazują, że podczas metabolizmu arsenu dochodzi do produkcji wolnych rodników tlenowych, zwłaszcza rodnika ponadtlenkowego oraz nadtlenu wodoru (17).

Arsen posiada zdolność niespecyficznego reagowania z grupami tiolowymi kilkudziesięciu białek, przez co wtórnie zaburza ich czynność (16,18). Ponadto może reagować bezpośrednio z tiolami, szczególnie glutationem i cysteiną, oraz ditiolami. Wydaje się, że glutation odgrywa kluczową rolę w ochronie komórek przed oddziaływaniem arsenu, a wyczerpanie zapasów GSH może prowadzić do gwałtownego przyspieszenia produkcji wolnych rodników i powstawania uszkodzeń biomolekuł na tle oksydacyjnym (19).

Arsen, podobnie jak ołów czy kadm, może wpływać na zmianę aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz na stężenie niektórych witamin antyoksydacyjnych, jak kwasu askorbinowego i witaminy E, u eksponowanych zwierząt eksperymentalnych (16,20).

Procesy wolnorodnikowe są złożone z wielu ząbiających się procesów, które wciąż nie są do końca poznane. Ksenobiotyki, jak metale ciężkie, mogą najprawdopodobniej pośrednio inicjować stres oksydacyjny, prowadzący do uszkodzenia struktury i integralności elementów komórkowych oraz wyczerpania ochronnych mechanizmów antyoksydacyjnych. Poznanie tych procesów jest tym bardziej istotne, że związki neutralizujące działanie wolnych rodników, jak witaminy antyoksydacyjne, mogą być potencjalnymi czynnikami protekcyjnymi przed toksycznym wpływem metali ciężkich pochodzenia środowiskowego czy zawodowego.

Głównym celem pracy była analiza wpływu narażenia zawodowego na metale ciężkie (głównie ołów) i arsen na wydolność mechanizmów obronnych antyoksydacyjnych nieenzymatycznych, reprezentowanych w tym badaniu przez stężenie karotenoidów w surowicy.

MATERIAŁ I METODY

Praca ta jest częścią realizowanego od wielu lat programu badań nad stanem zdrowia pracowników Instytutu Metali Nieżelaznych (IMN) w Legnicy oraz Huty Miedzi Legnica (HML).

Grupę zasadniczą stanowiło 96 zdrowych pracowników, wyłącznie mężczyzn, zatrudnionych w HML (54 osób) lub w INM (42 osób) w Legnicy, narażonych zawodowo na metale ciężkie, głównie ołów, oraz na arsen. Hutnicy ci zostali przebadani w ramach profilaktycznych badań okresowych pod kątem ogólnolekarskim i toksykologicznym.

Pracownicy HML byli zatrudnieni na następujących wydziałach: Wydziale Przygotowania Wsadu i Wydziale Metalurgicznym. Natomiast hutnicy z IMN pracowali w Zakładzie Nietypowej Produkcji Małomontażowej i Prototypów na następujących wydziałach: Wydziale Hutnictwa, Wydziale Chemii, Warsztacie Elektryczno-Mechanicznym oraz Wydziale Hydrometalurgii. Pomiary czynników szkodliwych przeprowadzono metodą dozymetrii indywidualnej podczas 3 kolejnych dni na wszystkich stanowiskach roboczych. W HML wykazano przekroczenia NDS (najwyższego dopuszczalnego stężenia) dla metali ciężkich na niektórych stanowiskach pracy, tj. na Wydziale Przygotowania Wsadu gdzie przekroczenia NDS dla Pb wynosiły do 1,1–6,09 • NDS, a dla As do 1,85–2,8 • NDS, natomiast na Wydziale Metalurgicznym wykazano przekroczenia NDS dla ołowiu do 1,2–9,9 • NDS, a dla arsenu w badanych próbach na poziomie 1,1–9,6 • NDS. Zgodnie z dostarczonymi przez IMN w Legnicy charakterystykami stanowisk pracy przekroczenia NDS dla metali ciężkich stwierdzono jedynie dla Pb na Wydziale Hutnictwa i na Wydziale Hydrometalurgii do 3,71 • NDS, natomiast oznaczone stężenia As były niższe od wartości NDS.

Opierając się na charakterystykach stanowisk pracy dostarczonych przez zakład pracy, nie wykazano obecności kadmu na stanowiskach pracy. Obecność kadmu we krwi badanych pracowników wynika najprawdopodobniej z narażenia środowiskowego, w tym m.in. jest związana z nałogiem palenia tytoniu. Ze względu na potencjalne oddziaływanie kadmu na zawartość karotenoidów w surowicy u badanych pracowników oraz zbliżony wpływ kadmu na procesy oksydoredukcyjne do wpływu ołowiu, oznaczono zawartość kadmu we krwi badanych osób, a uzyskane dane poddano analizie statystycznej.

Do grupy kontrolnej zostało włączonych 81 zdrowych mężczyzn, wykonujących pracę fizyczną, zamieszkałych we Wrocławiu i okolicach, odpowiadających wiekowo osobom z grupy zasadniczej, którzy w wywiadzie nie podawali narażenia zawodowego na metale ciężkie (ołów, kadm) ani arsen ani inne fizyczne czy chemiczne czynniki szkodliwe.

Każda z przebadanych osób z grupy zasadniczej oraz kontrolnej została poddana pełnemu badaniu lekarskiemu według specjalnie przygotowanej ankiety. U każdego badanego mężczyzny pobierano na czczo w godzinach rannych krew z żyły łokciowej, w celu wykonania oznaczenia:

- stężenia metali we krwi pełnej: ołowiu (Pb) i kadmu (Cd),
- stężenia metali w surowicy: manganu (Mn), miedzi (Cu), cynku (Zn), wapnia (Ca), magnezu (Mg) i selenu (Se),
- stężenia wolnych protoporfiryn (FEP) w erytrocytach,
- stężenia karotenoidów w surowicy.

Pobierano także próbki moczu po zakończonej zmianie roboczej na oznaczenie stężenia arsenu (As) u pracowników narażonych na ten pierwiastek ($n = 55$) i u niektórych nienarażonych na As, wybranych losowo hutników ($n = 11$), łącznie u 66 osób. Losowanie polegało na tym, że stężenie As było oznaczane u co czwartego kolejno badanego hutnika narażonego zawodowo tylko na Pb.

Projekt badawczy otrzymał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej we Wrocławiu Nr KB - 9/2001 dn. 10.01.2001.

Oznaczenia zostały wykonane w Laboratoriach Naukowych Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego AM we Wrocławiu, pozostającym z pozytywną oceną od ponad 10 lat w Ogólnopolskim Systemie Międzylaboratoryjnej Kontroli Jakości, prowadzonym przez Instytut Medycyny Pracy w Łodzi.

Krew do badań pobierano na czczo z żyły łokciowej po zakończeniu zmiany roboczej i dostarczano bezpośrednio do laboratoriów wykonujących oznaczenia. W tym samym czasie pobierano również próbkę moczu na oznaczenie stężenia arsenu.

1. Metale we krwi pełnej, surowicy i moczu

Krew na oznaczenie ołowiu i kadmu we krwi pełnej pobierano do specjalnie przygotowanych próbek (uprzednio wytrawionych stężonym kwasem azotowym) z EDTA (wersjan disodowo-wapniowy) jako antykoagulantem. Pozostałe metale oznaczano w surowicy, a krew była pobierana również do wytrawionych kwasem azotowym próbek, jednak

bez dodatku antykoagulantu. Natomiast stężenie arsenu było analizowane w moczu.

■ Stężenia ołowiu (Pb) i kadmu (Cd) we krwi pełnej oraz manganu (Mn) w surowicy oznaczano metodą bezpłomienową w kuwecie grafitowej Massmana na spektrofotometrze absorpcji atomowej SOLAAR M6 firmy Thermo Elemental, stosując metodę dodatków, która została opisana w instrukcji opublikowanej przez firmę.

■ Stężenia miedzi (Cu), cynku (Zn), wapnia (Ca) i magnezu (Mg) surowicy krwi oznaczano metodą spektrofotometrii płomieniowej w płomieniu powietrzno-acetylenowym na spektrofotometrze absorpcji atomowej SOLAAR M6 firmy Thermo Elemental.

■ Stężenie selenu (Se) w surowicy oznaczano na spektrofotometrze absorpcji atomowej SOLAAR M6 firmy Thermo Elemental na kuwecie elektrografitowej przy długości fali $\lambda = 196,0$ nm z wykorzystaniem korekcji tła Zeemana. W metodzie tej modyfikatorem matrycy był azotan niklu.

