

Rafał Poręba¹
Anna Skoczyńska¹
Arkadiusz Derkacz²
Anna Wojakowska¹
Barbara Turczyn¹

WPŁYW PALENIA TYTONIU NA CZYNNOŚĆ ŚRÓDBŁONKA NACZYNIOWEGO U MĘŻCZYZN ZAWODOWO NARAŻONYCH NA DZIAŁANIE OŁOWIU*

THE INFLUENCE OF TOBACCO SMOKING ON ENDOTHELIAL FUNCTION IN MEN OCCUPATIONALLY EXPOSED TO LEAD

¹ Z Kliniki Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego

² Z Kliniki Kardiologii

Akademii Medycznej we Wrocławiu

STRESZCZENIE

Wstęp. Jednym z następstw palenia tytoniu i ekspozycji zawodowej na działanie ołowiu jest uszkodzenie śródbłonka naczyniowego. Celem pracy była ocena wpływu palenia papierosów na biochemiczne wskaźniki funkcji śródbłonka naczyniowego w grupie mężczyzn zawodowo narażonych na działanie ołowiu. **Materiał i metody.** Badaniem objęto 105 mężczyzn: 43 hutników (średnia wieku 49,9 ± 4,1) oraz 62 mężczyzn nienarażonych na działanie ołowiu (średnia wieku 47,1 ± 9,3), stanowiących grupę kontrolną. U wszystkich badanych oznaczono we krwi stężenie lipidów, biochemiczne wskaźniki funkcji śródbłonka naczyniowego (tlenek azotu, endotelina-1, sICAM-1 i selektyna-E) oraz markery reakcji zapalnej (interleukina-1β, interleukina-6). **Wyniki.** W grupach mężczyzn palących papierosy, zarówno w grupie zawodowo narażonych na działanie ołowiu, jak i w grupie kontrolnej, stężenie tlenu azotu w surowicy było obniżone w porównaniu do mężczyzn niepalących. W surowicy osób zawodowo narażonych na działanie ołowiu stężenie sICAM-1 było podwyższone w odniesieniu do mężczyzn z grupy kontrolnej. Efektem współdziałania między paleniem tytoniu i ekspozycją na ołów był brak fizjologicznej zależności między stężeniami tlenu azotu i endoteliny-1 w surowicy. **Wnioski.** Pracownicy zatrudnieni w narażeniu na ołów powinni być informowani o szkodliwych następstwach palenia tytoniu w aspekcie interakcji ze skutkami toksycznego wpływu ołowiu na układ krążenia. Med. Pr. 2004; 55 (2): 145–151

SŁOWA KLUCZOWE: ołów, śródbłonek naczyniowy, palenie tytoniu, miażdżycza

ABSTRACT

Background: Endothelial dysfunction is a pathology resulting from smoking and occupational exposure to lead. The aim of the study was to examine the influence of cigarette smoking on biochemical parameters of endothelial function in people occupationally exposed to lead. **Materials and Methods:** The study covered 105 men, including 43 lead exposed copper-smelters (mean age 49.9 ± 4.1) and 62 non-exposed men (mean age 47.3 ± 9.3) formed the control group. In all subjects, peripheral blood lipid concentrations, biochemical parameters of endothelial function (nitric oxide, endothelin-1, sICAM-1, selectin-E) and inflammation parameters (interleukin-1β, interleukin-6) were measured. **Results:** In the group of smokers, including both copper-smelters and control subjects, serum nitric oxide concentrations were lower than in non-smokers. In the serum of men occupationally exposed to lead, sICAM-1 concentrations were higher than in the control group. The lack of physiological correlation between serum concentration of nitric oxide and endothelin-1 resulted from interactions of tobacco smoking with lead exposure. **Conclusions:** Workers occupationally exposed to lead should be informed about adverse effects of tobacco smoking in terms of the interaction between nicotine and lead, two combined toxic agents affecting the circulatory system. Med Pr 2004; 55 (2): 145–151