■ Stężenie arsenu (As) oznaczano w moczu zakwaszonym stężonym kwasem azotowym, bezpośrednio po zakończeniu zmiany roboczej. Pomiarów dokonano na spektrofotometrze absorpcji atomowej SOLAAR M6 firmy Thermo Elemental z wykorzystaniem przystawki PU 9360 Phillips, służącej do generacji wodorków. W metodzie tej stosowano długość fali $\lambda = 193,7$ nm, deuterową korekcję tła i elektrycznie grzaną kwarcową komorę atomizacji.

2. Wolne protoporfiryny w erytrocytach (FEP)

Krew do oznaczania FEP była pobierana do próbek heparynizowanych tzn. 5 ml krwi pełnej do próbki z 0,05 ml (100 j.) heparyny. Stężenie wolnych protoporfiryn erytrocytarnych oznaczano metodą wg Piomelli (21). W pierwszym etapie ekstrahowano wolne protoporfiryny do mieszaniny octanu etylu i kwasu octowego (4:1) przy jednoczesnej absorpcji białek krwi na 5% celicie 501 w 0,9% NaCl. W drugim etapie tak przygotowany ekstrakt oznaczano metodą fluorymetryczną na fluorymetrze firmy Perkin-Elmer przy zachowaniu następujących parametrów pomiaru: długości fali wzbudzenia - 405 nm, długości fali emisji - 605 nm, szczeliny 10:10, czułości pomiaru - 30. Jako standardu użyto koproporfiryny I w stężeniu 0,5 ppm.

3. Karotenoidy w surowicy

Stężenie karotenoidów (KTND) w surowicy oznaczano metodą kolorymetryczną (22). W postępowaniu analitycznym oparto się na modyfikacji klasycznej metody wg Dann i Ewelyn. Metoda ta polega na zmydłaniu badanej próbki i uwalnianiu w ten sposób karotenoidów, które następnie ekstrahuje się kilkakrotnie z eterem naftowym. Karotenoidy oznaczano na spektrofotometrze przy długości fali $\lambda = 450$ nm, a wyniki odczytywano każdorazowo z wykonanej krzywej standardowej.

Analiza statystyczna

Analiza statystyczna obejmowała obliczenia:

- średnich arytmetycznych i odchyłeń standardowych badanych parametrów w grupie zasadniczej i podgrupach

pracowników narażonych zawodowo na metale ciężkie oraz w grupie kontrolnej, którą stanowili zdrowi mężczyźni odpowiadający wiekowo;

- istotności różnic badanych cech za pomocą testów parametrycznych (t-Studenta) w przypadku rozkładu normalnego zmiennych, zaś w przypadku rozkładów nienormalnych – za pomocą testów nieparametrycznych, przyjmując za kryterium graniczne przedział ufności $p < 0,05$;

- współczynniki korelacji cząstkowych między badanymi parametrami w podgrupach grupy zasadniczej i w grupie kontrolnej;

- istotności współczynników korelacji;

- współczynników regresji wielokrotnej dla karotenoidów w podgrupie narażonych wg charakterystyk stanowisk pracy tylko na ołów, jak również w podgrupie narażonych łącznie na ołów i arsen; dla tego parametru opracowano model optymalny (eliminując parametry nieistotne metodą regresji krokowej) oraz model końcowy; do modelowania zostały włączone następujące parametry: metale ciężkie (Pb, Cd, As), FEP, metale i pierwiastki śladowe (Ca, Mg, Cu, Zn, Mn, Se, Fe), wiek oraz staż pracy.

Grupa zasadnicza ($n = 96$) pracowników narażonych zawodowo na metale ciężkie została podzielona na podgrupy na podstawie niżej wymienionych kryteriów:

- wiek: <45 r.ż. ($n = 53$), ≥ 45 r.ż. ($n = 43$),
- staż pracy w narażeniu: <20 lat ($n = 43$), ≥ 20 lat ($n = 53$),
- nawyk palenia tytoniu: palący papierosy ($n = 61$), niepalący ($n = 35$),
- stężenie Pb we krwi pełnej: $Pb < 300 \mu\text{g/l}$ ($n = 39$), $Pb \geq 300 \mu\text{g/l}$ ($n = 63$),
- zawartość FEP w erytrocytach: $FEP < 40 \mu\text{g}/100 \text{ ml E}$ ($n = 44$), $FEP \geq 40$ i $< 100 \mu\text{g}/100 \text{ ml E}$ ($n = 41$), $FEP \geq 100 \mu\text{g}/100 \text{ ml E}$ ($n = 11$),
- stężenie Cd we krwi pełnej: $Cd < 1,5 \mu\text{g/l}$ ($n = 29$), $Cd \geq 1,5 \mu\text{g/l}$ ($n = 67$),
- stężenie As w moczu: $As < 45 \mu\text{g/l}$ ($n = 27$), $As \geq 45$ i $< 80 \mu\text{g/l}$ ($n = 18$), $As \geq 80 \mu\text{g/l}$ ($n = 10$),
- narażenie tylko na Pb ($n = 41$) lub łączne na Pb i As ($n = 55$) wg charakterystyk stanowisk pracy.

Nie analizowano wpływu nawyków żywieniowych na stężenia badanych parametrów, ponieważ w przeprowadzonej ankiecie dominująca większość badanych osób podała, że stosuje dietę mieszaną – mięsno-warzywną. Nie uwzględniono również ilości pitego alkoholu, gdyż ankieta była imienna, a wszyscy badani określili, że piją alkohol jedynie okazjnie lub w ogóle.

Z uwagi na brak wartości referencyjnych dla stężenia karotenoidów w surowicy została dobrana grupa kontrolna 81 zdrowych mężczyzn, niepracujących zawodowo w narażeniu na metale ciężkie ani arsen, u których ustalono średnie wartości stężeń tych związków.

Stężenia referencyjne poszczególnych parametrów zostały przedstawione w tabeli 1.

Tabela 1. Wartości referencyjne badanych parametrów
Table 1. Reference values of examined parameters

Parametr Parameter	Materiał Material	Wartości referencyjne Reference values	Jednostka Unit
Pb	krew pełna Whole blood	<100 – pn* <500 – pr***	$\mu\text{g/l}$
Cd	krew pełna Whole blood	$<0,5$ – pn* $<,0$ – pr***	$\mu\text{g/l}$
As	mocz Urine	<10 – pn* <50 – pr***	$\mu\text{g/l}$
FEP	krwinki czerwone Erythrocytes	<100	$\mu\text{g}/100 \text{ ml E}$
Mn	surowica Serum	<10	$\mu\text{g/l}$
Cu	surowica Serum	80–150	$\mu\text{g/dl}$
Zn	surowica Serum	80–160	$\mu\text{g/dl}$
Ca	surowica Serum	90–110	$\mu\text{g/ml}$
Mg	surowica Serum	18–31	$\mu\text{g/ml}$
Se	surowica Serum	46–125	$\mu\text{g/l}$
Karotenoidy Carotenoids	surowica Serum	46,9–89,82****	$\mu\text{g/dl}$

* Populacja nienarażona zawodowo na metale.

* Population not occupationally exposed to metals.

** Populacja mężczyzn narażona zawodowo na ołów.

** Men occupationally exposed to lead.

*** Populacja narażona zawodowo na metale.

*** Population occupationally exposed to metals.

**** Wartości referencyjne dla dorosłych mężczyzn ustalone na podstawie grupy kontrolnej.

**** Reference values for adult men.

Uzyskane wyniki badań zostały pogrupowane i poddane analizie statystycznej z wykorzystaniem programu Statgraphics wersja 5.0.

WYNIKI

W ramach profilaktycznej okresowej oceny stanu zdrowia zostało przebadanych pod kątem ogólnolekarskim i toksykologicznym 96 pracowników Huty Miedzi „Legnica” i Instytutu Metali Nieżelaznych w Legnicy, u których nie stwierdzono przeciwwskazań zdrowotnych do wykonywania pracy. Średni wiek hutników stanowiących grupę zasadniczą wynosił $44,78 \pm 8,76$ lat, ich średni staż pracy $19,77 \pm 9,35$ lat, a średni wskaźnik palenia tytoniu $342,91 \pm 36,55$ papierosolat.

Grupa kontrolna składała się z 81 zdrowych mężczyzn, nieekspozowanych zawodowo na metale ciężkie ani inne szkodliwości fizyczne czy chemiczne. W grupie kontrolnej średnia wieku badanych mężczyzn wynosiła $43,1 \pm 10,32$ lat, a średni wskaźnik palenia tytoniu $197,16 \pm 256,19$ lat.

W analizie indywidualnej hutników ekspozowanych zawodowo na metale ciężkie wykazano przekroczenia DSB

Tabela 2. Liczba hutników z przekroczeniami dopuszczalnych stężeń biologicznych**Table 2.** Numbers of smelters with exceeded biologic limit values (BLV)

Parametr Parameter	Przekroczenia DSB Number of smelters with exceeded BLV
Pb $\geq 500 \mu\text{g/l}$	11
FEP $\geq 100 \mu\text{g/l}$	11
Cd $\geq 5,0 \mu\text{g}/100 \text{ ml E}$	2
As $\geq 50 \mu\text{g/l}$	27

Tabela 3. Porównanie średnich wartości badanych parametrów w grupie hutników z grupą kontrolną**Table 3.** Average values of estimated parameters in the study and control groups

Cecha Parameter	I - grupa zasadnicza I - study group n = 96	II - grupa kontrolna II - control group n = 81	p < 0,05 I-II
Wiek Age	44,78 \pm 8,76	43,10 \pm 10,32	-
Staż pracy Duration of employment	19,77 \pm 9,35	0,0	
Papierosolata Smoking index	342,91 \pm 36,55	197,16 \pm 256,19	p < 0,005
Pb	349,97 \pm 12,7	52,36 \pm 33,38	p < 0,001
Cd	2,383 \pm 1,442	1,534 \pm 1,506	p < 0,001
As	62,02 \pm 95,16 n = 66	16,73 \pm 14,15	p < 0,001
FEP	61,14 \pm 69,52	22,44 \pm 8,39	p < 0,001
Cu	117,6 \pm 1,9	97,73 \pm 21,24	p < 0,001
Zn	116,98 \pm 2,01	114,82 \pm 21,1	-
Ca	97,18 \pm 0,72	94,83 \pm 5,03	p < 0,05
Mg	19,43 \pm 0,16	21,16 \pm 19,49	-
Mn	2,768 \pm 1,881	3,471 \pm 1,973	p < 0,05
Se	81,09 \pm 1,57	68,75 \pm 9,4	p < 0,001
KTND	48,76 \pm 15,32	68,36 \pm 21,46	p < 0,001

Tabela 4. Porównanie średnich wartości badanych parametrów w grupie hutników ze względu na stężenia ołowiu we krwi pełnej ($\mu\text{g/l}$)**Table 4.** Average values of estimated parameters in smelters, depending on blood lead level ($\mu\text{g/l}$)

Cecha Parameter	I - Pb < 300 n = 33	II - Pb ≥ 300 n = 63	p < 0,05 I-II
Cd	2,169 \pm 0,238	2,495 \pm 0,186	-
As	34,33 \pm 4,44 n = 20	74,07 \pm 16,44 n = 46	-
FEP	30,65 \pm 2,52	77,11 \pm 10,19	p < 0,005
KTND	50,07 \pm 2,82	48,07 \pm 1,88	-

Tabela 5. Porównanie średnich wartości badanych parametrów w grupie hutników ze względu na zawartość FEP w erytrocytach ($\mu\text{g}/100 \text{ ml E}$)**Table 5.** Average values of estimated parameters in smelters, depending on the level of free erythrocyte protoporphyrin ($\mu\text{g}/100 \text{ ml E}$)

Cecha Parameter	I FEP < 40 n = 44	II 40 \leq FEP < 100 n = 41	III FEP ≥ 100 n = 11	p < 0,05	p < 0,05		
					I-II	I-III	II-III
Pb	289,62 \pm 18,39	386,15 \pm 16,26	456,55 \pm 25,74	p < 0,001	*	*	-
Cd	1,989 \pm 0,201	2,573 \pm 0,22	3,249 \pm 0,474	p < 0,05	-	*	-
As	44,16 \pm 4,59 n = 27	52,89 \pm 5,03 n = 31	157,68 \pm 91,22 n = 8	p < 0,01	-	*	*
KTND	49,89 \pm 2,34	47,18 \pm 2,42	50,09 \pm 4,29	-	-	-	-

* p < 0,05 między podgrupami.

* p < 0.05 between subgroups.

(dopuszczalnego stężenia biologicznego) wskaźników obciążenia i przeciążenia metalami, co zostało przedstawione w tabeli 2.

W grupie zasadniczej, obciążonej i przeciążonej ołowiem, kadmem oraz arsenem w sposób istotnie większy niż grupa kontrolna, stężenie karotenoidów w surowicy było znacznie statystycznie niższe (48,76 \pm 15,32 vs. 68,36 \pm 21,46 $\mu\text{g/dl}$; p < 0,001), natomiast stężenie selenu w surowicy było istotnie statystycznie wyższe. Ponadto w grupie zasadniczej stężenia miedzi, wapnia i selenu były istotnie statystycznie wyższe, a manganu znacznie niższe w porównaniu do grupy kontrolnej (tab. 3).

W analizie wariancji jednoczynnikowej nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między stężeniem karotenoidów w surowicy w podgrupie hutników młodszych (< 45 r. ż.; n = 53) a ich stężeniem w podgrupie hutników starszych (> 45 r. ż.; n = 43) – odpowiednio 49,09 \pm 2,41 $\mu\text{g/dl}$ i 48,49 \pm 2,06 $\mu\text{g/dl}$. Także średnie stężenia karotenoidów w surowicy nie różniły się znacznie statystycznie między osobami pracującymi krócej w narażeniu na metale ciężkie (< 20 lat; n = 43) a pracownikami zatrudnionymi w narażeniu powyżej 20 lat (n = 53) (46,92 \pm 2,64 vs. 50,25 \pm 1,85 $\mu\text{g/dl}$). Stężenie karotenoidów surowicy było niższe, jednakże w sposób nieistotny statystycznie, u hutników, którzy palili papierosy (n = 61), tj. 46,52 \pm 11,96 w porównaniu do pracowników niepalących (n = 35), tj. 52,66 \pm 19,45. Nie stwierdzono również znamienych różnic w stężeniach karotenoidów między podgrupami, których kryteria podziału stanowiły stężenia ołowiu i kadmu we krwi, FEP w erytrocytach oraz arsenu w moczu (tab. 4–7).

W tabeli 8 przedstawiono porównanie wpływu typu narażenia zawodowego na badane parametry, wynikającego z charakterystyk stanowisk pracy dostarczonych przez zakłady pracy. Tak więc w tabeli 8 przedstawiono analizę 3 badanych podgrup: 2 podgrup grupy zasadniczej, tj. pracowników narażonych zawodowo tylko na Pb (n = 41) i pracowników ekspozowanych na ołów i arsen jednocześnie (n = 55) oraz grupy kontrolnej. Średnie stężenia karotenoidów w surowicy nie różniły się istotnie między osobami narażonymi tylko na ołów a grupą narażoną na ołów i arsen jednocześnie (48,62 \pm 16,64 vs. 48,86 \pm 14,41 $\mu\text{g/dl}$, p > 0,05). W obydwu przypadkach stężenia te były istotnie niższe niż stwierdzane w grupie kontrolnej. Rodzaj narażenia zawodowego na metale (tj. tylko na Pb lub jednocześnie na Pb

Tabela 6. Porównanie średnich wartości badanych parametrów w grupie hutników ze względu na stężenie kadmu we krwi pełnej (µg/l)**Table 6.** Average values of estimated parameters in smelters, depending on blood cadmium level (µg/l)

Cecha Parameter	I - Cd < 1,5 n = 29	II - Cd ≥ 1,5 n = 67	p < 0,05 I-II
Pb	343,64 ± 25,74	352,71 ± 14,63	-
As	51,79 ± 5,81 n = 22	67,14 ± 17,35 n = 44	-
FEP	40,02 ± 3,67	70,28 ± 9,86	p < 0,05
KTND	49,79 ± 3,07	48,31 ± 1,82	-

i As), poza zawartością miedzi i manganu w surowicy, nie różnicował w sposób istotny tych podgrup między sobą. Jednocześnie zarówno podgrupa pracowników zatrudnionych w warunkach narażenia na Pb oraz podgrupa ekspozowana zawodowo na Pb i As charakteryzowały się, podobnie jak cała grupa badanych hutników, znamienne wyższymi wskaźnikami przeciążenia i obciążenia organizmu metalami ciężkimi (Pb, Cd, FEP, As) (tab. 8). Dla zachowania przejrzystości, nie umieszczono w tabelach od 4 do 7 średnich stężeń i odchyłeń standardowych innych parametrów niż wskaźniki przeciążenia lub obciążenia organizmu metalami oraz stężeniem karotenoidów, ponieważ nie różnicowały one w sposób istotny analizowanych grup. Pełne tabele są dostępne u autorów.