KEY WORDS: lead, vascular endothelium, tobacco smoking, atherosclerosis

Adres autorów: Pasteura 4, 50-367 Wrocław, e-mail: sogood@poczta.onet.pl

Nadesłano: 20.10.2003

Zatwierdzono: 5.03.2004

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

WSTĘP

Palenie tytoniu jest jednym z najważniejszych czynników ryzyka miażdżycy i choroby niedokrwiennej serca (1). W krajach wysoko rozwiniętych związane jest z przedwczesną śmiertelnością z przyczyn sercowo-naczyniowych (2). Niekorzystny wpływ palenia papierosów potęguje działanie innych czynników ryzyka na układ krążenia. Palenie zmniejsza stężenie HDL cholesterolu w surowicy krwi. W badaniach epidemiologicznych wykazano, że stężenie cholesterolu HDL jest u palących mężczyzn o 12%, a u palących kobiet o 7% mniejsze w porównaniu z osobami niepalącymi (3). Palenie tytoniu może wywierać odwracalne zmiany w metabolizmie i strukturze chemicznej HDL cholesterolu poprzez modyfikowanie aktywności acylotransferazy

lecytynowo-cholesterolowej (LCAT). W badaniach *in vitro*, aktywność LCAT w osoczu ludzkim, ekspozowanemu przez 15 minut na gazową fazę dymu tytoniowego, zmniejszała się o 7% (4). Palenie wywiera niekorzystny wpływ na przepływ wieńcowy, zwiększając ryzyko wystąpienia skurczu naczyń. Zwiększa stężenie fibrynogenu we krwi oraz zwiększa stopień agregacji płytek krwi (5). Dym tytoniowy wpływa również niekorzystnie na funkcję śródbłonka naczyniowego, zmniejszając produkcję tlenu azotu, zwiększając wytwarzanie endoteliny-1 oraz nasilając ekspresję cząsteczek adhezji (6,7,8). Zaprzeszczenie palenia papierosów poprawia funkcję płytek krwi, zmniejszając ich agregację i zwiększając poziom wewnątrzcytoplazmatycznego cAMP (9). Redukuje także ryzyko wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych. Wykazano, że 12-tygodniowa abstynencja od tytoniu zmniejszała o 5,6% stężenie LDL cholesterolu i zwiększała o 3,4% stężenie HDL cholesterolu w surowicy krwi (9).

* Praca finansowana w ramach projektu badawczego KBN nr 6 P05D 100 21 pt. „Ocena funkcji śródbłonka naczyniowego u pracowników huty między narażonych na działanie ołowiu”. Kierownik projektu: dr hab. A. Skoczyńska.

Badania epidemiologiczne i doświadczalne wskazują na miażdżycorodne działanie ołowiu. Zasadniczym mechanizmem tego działania są zaburzenia w metabolizmie lipidów oraz zmniejszanie aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Wiadomo, że w następstwie działania ołowiu może wystąpić hiperlipidemia oraz wzrost stężenia nadtlenków lipidów w surowicy. Ołów jest metalem o udokumentowanym działaniu cytotoksycznym w stosunku do komórek śródbłonka naczyniowego *in vitro* (10,11,12). W stężeniach mniejszych niż cytotoksyczne, powoduje uwalnianie czynników prokoagulacyjnych i chemotaktycznych. W badaniach *in vivo* u osób narażonych, ołów nasila ekspresję cząsteczek adhezyjnych śródbłonka (selektyny-E, sICAM-1) oraz cytokin (IL-6, IL-8) (13). Może również zwiększać stężenie białek ostrej fazy (14) oraz oddziaływać na syntezę białek szoku termicznego (15). Wszystkie te czynniki odgrywają istotną rolę w powstawaniu uszkodzenia miażdżycowego. Wykazana w świetle ostatnich badań rola metalotionein, obecnych w niedojrzałych komórkach T, chronionych przed apoptozą (16), może mieć znaczenie w opóźnionym dojrzewaniu makrofagów w procesie miażdżycowym.

Powyższe dane wskazują, że zarówno palenie tytoniu, jak i ekspozycja na działanie ołowiu są czynnikami powodującymi dysfunkcję śródbłonka naczyniowego. Dysfunkcja śródbłonka oznacza zaburzenie równowagi między działaniem czynników rozszerzających i zwężających naczynia, będąc najczęściej wynikiem utraty zdolności odpowiedzi naczyniorozszerzającej, zależnej od tlenu azotu, a także zmniejszeniem produkcji lub dostępności tlenu azotu (NO) (17). Zmniejszona biodostępność tlenu azotu najczęściej skojarzona jest z nadmierną produkcją endoteliny-1 (ET-1) (18,19). Dysfunkcja śródbłonka ma udział w patogenezie i przebiegu klinicznym wszystkich znanych chorób układu krążenia i wiąże się ze zwiększonym ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych (20,21). Występuje w odpowiedzi na działanie czynników ryzyka chorób układu krążenia i poprzedza rozwój miażdżycy (22). Promuje procesy miażdżycowe zarówno na ich wczesnych, jak i późnych etapach. Zmiany wczesne obejmują, między innymi, wzrost ekspresji cząsteczek adhezji (sICAM, sVCAM, selektyna-E), zwiększone wydzielanie chemokin i czynników przylegania leukocytów, wzrost przepuszczalności komórek, nasilone utlenianie LDL, aktywację płytek, wzrost produkcji cytokin oraz proliferację i migrację komórek mięśni gładkich (23).

Celem pracy była ocena wpływu palenia tytoniu na biochemiczne wskaźniki funkcji śródbłonka naczyniowego w grupie mężczyzn zawodowo narażonych na działanie ołowiu w odniesieniu do osób nienarażonych. Kolejnym celem badania była próba odpowiedzi na pytanie, czy występuje interakcja między paleniem tytoniu i ekspozycją na działanie ołowiu w oddziaływaniu na funkcję śródbłonka naczyniowego. Badaniom poddano osoby z podobnymi wartościami lipidów w surowicy. Umożliwiło to ocenę wpływu tytoniu i działania ołowiu na śródbłonek naczyniowy w aspekcie pozalipidowym.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto 105 osób: 43 mężczyzn, pracowników huty miedzi, zawodowo narażonych na działanie ołowiu oraz 62 zdrowych mężczyzn, stanowiących grupę kontrolną. Mężczyźni włączeni do badania nie chorowali na cukrzycę, chorobę niedokrwienną serca, nadciśnienie tętnicze ani inne choroby metaboliczne, które mogłyby mieć wpływ na funkcję śródbłonka naczyniowego.

Osoby z grupy badanej to mężczyźni w wieku od 35 do 59 lat (średnio $49,9 \pm 4,1$), którzy pracują w hucie miedzi na stanowiskach bezpośrednio związanych z działaniem metali ciężkich, przede wszystkim ołowiu, to jest na wydziale metalurgicznym i przygotowania wsadu (wytapiacz metali, rafiniarz, konwertorowy). Staż pracy na tych stanowiskach wynosił od 10 do 24 lat (średnio $17,5 \pm 7,2$). Średnie stężenie ołowiu (Pb) we krwi w tej grupie wynosiło $468,31 \pm 86,38 \mu\text{g/l}$, kwasu deltaaminolewulinowego (ALA) w moczu: $4,27 \pm 1,38 \text{ mg/l}$ oraz wolnych protoporfiryn erytrocytarnych (FEP): $36,81 \pm 5,45 \mu\text{g/dl}$.

W badanej grupie 22 mężczyzn paliło papierosy, średnio 15 papierosów przez 5 lat. Średnie stężenie ołowiu (Pb) we krwi w podgrupie hutników palących papierosy wynosiło $481,39 \pm 111,79 \mu\text{g/l}$, kwasu deltaaminolewulinowego (ALA) w moczu: $4,63 \pm 1,40 \text{ mg/l}$ oraz wolnych protoporfiryn erytrocytarnych (FEP): $36,61 \pm 8,47 \mu\text{g/dl}$. Pozostałe osoby z grupy badanej nigdy w przeszłości nie paliły papierosów oraz miały ograniczony kontakt z dymem tytoniowym. Średnie stężenie ołowiu (Pb) we krwi w podgrupie hutników niepalących papierosów wynosiło $454,60 \pm 46,50 \mu\text{g/l}$, kwasu deltaaminolewulinowego (ALA) w moczu: $3,77 \pm 1,11 \text{ mg/l}$ oraz wolnych protoporfiryn erytrocytarnych (FEP): $35,11 \pm 9,25 \mu\text{g/dl}$. Tak wydzielone podgrupy hutników nie różniły się znamiennie ocenianymi wskaźnikami toksykologicznymi.