Tabela 7. Porównanie średnich wartości badanych parametrów w grupie hutników ze względu na wydalanie arsenu z moczem (µg/l)**Table 7.** Average values of estimated parameters in smelters, depending on urine arsenic level (µg/l)

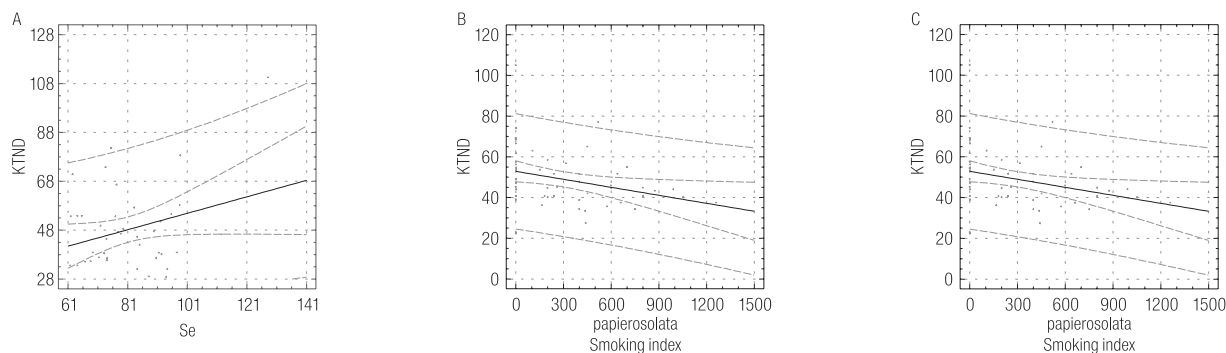
Cecha Parameter	I As < 45 n = 27	II 45 ≤ As < 80 n = 18	III As ≥ 80 n = 10	p < 0,05	p < 0,05		
					I-II	I-III	II-III
Pb	302,93 ± 26,34	414,27 ± 20,33	461,62 ± 34,29	p < 0,001	*	*	-
Cd	2,099 ± 0,28	1,759 ± 0,317	3,138 ± 0,533	p < 0,05	-	*	*
FEP	44,53 ± 5,91	55,27 ± 7,59	97,32 ± 27,72	-	-	*	-
KTND	46,31 ± 1,81	53,08 ± 4,72	48,14 ± 4,2	-	-	-	-

* p < 0,05 między podgrupami.

* p < 0,05 between subgroups).

Tabela 8. Porównanie średnich wartości badanych parametrów w dwu podgrupach hutników tj. narażonych wg charakterystyk stanowisk pracy tylko na ołów lub łącznie na ołów i arsen z grupą kontrolną**Table 8.** Average values of estimated parameters in two subgroup of smelters - those exposed only to lead and those exposed to both lead and arsenic and in control group

Cecha Parameter	I - narażeni na Pb I - exposed to Pb n = 41	II - narażeni na Pb + As II - exposed to Pb + As n = 55	III - grupa kontrolna III - control group n = 81	p < 0,05		
				I- II	I-III	II-III
Wiek Age	44,29 ± 9,18	45,15 ± 8,49	43,10 ± 10,32	-	-	-
Staż pracy Duration of employment	19,44 ± 9,27	20,02 ± 9,49	0,0	-	-	-
Papierosolata Smoking index	394,37 ± 395,12	304,55 ± 329,04	197,16 ± 256,19	-	p < 0,01	p < 0,05
Pb	325,49 ± 109,89	368,22 ± 133,31	52,36 ± 3,38	-	p < 0,001	p < 0,001
Cd	2,66 ± 1,305	2,177 ± 1,515	1,534 ± 1,506	-	p < 0,001	p < 0,05
As	25,43 ± 15,83 n = 11	69,34 ± 102,6 n = 55	16,73 ± 14,15	-	-	p < 0,001
FEP	65,83 ± 90,24	57,64 ± 49,41	22,44 ± 8,39	-	p < 0,001	p < 0,001
Cu	124,74 ± 15,64	112,27 ± 20,51	97,73 ± 1,24	p < 0,005	p < 0,001	p < 0,001
Zn	120,14 ± 15,64	114,62 ± 22,23	114,82 ± 1,1	-	-	-
Ca	96,13 ± 6,61	97,95 ± 7,35	94,83 ± 5,03	-	-	p < 0,005
Mg	19,27 ± 1,16	19,55 ± 1,75	21,16 ± 9,49	-	-	-
Mn	3,279 ± 1,714	2,387 ± 1,923	3,471 ± 1,973	p < 0,005	-	p < 0,005
Se	81,54 ± 14,47	80,75 ± 15,83	68,75 ± 9,4	-	p < 0,001	p < 0,001
KTND	48,62 ± 16,64	48,86 ± 14,41	68,36 ± 21,46	-	p < 0,001	p < 0,001



Ryc. 1. Wybrane istotne statystycznie regresje liniowe: A – zależność między KTND w surowicy a Cd we krwi pełnej w grupie kontrolnej ($r = -0,3406$; $p < 0,05$); B – zależność między KTND w surowicy a wskaźnikiem papierosolat w podgrupie pracowników narażonych na Pb i As ($r = -0,3098$; $p < 0,05$); C – zależność między KTND w surowicy a Se w surowicy w podgrupie pracowników narażonych na Pb ($r = +0,3245$; $p < 0,05$).

Fig. 1. Selected statistical correlations: A – correlation between KTND in serum and blood cadmium level in the control group ($r = -0,3406$; $p < 0,05$); B – correlation between KTND in serum and smoking index in the subgroup occupationally exposed both to lead and arsenic ($r = -0,3098$; $p < 0,05$); C – correlation between KTND in serum and selenium in serum in the subgroup occupationally exposed only to lead ($r = +0,3245$; $p < 0,05$).

W podgrupie hutników narażonych tylko na ołów wg charakterystyk stanowisk pracy ($n = 39$) zwraca uwagę znamienna, dodatnia korelacja między stężeniem karotenoidów w surowicy a stężeniem selenu w surowicy ($r = +0,3245$, $p < 0,05$) (ryc. 1A). W podgrupie hutników narażonych wg charakterystyk stanowisk pracy łącznie na ołów i arsen ($n = 55$) stężenie karotenoidów w surowicy było w sposób istotny ujemnie skorelowane ze wskaźnikiem papierosolat ($r = -0,3098$, $p < 0,05$) (ryc. 1B). W grupie kontrolnej ($n = 81$) stężenie karotenoidów w surowicy było skorelowane ujemnie w sposób istotny statystycznie ze stężeniem kadmu we krwi ($r = -0,3406$) oraz dodatnio ze stężeniem magnezu w surowicy ($r = +0,428$, $p < 0,05$) (ryc. 1C). Ponadto stwierdzono liczne wzajemne znamienne korelacje między wskaźnikami przeciążenia i obciążenia organizmu metalami ciężkimi oraz tych wskaźników z wiekiem lub stażem pracy w narażeniu na metale ciężkie, zarówno w podgrupach badanych hutników, jak również w grupie kontrolnej.

Wyznaczono współczynniki regresji wielokrotnej dla karotenoidów w surowicy w grupie zasadniczej zarówno u hutników narażonych wg charakterystyk stanowisk pracy tylko na ołów, jak również w grupie pracowników narażonych łą-

nie na ołów i arsen. Dla tego wskaźnika opracowano model optymalny (eliminując parametry nieistotne metodą regresji krokowej) oraz model końcowy. Do modelowania zostały wykorzystane następujące parametry: metale ciężkie (Pb, Cd, As), FEP, metale i pierwiastki śladowe (Ca, Mg, Cu, Zn, Mn, Se), wiek oraz staż pracy w narażeniu na metale ciężkie. Analiza regresji wielokrotnej pozwoliła oszacować, w jakim stopniu uwzględnione w pracy parametry (wiek, staż pracy, metale ciężkie i śladowe) objaśniają zmienność stężenia karotenoidów w surowicy krwi. Wyniki badań wykazały bardzo wysokie współczynniki regresji wielokrotnej ($R^2A > 0,91$) we wszystkich analizowanych modelach. Sugeruje to właściwy dobór zmiennych, wykorzystanych do modelowania, gdyż tłumaczą one zmienność stężeń karotenoidów w ok. 91–92% (tab. 9,10).