Grupa kontrolna składała się z 62 zdrowych mężczyzn w wieku od 31 do 67 lat (średnio $47,1 \pm 9,3$), którzy nie byli zawodowo narażeni na działanie ołowiu i stężenia ołowiu we krwi nie przekraczały u nich norm przyjętych dla osób nienarażonych. W grupie kontrolnej 29 mężczyzn paliło papierosy, średnio 15 papierosów przez 5 lat. Podobnie jak w grupie badanej, również pozostali mężczyźni z grupy kontrolnej nigdy wcześniej nie palili papierosów oraz nie byli biernymi palaczami.

W kolejnym etapie analizy wyselekcjonowano grupę 16 mężczyzn zawodowo narażonych na działanie ołowiu, do której dobrano indywidualnie 16 zdrowych mężczyzn z grupy kontrolnej. Kryteriami doboru case to case były: taki sam wiek, podobny wskaźnik masy ciała, zbliżone stężenie cholesterolu całkowitego i triglicerydów, fakt palenia lub niepalenia papierosów i tryb życia – charakter pracy zawodowej oraz pozazawodowa aktywność fizyczna. Takie kryteria doboru umożliwiły wykluczenie ewentualnego wpływu innych, niż działanie ołowiu, czynników na funkcję śródbłonka naczyniowego. W tak dobranej grupie hutników średnie stężenie ołowiu (Pb) we krwi wynosiło $543,27 \pm 79,65 \mu\text{g/l}$, kwasu deltaaminolewulinowego (ALA) w moczu: $4,35 \pm 1,23 \text{ mg/l}$

oraz wolnych protoporfiryn erytrocytarnych (FEP): 36,70 ± 9,64 µg/dl.

Każdemu badanemu pobierano około 10 cm krwi żyłnej. Krew pobierana była 12 godzin od ostatniego posiłku do próbki zawierającej EDTA. Materiał był odwirowywany (z szybkością 10 tys. obrotów/minutę), zamrożony i przechowywany w temperaturze -70°C.

Do oznaczeń stężeń lipidów we krwi: cholesterolu całkowitego, LDL cholesterolu, HDL cholesterolu i triglicerydów wykorzystano testy firmy Boehringer Mannheim, a nadtlenków lipidów metodę kolorymetryczną wg Satoha (24). Stężenia interleukiny-1β (IL-1β), interleukiny-6 (IL-6), selektyny-E (Sel-E) oraz rozpuszczalnej cząsteczki adhezji międzykomórkowej-1 (sICAM-1) w surowicy oznaczano metodami immunoenzymatycznymi ELISA w oparciu o testy firmy R&D Systems (Minneapolis, USA). Poziom endoteliny-1 (ET-1) w osoczu określano testem immunoenzymatycznym firmy BIOMEDICA (Wiedeń, Austria). Stężenie tlenu azotu (NO) oznaczano testem kolorymetrycznym – Nitrite/Nitrate (NO₂⁻/NO₃⁻) firmy R&D Systems (Minneapolis, USA). Ponieważ NO jest utleniany do NO₂⁻ i NO₃⁻, stężenie NO oznaczano metodą pośrednią poprzez pomiar stężenia tych anionów w próbach.

Stężenia ołowiu (Pb) we krwi pełnej oznaczono metodą bezplomieniową w kuwecie grafitowej przy użyciu spektrometru absorpcji atomowej PU-9100 firmy Philips (międzylaboratoryjna kontrola jakości oznaczeń: Sprawdzian kontrolny QC nr 23/2003). Kwas deltaaminolewulinowy (ALA) w moczu oznaczany był metodą spektrofotometryczną. Wolne protoporfiryny erytrocytarne (FEP) oznaczano metodą fluorymetryczną na fluorymetrze firmy Perkin-Elmer.

Analizę statystyczną przeprowadzono w oparciu o program statystyczny „STATISTICA PL 6.0” (StatSoft PL). Obliczono średnie (x) i odchylenia standardowe (SD) oznaczonych parametrów. Rozkład zmiennych sprawdzany był testem W-Shapiro-Wilka. W przypadku zmiennych o rozkładzie normalnym do dalszej analizy statystycznej wykorzystywano wieloczynnikową analizę wariancji (ANOVA/MANOVA). W przypadku zmiennych o rozkładzie innym niż normalny stosowano nieparametryczny odpowiednik analizy wariancji test ANOVA Kruskala-Wallisa. Różnice statystycznie istotne pomiędzy badanymi średnimi oznaczono testem post-hoc Newmana-Keulsa. Korelacje cząstkowe między badanymi zmiennymi sprawdzono przez wyznaczenie współczynnika korelacji r (Pearsona dla zmiennych o rozkładzie zbliżonym do normalnego lub Spearmana dla zmiennych o innym rozkładzie). Za istotne statystycznie przyjmowano wyniki na poziomie p < 0,05.

WYNIKI

Wskaźniki ogólne (wiek, wskaźnik masy ciała), lipidowe (stężenie cholesterolu całkowitego i we frakcjach LDL i HDL, triglicerydów oraz nadtlenków lipidów w surowicy), jak również stężenia markerów funkcji śródbłonka naczyniowego

i reakcji zapalnej w grupie mężczyzn zawodowo narażonych na działanie ołowiu (n = 43) i kontrolnej (n = 62) nie różniły się znacząco od siebie. Stwierdzono jedynie nieco wyższe (nieistotnie statystycznie) stężenia cholesterolu całkowitego i zawartego we frakcjach LDL i HDL u hutników (tab. 1).

W obu grupach badanych wydzielono dwie podgrupy: palaczy tytoniu i podgrupę mężczyzn niepalących. W grupie hutników podgrupa mężczyzn palących papierosy miała znacząco wyższe stężenia triglicerydów w surowicy w porównaniu do podgrupy osób niepalących (p < 0,01). Badane podgrupy nie różniły się istotnie pozostałymi parametrami gospodarki lipidowej. W grupie kontrolnej nie wykazano znaczących różnic w stężeniach lipidów w surowicy pomiędzy podgrupą osób palących i niepalących (tab. 2).

W podgrupie hutników palących papierosy stężenie tlenu azotu w surowicy było znacząco niższe niż u osób niepalących (p < 0,001). Badane podgrupy hutników nie różniły się znacząco statystycznie pozostałymi wskaźnikami oceniającymi funkcję śródbłonka naczyniowego. W grupie kontrolnej średnie stężenie NO w surowicy palaczy tytoniu

Tabela 1. Wskaźniki ogólne, lipidowe oraz wskaźniki funkcji śródbłonka naczyniowego u mężczyzn zawodowo narażonych na działanie ołowiu i mężczyzn z grupy kontrolnej

Table 1. General data, lipid parameters, and endothelial function's parameters in men occupationally exposed to lead and in controls