W podgrupie pracowników narażonych zawodowo tylko na Pb stwierdzono istotną statystycznie zależność stężenia karotenoidów w surowicy od zawartości ołowiu i kadmu we krwi pełnej oraz selenu w surowicy w modelu optymalnym regresji wielokrotnej ($R^2A = 0,9102$; $p < 0,001$) (tab. 9). Natomiast w podgrupie hutników ekspozowanych zawodowo zarówno na ołów i arsen w modelu optymalnym regresji wie-

Tabela 9. Zestawienie wyników regresji wieloczynnikowej liniowej zależności stężenia karotenoidów w surowicy od badanych parametrów w podgrupie pracowników narażonych na Pb

Table 9. Multiple regression analysis – subgroup of smelters occupationally exposed only to lead

	Zmienna Parameter X_i	Współczynnik regresji Regression coefficient b_i	Współczynnik F F-ratio	Błąd estymacji Standard error of estimation	Skorygowany kwadrat współczynnika korelacji wielokrotnej Adjusted R-squared R^2A	Poziom istotności modelu P-value
I Model końcowy Full regression	Cd	3,2872	188,504	15,8534	0,90362	0,0
	Se	0,4835				
	Ca	0,2259				
II Model optymalny Optimal model	Pb	-0,0453	99,617	15,4943	0,910235	0,0
	Cd	3,342				
	Se	0,4003				

Tabela 10. Zestawienie wyników regresji wielokrotnej zależności stężenia karotenoidów w surowicy od badanych parametrów w podgrupie pracowników narażonych na Pb i As**Table 10.** Multiple regression analysis – subgroup of smelters occupationally exposed both to lead and arsenic

	Zmienna Parameter X_i	Współczynnik regresji Regression coefficient b_i	Współczynnik F F-ratio	Błąd estymacji Standard error of estimation	Skorygowany kwadrat współczynnika korelacji wielokrotnej Adjusted R-squared R^2A	Poziom istotności modelu P-value
I Model końcowy Full regression	Ca	0,4464	315,819	14,428	0,91967	0,0
	Mn	2,0834				
II Model optymalny Optimal model	Ca	0,2389	111,598	14,0831	0,924853	0,0
	Zn	0,0882				
	Mn	1,7034				
	As	0,0332				
	FEP	-0,0576				
	Se	0,1523				

lokrotnej na stężenie KTND w surowicy zależało znacząco od zawartości As w moczu, Se w surowicy i FEP w erytrocytach ($R^2A = 0,9249$; $p < 0,001$) (tab. 10).

Ponadto ustalono wartości referencyjne prawidłowego stężenia karotenoidów w surowicy (na podstawie badania grupy kontrolnej) dla dorosłych mężczyzn, które wynosi 46,9–89,82 $\mu\text{g}/\text{dl}$.

OMÓWIENIE

Metale ciężkie, takie jak ołów, kadm, rtęć, a także arsen nie uczestniczą bezpośrednio w wytwarzaniu reaktywnych form tlenu, ale poprzez działanie pośrednie w istotnym stopniu komórkach. Stres oksydacyjny indukowany przez metale ciężkie może obniżyć wydolność układu obronnego antyoksydacyjnego. Zmniejszenie prawdopodobieństwa reakcji metali ciężkich z krytycznymi biomolekułami i indukowanie uszkodzeń oksydacyjnych może być związane z dobroczynną rolą antyoksydacyjnych związków odżywczych, zawartych w pożywieniu, lub dodatkowo egzogennie suplementowanych. Z antyoksydantów najbardziej dobroczynną rolę odgrywają: witamina E, witamina C, witamina B₆, β -karoten, cynk i selen (11). Choć obserwowano korzystną rolę antyoksydantów w profilaktyce zatrucia ołowiem i kadmem, to mechanizm przywracania zachwianej równowagi między anty- i prooksydantami nie jest zupełnie jasny. Oddziaływanie antyoksydantów dietetycznych na toksyczność arsenu praktycznie nie było badane.

W pracy podjęto próbę znalezienia odpowiedzi na pytanie, jaki jest wpływ stresu oksydacyjnego, indukowanego pośrednio przez metale ciężkie, głównie ołów i arsen, na nieenzymatyczne składowe układu oksydoredukcyjnego, w tym przypadku na stężenie karotenoidów w surowicy.

Stężenie karotenoidów było znamienne niższe w grupie zasadniczej ekspozycji hutników w porównaniu do grupy kontrolnej. Stopień wydalania arsenu z moczem ani rodzaj narażenia zawodowego (tylko na Pb lub łącznie na Pb i As) nie różnicowały istotnie badanych hutników pod względem

stężenia karotenoidów w surowicy. Wydaje się więc, że sam fakt narażenia zawodowego na metale, a nie jego rodzaj, prowadzi do zubożenia zawartości karotenoidów w surowicy. Nie stwierdzono znamiennej korelacji między stężeniem arsenu w moczu a stężeniem karotenoidów w surowicy u badanych hutników czy osób z grupy kontrolnej. Jednakże w podgrupie hutników ekspozycji na Pb i As w modelu optymalnym regresji wielokrotnej niespodziewanie zaobserwowano dodatni wpływ arsenu na stężenie karotenoidów w surowicy.

W badaniach własnych autorzy obserwowali wcześniej istotnie niższe stężenia karotenoidów w surowicy u pracowników huty miedzi, narażonych zawodowo na ołów i arsen w porównaniu do grupy kontrolnej (23). W innym dostępnym piśmiennictwie są jedynie skąpe dane na temat związków między narażeniem na arsen a stężeniem karotenoidów w surowicy. Wykazano zależność między częstością występowania choroby niedokrwiennej serca a zawartością arsenu w wodzie pitnej na terenach endemicznych na Tajwanie. W porównaniu do grupy kontrolnej, zaobserwowano istotne, odwrotne korelacje między ryzykiem wystąpienia choroby niedokrwiennej serca a stężeniem α -karotenu i β -karotenu w surowicy. W analizie wieloczynnikowej zaobserwowano, że ryzyko zachorowania na chorobę niedokrwinną serca wzrasta istotnie u osób pijących wodę skażoną arsenem, z niskim stężeniem karotenoidów w surowicy (24). Do kolejnego badania typu follow-up zostało włączonych ponad 650 osób zamieszkałych na terenie endemicznym skażonym arsenem. U 33 osób, u których stwierdzono świeże zachorowanie na nowotwór skóry, wykazano istotnie niższe stężenie β -karotenu w surowicy w porównaniu do grupy kontrolnej (25).

W pracy stwierdzono znamienne niższe stężenie karotenoidów w grupie zasadniczej hutników w porównaniu do grupy kontrolnej ($p < 0,001$). W modelu optymalnym regresji wielokrotnej wykazano znamienne ujemne stężenie ołowiu w podgrupie hutników narażonych tylko na Pb na stężenie karotenoidów w surowicy. Nie obserwowano na-

tomiast zależności między stężeniem surowiczym karotenoidów a wskaźnikami obciążenia lub przeciążenia organizmu ołowiem (Pb we krwi pełnej, FEP w erytrocytach) w analizie wariancji ani analizie korelacji liniowych, chociaż we wcześniejszych badaniach autorów stwierdzono znamienne, ujemną korelację między stężeniem karotenoidów w surowicy a zawartością Pb we krwi pełnej (26).

W piśmiennictwie zagranicznym dostępne są tylko 2 pozycje zajmujące się oddziaływaniem ekspozycji na ołów na zawartość karotenoidów w organizmie. Antyoksydacyjny wpływ *Spirulina multiformis*, błękitnozielonej algi bogatej w β -karoten i enzym SOD, był obserwowany u myszy ekspozycjonowanych na ołów. Stwierdzono znaczące wydłużenie czasu przeżycia w grupie narażonej na ołów po podaniu *S. multiformis* w porównaniu do grupy, która była tylko zatruwana ołowiem (27). Machartowa V. i wsp. (28) wykazali, że suplementacja preparatu zawierającego kombinację licznych antyoksydantów, w tym β -karotenu, prowadziła do znaczącego podwyższenia aktywności enzymów SOD i GSH-Px we krwi i całkowitego potencjału antyoksydacyjnego surowicy oraz obniżenia stężenia nadtlenków lipidów w surowicy u 36 pracowników narażonych zawodowo na ołów.

U przebadanych hutników nie wykazano znaczącego wpływu kadmu we krwi na stężenie karotenoidów w surowicy w analizie wariancji ani analizie korelacji liniowych. Natomiast na stężenie karotenoidów w surowicy istotnie dodatnio wpływało stężenie kadmu we krwi w modelu końcowym i optymalnym u hutników narażonych tylko na Pb. Ponadto stężenie kadmu we krwi korelowało ujemnie ze stężeniem karotenoidów w surowicy u osób zdrowych z grupy kontrolnej. Kadm, pośrednio zwiększając stres oksydacyjny, może stymulować obronne układy antyoksydacyjne i na tej drodze zwiększać stężenie antyoksydantów, w tym karotenoidów, w surowicy u osób narażonych na ten metal z wydolnymi mechanizmami kompensacyjnymi. Osoby z grupy kontrolnej nie były ekspozycjonowane zawodowo na metale ciężkie i wydaje się, że obserwowana ujemna korelacja między zawartością kadmu we krwi a stężeniem karotenoidów może mieć charakter przypadkowy. Hipotetycznie, oddziaływanie kadmu na zawartość karotenoidów w surowicy może zależeć od wielkości ekspozycji na kadm, tzn. w małych dawkach kadm może pobudzać obronę antyoksydacyjną, a w dużych ją hamować.