Wskaźniki Parameters	Hutnicy Copper-smelters n = 43	Grupa kontrolna Control group n = 62	p
Wiek (lata) Age (yrs)	49,9 ± 4,1	47,1 ± 9,3	ns
BMI (kg/m ²)	25,5 ± 3,1	27,2 ± 4,4	ns
Chol (mg/dl)	213,7 ± 48,0	185,6 ± 40,2	ns
LDL (mg/dl)	135,6 ± 44,5	109,2 ± 41,9	ns
HDL (mg/dl)	50,1 ± 14,3	45,2 ± 9,8	ns
TG (mg/dl)	135,6 ± 61,0	157,6 ± 90,6	ns
LPO (mg/dl)	1,6 ± 0,4	1,5 ± 0,5	ns
ET-1 (fmol/ml)	0,45 ± 0,26	0,44 ± 0,30	ns
NO (ng/ml)	24,1 ± 11,3	23,4 ± 10	ns
IL-1β (pg/ml)	4,0 ± 0,3	4,9 ± 2,0	ns
IL-6 (pg/ml)	8,5 ± 6,9	7,9 ± 6,2	ns
sICAM-1 (ng/ml)	267,2 ± 62,3	259,4 ± 87,1	ns
Sel-E (ng/ml)	49,8 ± 16,2	52,3 ± 27,5	ns

Wyniki przedstawiono jako średnia ± odchylenie standardowe. Results are shown as mean ± standard deviation.

n - liczebność grupy; p - istotność statystyczna; ns - nieistotny statystycznie; BMI - wskaźnik masy ciała; Chol - cholesterol całkowity; LDL - cholesterol LDL; HDL - cholesterol HDL; TG - triglicerydy; LPO - nadtlenki lipidów; ET-1 - endotelina-1; NO - tlenek azotu; IL-1β - interleukina-1β; IL-6 - interleukina-6; sICAM-1 - rozpuszczalna cząsteczka adhezji międzykomórkowej-1; Sel-E - selektyna-E.

n - number of people included into study; p - statistical significance; ns - non-significant; BMI - body mass index; Chol - total cholesterol; LDL - LDL cholesterol; HDL - HDL cholesterol; TG - triglycerides; LPO - lipid peroxides; ET-1 - endothelin-1; NO - nitric oxide; IL-1β - interleukin-1β; IL-6 - interleukin-6; sICAM-1 - soluble intracellular adhesion molecule-1; Sel-E - selectin-E.

Tabela 2. Wskaźniki lipidowe w surowicy mężczyzn zawodowo narażonych na działanie ołowiu oraz mężczyzn z grupy kontrolnej podzielonych wg kryterium palenia papierosów

Table 2. Lipid parameters in serum of men occupationally exposed to lead and in controls by smoking habit

Wskaźniki Parameters	Hutnicy Copper-smelters		P	Grupa kontrolna Control group		P
	palący Smokers n = 22	niepalący Non-smokers n = 21		palący Smokers n = 29	niepalący Non-smokers n = 33	
Wiek (lata) Age (yrs)	49,0 ± 4,0	50,3 ± 5,7	ns	48,9 ± 7,8	45,3 ± 10,2	ns
Chol (mg/dl)	220,7 ± 51,4	207,0 ± 44,6	ns	179,6 ± 32,6	190,9 ± 45,7	ns
LDL (mg/dl)	141,7 ± 49,7	129,8 ± 38,9	ns	102,8 ± 36,6	114,7 ± 45,8	ns
HDL (mg/dl)	46,1 ± 13,6	53,0 ± 14,2	ns	44,7 ± 10,1	45,5 ± 9,6	ns
TG (mg/dl)	155,5 ± 68,0	116,6 ± 48,8	p < 0,01	155,8 ± 89,6	159,2 ± 92,7	ns
LPO (mg/dl)	1,7 ± 0,5	1,5 ± 0,4	ns	1,6 ± 0,5	1,4 ± 0,5	ns

Wyniki przedstawiono jako średnia ± odchylenie standardowe.

Results are shown as mean ± standard deviation.

n - liczebność grupy; p - istotność statystyczna; ns - nieistotny statystycznie; Chol - cholesterol całkowity; LDL - cholesterol LDL; HDL - cholesterol HDL; TG - triglicerydy; LPO - nadtlenki lipidów.

n - number of people included into study; p - statistical significance; ns non-significant; Chol - total cholesterol; LDL - LDL cholesterol; HDL - HDL cholesterol; TG - triglycerides; LPO - lipid peroxides.