W piśmiennictwie zagranicznym są dostępne jedynie dwie prace, oceniające wpływ ekspozycji na kadm na stężenia karotenoidów u zwierząt doświadczalnych. W pierwszej pracy wykazano, że podanie dorosłym myszom chlorku kadmu w dawce 0,25 lub 0,5 mg/kg dootrzewnowo powodowało po 48 godzinach istotne statystycznie obniżenie zawartości α -karotenu w nerkach i jądrach w obu zatrutowanych grupach, natomiast nie wpływało na zawartość α -karotenu w wątrobie (29). W drugim badaniu El-Missiry M.A i wsp. (30) wykazali, że u szczurów przewlekłe zatrutowane kadmem (2 mg/kg) dochodziło w jądrach i mózgu do zwiększenia stężenia TBARS (substancje reaktywne kwasu tiobarbiturowego) i LPO (nadtlenków lipidów), zwiększenia aktywności

dehydrogenazy mleczanowej (LDH), zmniejszenia aktywności SOD, transferazy glutationu (GST) i ATP-azy oraz obniżenia zawartości GSH w tych narządach. Stwierdzono, że podawanie dożołądkowe β -karotenu (250 UI/kg) w trakcie ekspozycji na kadm pozwalało zapobiegać wymienionym zaburzeniom aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz pomagało utrzymać zasoby zredukowanego glutationu w mózgu i jądrach zatrutowanych zwierząt. Natomiast u pracowników huty miedzi narażonych zawodowo na ołów i arsen stężenie karotenoidów korelowało istotnie w sposób ujemny z zawartością kadmu we krwi pełnej (26).

Zjawisko, że każdy pojedynczy antyoksydant, działający samodzielnie, może być mniej skuteczny niż kombinacja dopełniających się czynników, wynika z faktu, że wiele reakcji antyoksydacyjnych w organizmie jest ze sobą wzajemnie powiązanych. Witaminy antyoksydacyjne i związki tiolowe działają synergistycznie i wzmacniają swoje działanie ochronne na drodze wzajemnej regeneracji z formy utlenionej do postaci zredukowanej albo dzięki neutralizacji reaktywnych form tlenu. Metale, jak cynk i mangan oraz miedź wchodzi w skład centrów aktywnych enzymów ochronnych (np. SOD), które są odpowiedzialne za dysmutację rodników nadtlenkowych, tak więc metale te pośrednio wykazują aktywność antyoksydacyjną. Miedź dodatkowo jest kofaktorem wielu enzymów typu oksydaz i oksygenaz. Do funkcji biochemicznych cynku należy stabilizacja błon komórkowych oraz zdolność do zastępowania jonów metali obdarzonych właściwościami redoksoowymi (np. $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$) z niefizjologicznych miejsc ich wiązania, w których generują one produkcję wolnych rodników. Z drugiej strony niektóre metale, jak żelazo, miedź czy mangan (z wyjątkiem cynku), katalizują tworzenie reaktywnych form tlenu w reakcji typu Fentona i mogą być pośrednio odpowiedzialne za peroksydację lipidów błon komórkowych (1,2). Obserwacje te są zgodne z wynikami uzyskanymi w tej pracy. Analiza korelacji liniowych wykazała liczne wzajemne zależności, obserwowane wśród osób narażonych na metale ciężkie oraz w grupie kontrolnej między pierwiastkami śladowymi oraz pomiędzy karotenoidami i pierwiastkami śladowymi. Wskazuje to na prawidłową mobilizację układu antyoksydacyjnego i współdziałanie mechanizmów ochronnych, mających na celu neutralizację wpływu stresu oksydacyjnego, wywołanego szkodliwym działaniem metali ciężkich. Zmiany zawartości metali śladowych (istotnie wyższe stężenie Cu i Ca oraz niższe stężenie Mn w surowicy u osób narażonych) w porównaniu do grupy kontrolnej potwierdzają powyższą hipotezę i świadczą o modyfikacji różnych elementów układu antyoksydacyjnego, w celu zapewnienia jak najskuteczniejszej obrony organizmu przed niekorzystnym oddziaływaniem wolnych rodników.

Związki selenu odgrywają szczególnie istotną biologiczną rolę w neutralizowaniu i usuwaniu z organizmu różnych metali ciężkich, głównie rtęci, a także ołowiu, kadmu, żelaza, chromu i arsenu (31,32). Przypuszczalny ochronny efekt selenu przed toksycznym wpływem kadmu wynika ze zmiany powinowactwa kadmu, który zamiast przyłączać się do białek

o niskiej wadze cząsteczkowej, jak metalotioneiny, wiąże się z białkami wysoko cząsteczkowymi. Uwolniona dzięki temu metalotioneina może prawidłowo pełnić rolę kontrolującą homeostazę pierwiastków śladowych (16). Wykazano, że selen może zapobiegać hamowaniu przez ołów dehydrogenazy bursztynianowej, esterazy acetylocholinowej i Na^+/K^+ -ATP-azy w mózgu szczurów. Ponadto selen może aktywować ALAD, zablokowaną wcześniej przez ołów, i potęgować korzystny efekt chelatonowania ołowiu u szczurów zatrutych tym metalem. Natomiast w przypadku arsenu duże podobieństwo chemiczne między selenem i arsenem generalnie prowadzi do antagonizmu między obu tymi metalami. Dzięki temu antagonizmowi selen zmniejsza toksyczność arsenu, a arsen selenu (16). Sugeruje się, że protekcyjny wpływ selenu przed toksycznym oddziaływaniem metali ciężkich może także wynikać z właściwości antyoksydacyjnych selenu i zmniejszania stresu oksydacyjnego, indukowanego przez metale ciężkie. Ten efekt ochronny wynika przede wszystkim z działania selenozależnej peroksydazy glutationowej (GSH-Px) oraz innych enzymów, zawierających selen w centrum katalitycznym (31,32), gdyż, jak wspomniano wcześniej, u podłoża toksycznego oddziaływania metali ciężkich leży wiązanie z grupami sulfhydrylowymi białek i związków niskocząsteczkowych (10,11).

Stężenie selenu było znamienne wyższe w populacji hutników ekspozowanych na metale ciężkie niż w grupie kontrolnej. Ponadto selen dodatkowo korelował ze stężeniem karotenoidów u pracowników narażonych zawodowo na Pb oraz ze stężeniem miedzi u osób narażonych na Pb i As. W analizie regresji wielokrotnej obserwowano istotny dodatni wpływ selenu na zawartość karotenoidów w surowicy zarówno u hutników narażonych zawodowo tylko na ołów, jak również ekspozowanych na ołów i arsen. Wskazuje to na istotną rolę selenu w kształtowaniu obrony antyoksydacyjnej organizmu człowieka, zwłaszcza w sytuacji narażenia na substancje szkodliwe oraz o wzajemnym potęgowaniu działania ochronnego przed stresem oksydacyjnym wspólnie z pierwiastkami śladowymi i karotenoidami.

Wyniki przeprowadzonej analizy statystycznej wskazują, że organizmy ludzkie mogą wykazywać skłonność do wzmożonego wchłaniania kilku metali ciężkich jednocześnie i sugerują wyższe ryzyko wystąpienia skutków toksycznych przy ekspozycji mieszanej na metale ciężkie. Zaobserwowano liczne wzajemne statystycznie istotne dodatnie korelacje (Pb - FEP, Pb - Cd, Cd - FEP, As - FEP) w różnych grupach i podgrupach badanych hutników i w grupie kontrolnej. Narażeni hutnicy z większą zawartością metali ciężkich we krwi lub moczu wykazywali również wyższe (istotnie lub nieistotnie statystycznie) stężenia innych wskaźników przeciążenia lub obciążenia metalami ciężkimi w analizie wariancji (Pb, FEP, Cd, As). Podobne obserwacje były stwierdzane w corocznych, prowadzonych od kilku lat, badaniach nad stanem zdrowia pracowników Instytutu Metali Nieżelaznych oraz Huty Miedzi Legnica, gdzie wykazywano wzajemne korelacje Pb, FEP, Cd i As (dane niepublikowane, ale zawarte w raportach AM dla HML i IMN).

Metale wchodzą w interakcje między sobą, a skutki zatrucia nie zawsze można przewidzieć, biorąc pod uwagę mechanizm toksyczności poszczególnych metali osobno. Ekspozycja na metale ciężkie rzadko ma charakter izolowany. Narażenie środowiskowe, w związku rozwojem przemysłu i motoryzacji, ma charakter mieszany. Również ekspozycja zawodowa w hutach metali ciężkich, także w Hucie Miedzi Legnica i Instytucie Metali Nieżelaznych w Legnicy ma charakter mieszany. W badaniach wykazano, że łączna ekspozycja na metale powoduje inne, często większe, skutki toksyczne, niż powodowałby każdy metal osobno (33). Dalsze badania nad interakcjami metali i wpływem na ich ostateczną toksyczność mogą być niezwykle istotne w przewidywaniu niekorzystnych skutków mieszanej, najczęściej spotykanej, ekspozycji zawodowej lub środowiskowej.

Dym tytoniowy jest uznawany za istotny czynnik zwiększający ryzyko wystąpienia wielu zagrażającym życiu schorzeniom, głównie układu krążenia i oddechowego, jak również raka płuc i innych nowotworów (34-36). W dymie papierosowym znajduje się ponad 4700 substancji, w większości toksycznych lub kancerogennych, w tym metale ciężkie (36). Frakcja gazowa dymu tytoniowego zawiera ok. 10^{15} /puff rodników organicznych i nieorganicznych (rodnik ponadtlenkowy, nadtlenek wodoru, rodnik hydroksylowy), epoksydy, tlenek azotu, dwutlenek azotu, peroksynitryl i inne. We frakcji smolistej dominują stabilne rodniki organiczne, w ilości ok. 10^{18} /g, jak polifenole, które mogą pobudzać wytwarzanie innych rodników (36).

Zarówno czynne palenie tytoniu, jak i wtórna ekspozycja na dym tytoniowy (palenie bierne) prowadzi do podwyższenia stężeń metali ciężkich w organizmie (37,38). W papierosach najpopularniejszych marek, dostępnych na polskim rynku, przeciętna zawartość tego metalu wynosi 0,52-1,95 $\mu\text{g/g}$. Natomiast zawartość kadmu w papierosach dostępnych na polskim rynku wynosi średnio 0,98-4,15 $\mu\text{g/g}$ (39). Analiza strumienia głównego dymu tytoniowego wykazała zawartość metali ciężkich w stężeniach wynoszących odpowiednio: As - $6,0 \pm 0,5$, Cd - $69,3 \pm 2,8$ i Pb - $42,0 \pm 2,1$ ng/papieros (7). Natomiast oznaczenie stężeń metali w tym samych papierosach, ale wykonane w strumieniu bocznym dymu tytoniowego, pozwoliło na stwierdzenie zawartości metali w ilości: As - $27,3 \pm 2,1$, Cd - 412 ± 14 i Pb - $43,8 \pm 2,0$ ng/papieros (8). Ok. 5% zawartego w papierosach ołowiu jest inhalowane, reszta znajduje się w strumieniu bocznym i w popiele. Komisja Toksykologiczna Rady Sanitarno-Epidemiologicznej szacuje, że inhalowanych jest ok. 10% kadmu zawartego w papierosach. Przy wypalaniu 20 papierosów dziennie wchłanianie się do organizmu ok. 3,6-6,0 μg tego metalu (38).

Dominującym szkodliwym oddziaływaniem dymu tytoniowego są różnorakie uszkodzenia oksydacyjne biomolekuł - białek, lipidów i kwasów nukleinowych (34,36). Narażenie na dym tytoniowy w badaniach *in vitro* i *in vivo* powodowało znaczące niedobory antyoksydantów we krwi i w tkankach, zwłaszcza witaminy C, witaminy E, β -karotenu, selenu i innych pierwiastków śladowych (34,36). Niedobory ważnych

składników mogą być spowodowane mniejszym ich spożyciem oraz zwiększonym zapotrzebowaniem na te związki (35). Skutki „wybuchu tlenowego” w leukocytach u palaczy mogą być częściowo zniwelowane poprzez podawanie różnych antyoksydantów osobno lub w różnych kombinacjach, co obserwowano przy suplementacji witaminy C, witaminy E, β -karotenu i seleniu u palących (34,36). Należy jednak zaznaczyć, że wyniki niektórych badań, np. CARET (the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial) i ATBC (the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Trial) kwestionują protekcyjną rolę β -karotenu w warunkach stresu oksydacyjnego, indukowanego przez dym tytoniowy. Wytlumaczeniem tego zjawiska może być hipoteza, że prooksydacyjne działanie β -karotenu, które zachodzi wskutek własnej oksydacji, pod wpływem nasilonego stresu oksydacyjnego w płucach palaczy tytoniu lub u narażonych na azbest, może nasilać stan oksydacyjny komórek i sprzyjać promocji guza nowotworowego (40).

Przebadana grupa hutników charakteryzowała się zdecydowanie wyższym wskaźnikiem papierosolat (ilozyn wypalanych papierosów w ciągu doby i lat trwania nałogu tytoniowego) w porównaniu do grupy kontrolnej. W podgrupie hutników palących stwierdzono istotnie wyższe stężenie kadmu we krwi niż u pracowników niepalących (również pracownicy o najwyższej zawartości Cd we krwi wykazywali znacząco wyższy wskaźnik papierosolat w porównaniu do osób z niższym stężeniem tego metalu we krwi). Ponadto stężenie Cd we krwi istotnie dodatnio korelowało ze wskaźnikiem papierosolat w podgrupie narażonych łącznie na Pb i As oraz w grupie kontrolnej. Obserwacje te są zgodne z przedstawionymi wyżej danymi z piśmiennictwa, które określają nałóg palenia tytoniu jako ważne źródło metali ciężkich dla człowieka. Niepokojący jest jednak wyższy wskaźnik papierosolat w badanych grupach hutników w porównaniu do grupy kontrolnej. Łączne narażenie na metale ciężkie – zawodowe i środowiskowe (palenie tytoniu) łatwiej i w większym stopniu może zaburzać homeostazę organizmu.

Istotna ujemna korelacja liniowa między wskaźnikiem papierosolat ze stężeniem karotenoidów w surowicy u hutników narażonych na Pb i As jest zgodna z danymi dostępnymi w literaturze, gdzie również stwierdzano u palaczy papierosów niedobory witamin antyoksydacyjnych, w tym β -karotenu, wykazujących działanie ochronne wobec reaktywnych form tlenu (26,34,36). Potwierdza to większe natężenie stresu oksydacyjnego i większe zapotrzebowanie na czynniki antyoksydacyjne u osób palących tytoń w porównaniu do ludzi niepalących.

Wyniki analizy wariancji nie wykazały istotnych różnic stężeń karotenoidów w surowicy wśród hutników uzależnionych od nałogu palenia tytoniu w porównaniu do hutników niepalących, chociaż w całej badanej populacji hutników stężenie karotenoidów było znamienne niższe niż w grupie kontrolnej. Najlepszym sposobem zapobiegania niekorzystnym skutkom zdrowotnym jest zaprzestanie palenia tytoniu. Niemniej jednak, ponieważ palenie tytoniu jest wyjątkowo uzależniające, a próby zaprzestania są często wieńczone niepowodzeniem,

tak więc bardzo pożądane jest znalezienie skutecznego czynnika protekcyjnego. Osoby narażone zawodowo na metale ciężkie i dodatkowo palące papierosy mogą stanowić grupę, która potencjalnie odniesie największe korzyści z egzogennej profilaktycznej suplementacji witamin antyoksydacyjnych.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że w ocenie następstw narażenia zawodowego na metale główną ideą badań winno być wykrywanie niekorzystnych zmian biologicznych, wywołanych ekspozycją w ich wczesnej fazie i niedopuszczenie do ich utrwalenia. Dużą rolę w tym zakresie odgrywają skuteczne działania profilaktyczne. Istotne jest również poszukiwanie czułych markerów uszkodzeń funkcji organizmów narażonych na substancje toksyczne jeszcze na etapie zmian subklinicznych, czyli w okresie zmian bezobjawowych. Poznanie mechanizmów zachodzących w organizmach żywych, stwarza realne możliwości wprowadzenia nowych sposobów profilaktyki, jak i intensyfikacji leczenia chorób. Wskazuje to na potrzebę prowadzenia dalszych badań, analizujących wpływ toksycznego oddziaływania metali ciężkich na organizm człowieka, a zwłaszcza na procesy oksydoredukcyjne.

WNIOSKI

1. W pracy wykazano, że narażenie zawodowe na metale ciężkie, głównie ołów i arsen, może prowadzić do zmniejszenia zasobów karotenoidów, które wykazują działanie antyoksydacyjne przed prooksydacyjnym działaniem metali ciężkich.