Tabela 3. Wskaźniki funkcji śródbłonna naczyniowego w grupie mężczyzn zawodowo narażonych na działanie ołowiu oraz u mężczyzn z grupy kontrolnej podzielonych wg kryterium palenia papierosów

Table 3. Parameters of endothelial function in men occupationally exposed to lead and in controls by smoking habit

Wskaźniki Parameters	Hutnicy Copper-smelters		P	Grupa kontrolna Control group		p
	palący Smokers n = 22	niepalący Non-smokers n = 21		palący Smokers n = 29	niepalący Non-smokers n = 33	
ET-1 (fmol/ml)	0,54 ± 0,4	0,37 ± 0,2	ns	0,47 ± 0,3	0,43 ± 0,2	ns
NO (ng/ml)	18,3 ± 8,8	30,3 ± 10,6	p < 0,001	17,8 ± 8,4	27,9 ± 8,9	p < 0,01
IL-1 β (pg/ml)	3,9 ± 0,3*	4,0 ± 0,3	ns	5,1 ± 2,4	4,5 ± 0,9	ns
IL-6 (pg/ml)	7,2 ± 6,4	9,8 ± 7,3	ns	7,4 ± 6,8	8,5 ± 5,7	ns
SEL-E (ng/ml)	51,7 ± 19,2	47,8 ± 13,4	ns	53,0 ± 23,1	51,7 ± 31,7	ns
sICAM-1 (ng/ml)	273,9 ± 59,9	260,9 ± 65,0	ns	255,3 ± 54,7	262,3 ± 99,2	ns

Wyniki przedstawiono jako średnia ± odchylenie standardowe.

Results are shown as mean ± standard deviation.

* Różnica istotna statystycznie w porównaniu z grupą kontrolną mężczyzn palących papierosy: p < 0,05.

* Difference statistically significant compared with smokers in the control group: p < 0.05.

n - liczebność grupy; p - istotność statystyczna; ns - nieistotny statystycznie; ET-1 - endotelina-1; NO - tlenek azotu; IL-1β - interleukina-1β; IL-6 - interleukina-6; sICAM-1 - rozpuszczalna cząsteczka adhezji międzykomórkowej-1; Sel-E - selektyna-E.

n - number of people included into study; p - statistical significance; ns - non-significant; ET-1 - endothelin-1; NO - nitric oxide; IL-1β - interleukin-1β; IL-6 - interleukin-6; sICAM-1 - soluble intracellular adhesion molecule-1; Sel-E - selectin-E.

było także niższe niż u niepalących (p < 0,01) i nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniach pozostałych wskaźników funkcji śródbłonna (tab. 3).

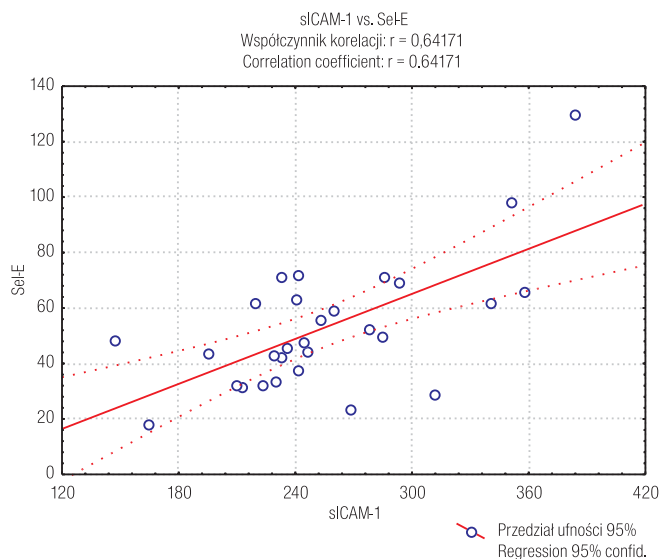
W podgrupie palaczy tytoniu zawodowo narażonych na działanie ołowiu (n = 22) występowały ujemne zależności liniowe między stężeniem tlenu azotu i cholesterolu całkowitego (r = -0,50; p < 0,05) oraz stężeniem tlenu azotu i cholesterolu LDL (r = -0,36; p < 0,05).