2. Zaobserwowano zwiększoną zdolność do pochłaniania jednocześnie kilku metali ciężkich u pracowników ekspozowanych zawodowo, co może zwiększać ryzyko wystąpienia niekorzystnych skutków zdrowotnych u tych osób.

3. W pracy stwierdzono, że palenie tytoniu, jako źródło metali ciężkich i wolnych rodników, może nasilać niekorzystny wpływ metali ciężkich.

4. Należy rozważyć potencjalne wskazania do suplementacji karotenoidami pracowników pracujących w narażeniu na metale ciężkie.

5. Ustalono wartości referencyjne (na podstawie grupy kontrolnej) prawidłowego stężenia karotenoidów w surowicy dla dorosłych mężczyzn (46,9–89,82 $\mu\text{g/dl}$).

PIŚMIENNICTWO

1. Liczmański A.E.: Toksyczność tlenu. I. Uszkodzenia żywych komórek. *Post. Bioch.* 1988; 34: 293–310.
2. Liczmański A.E.: Toksyczność tlenu. II. Mechanizmy ochronne. *Post. Bioch.* 1988; 34: 273–291.
3. Handelman G.J.: The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition* 2001; 17: 818–822.
4. Krinsky N.I.: The carotenoids as anti-oxidants – a review. *J. Photochem. Photobiol. B.* 1997; 41: 189–200.
5. Palace V.P., Khaper N., Qin Q., Singal P.K.: Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic. Biol. Med.* 1999; 26: 746–761.

6. Edge R., McGarvey D.J., Truscott T.G.: The carotenoids as anti-oxidants – a review. *J. Photochem. Photobiol. B.* 1997; 41: 189–200.
7. Torrence K.M., McDaniel R.L., Self D.A., Chang M.J.: Slurry sampling for the determination of arsenic, cadmium, and lead in mainstream cigarette smoke condensate by graphite furnace-atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2002; 372: 723–731.
8. Wagner K.A., McDaniel R., Self D.: Collection and preparation of side-stream cigarette smoke for trace elemental determinations by graphite furnace atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. AOAC Int.* 2001; 84: 1934–1940.
9. Zawadzka T., Brulińska-Ostrowska E., Wojciechowska-Mazurek M., Ćwiek K., Starska K.: Cadmium and lead levels in domestic and imported cigarettes. *Rocz. Państw. Zakł. Hig.* 1989; 40: 145–152.
10. Gurer H., Ercal N.: Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 29: 927–945.
11. Hsu P.C., Guo Y.L.: Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology* 2002; 180: 33–44.
12. Stohs S.J., Bagchi D.: Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic. Biol. Med.* 1995; 18: 321–336.
13. Skoczyńska A.: Peroksydacja lipidów w toksycznym działaniu ołowiu i kadmu. *Med. Pr.* 1997; 48: 197–203.
14. Bechara E.J.: Oxidative stress in acute intermittent porphyria and lead poisoning may be triggered by 5-aminolevulinic acid. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1996; 29: 841–851.
15. Antonowicz J., Andrzejak R., Lepetow T.: Influence of heavy metals, especially lead, on lipid metabolism, serum alpha-tocopherol level, total antioxidant status, and erythrocyte redox status of copper smelter workers. *Fresenius J. Anal. Chem.* 1998; 361: 365–367.
16. Peraza M.A., Ayala-Fierro F., Barber D.S., Casarez E., Rael L.T.: Effects of micronutrients on metal toxicity. *Environ. Health. Perspect.* 1998; 106 Suppl. 1: 203–216.
17. Barchowsky A., Klei L.R., Dudek E.J., Swartz H.M., James P.E.: Stimulation of reactive oxygen, but not reactive nitrogen species, in vascular endothelial cells exposed to low levels of arsenite. *Free Radic. Biol. Med.* 1999; 27: 1405–1412.
18. Carter D.E.: Oxidation-reduction reactions of metal ions. *Environ. Health Perspect.* 1995; 103 Suppl. 1: 17–19.
19. Mylona P.V., Polidoros A.N., Scandalios J.G.: Modulation of antioxidant responses by arsenic in maize. *Free Radic. Biol. Med.* 1998; 25: 576–585.
20. Ramanathan K., Balakumar B.S., Panneerselvam C.: Effects of ascorbic acid and alpha-tocopherol on arsenic-induced oxidative stress. *Hum. Exp. Toxicol.* 2002; 21: 675–680.
21. Piomelli S.: A micromethod for free erythrocyte porphyrins: the FEP test. *J. Lab. Clin. Med.* 1973; 81: 932–940.
22. Oliver L.K.: Colorimetric analysis of vitamin A and carotene. *Methods Enzymol.* 1980; 67: 199–203.
23. Chlebda E., Antonowicz-Juchniewicz J., Andrzejak R.: Wpływ ekspozycji zawodowej na ołów i arsen na stężenie karotenoidów w surowicy. IX Sympozjum „Zagrożenia zdrowotne w środowisku pracy”, 17–19 września 2003; Łódź. Polskie Towarzystwo Higienistów Przemysłowych, Instytut Medycyny Pracy, Łódź 2003.
24. Hsueh Y.M., Chiou H.Y., Huang Y.L., Wu W.L., Huang C.C., Yang M.H. i wsp.: Serum beta-carotene level, arsenic methylation capability, and incidence of skin cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1997; 6: 589–596.
25. Hsueh Y.M., Wu W.L., Huang Y.L., Chiou H.Y., Tseng C.H., Chen C.J.: Low serum carotene level and increased risk of ischemic heart disease related to long-term arsenic exposure. *Atherosclerosis* 1998; 141: 249–257.
26. Chlebda E., Antonowicz-Juchniewicz J., Andrzejak R.: The effects of occupational exposure to heavy metals and arsenic on non-enzymatic antioxidants mechanisms. VIII International Symposium on Inorganic Biochemistry “Metals in Environment and Medicine”, 19–22 września 2002, Szklarska Poręba. Akademia Medyczna, Wrocław 2002.
27. Shastri D., Kumar M., Kumar A.: Modulation of lead toxicity by *Spirulina fusiformis*. *Phytother. Res.* 1999; 13: 258–260.
28. Machartova V., Racek J., Kohout J., Senft V., Trefil L.: Effects of antioxidant therapy on indicators of free radical activity in workers at risk of lead exposure. *Vnitr. Lek.* 2000; 46: 444–446.
29. Massanyi P., Bardos L., Opperl K., Hluchy S., Kovacic J., Csicsai G. i wsp.: Distribution of cadmium in selected organs of mice: effects of cadmium on organ contents of retinoids and beta-carotene. *Acta Physiol. Hung.* 1999; 86: 99–104.
30. El-Missiry M.A., Shalaby F.: Role of beta-carotene in ameliorating the cadmium-induced oxidative stress in rat brain and testis. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2000; 14: 238–243.
31. Rayman M.P.: The importance of selenium to human health. *Lancet* 2000; 356: 233–241.
32. Navarro-Alarcon M., Lopez-Martinez M.C.: Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *Sci. Total. Environ.* 2000; 249: 347–371.
33. Madden E.F., Fowler B.A.: Mechanisms of nephrotoxicity from metal combinations: a review. *Drug. Chem. Toxicol.* 2000; 23: 1–12.
34. Elsayed N.M., Bendich A.: Dietary antioxidants: potential effects on oxidative products in cigarette smoke. *Nutr. Research* 2001; 21: 551–567.
35. Nazarewicz R., Babicz-Zielińska E.: Wpływ palenia tytoniu na zdrowie i preferencje żywieniowe palaczy. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2000; 3: 257–262.
36. Rahman I., MacNee W.: Role of oxidants/antioxidants in smoking-induced lung diseases. *Free Radic. Biol. Med.* 1996; 21: 669–681.
37. Dawson E.B., Evans D.R., Harris W.A., Teter M.C., McGanity W.J.: The effect of ascorbic acid supplementation on the blood lead levels of smokers. *J. Am. Coll. Nutr.* 1999; 18: 166–170.
38. Raport Komisji Toksykologicznej Rady Sanitarno-Epidemiologicznej: Ogólna ocena toksykologiczna zagrożeń kadmem w Polsce. *Med. Pr.* 1995; 46 Supl. 5: 7–26.
39. Zawadzka T., Brulińska-Ostrowska E., Wojciechowska-Mazurek M., Ćwiek K., Starska K.: Cadmium and lead levels in domestic and imported cigarettes. *Rocz. Państw. Zakł. Hig.* 1989; 40: 145–152.
40. Astorg P.: Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. *Trends Food Sci. Technol.* 1997; 8: 406–413.