Nie stwierdzono występowania takich zależności między wskaźnikami funkcji śródbłonna naczyniowego i metabo-

lizmu lipidów w grupie niepalących mężczyzn zawodowo narażonych na działanie ołowiu.

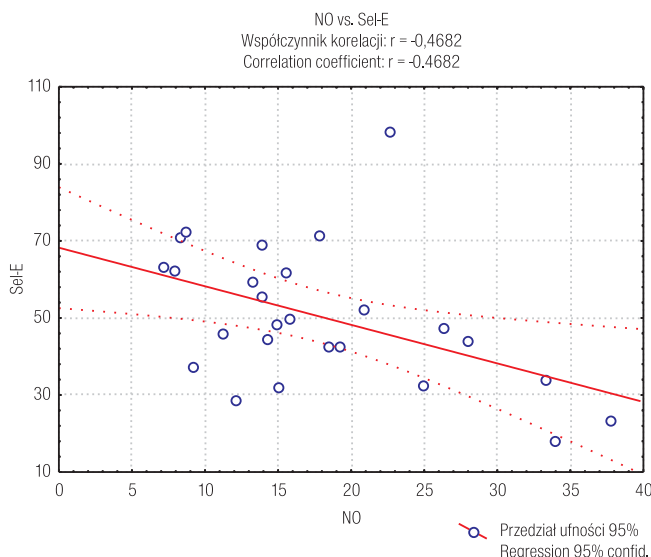
W grupie kontrolnej mężczyzn palących papierosy (n = 29) występowała dodatnia zależność liniowa między stężeniem selektyny-E i sICAM-1 (r = 0,64; p < 0,05) oraz ujemna między stężeniem selektyny-E i tlenu azotu w surowicy (r = -0,47; p < 0,05) (ryc. 1, 2).

W grupie kontrolnej niepalących mężczyzn występowała dodatnia zależność między stężeniem selektyny-E i sICAM-1 (r = 0,69; p < 0,05).



Ryc. 1. Zależność między stężeniem cząsteczki adhezji międzykomórkowej-1 (sICAM-1) i selektyny-E (Sel-E) w surowicy ($p < 0,05$) w grupie kontrolnej mężczyzn palących papierosy ($n = 29$).

Fig. 1. Correlation between serum soluble intracellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and selectin-E (Sel-E) concentrations ($p < 0.05$) in smokers of the control group ($n = 29$)



Ryc. 2. Zależność między stężeniem tlenu azotu (NO) i selektyny-E (Sel-E) w surowicy ($p < 0,05$) w grupie kontrolnej mężczyzn palących papierosy ($n = 29$).

Fig. 2. Correlation between serum nitric oxide (NO) and selectin-E (Sel-E) concentrations ($p < 0.05$) in smokers of the control group ($n = 29$).

Grupa 16 hutników oraz indywidualnie dobrana do niej grupa 16 mężczyzn nienarażonych na działanie ołowiu nie różniły się znacząco wiekiem, wskaźnikiem masy ciała, stężeniami cholesterolu całkowitego i triglicerydów, faktem palenia lub niepalenia papierosów ani trybem życia. W porównaniu z tak dobraną grupą kontrolną, w grupie hutników średnie stężenie tlenu azotu było niższe ($p < 0,01$), natomiast sICAM-1 wyższe ($p < 0,01$). Pozostałe wskaźniki funkcji śródbłonka naczyniowego były podobne w obu wy-

Tabela 4. Wskaźniki ogólne, wskaźniki lipidowe oraz parametry funkcji śródbłonka naczyniowego u mężczyzn zawodowo narażonych na działanie ołowiu i mężczyzn z grupy kontrolnej dobranych na zasadzie doboru indywidualnego

Table 4. General data, lipid parameters, and endothelial function's parameters in men occupationally exposed to lead and in controls men matched by individual choice

Wskaźniki Parameters	Badane grupy Study groups		P
	hutnicy Copper-smelters $n = 16$	grupa kontrolna Control group $n = 16$	
Wiek (lata) Age (yrs)	52,0 ± 4,9	51,4 ± 4,9	ns
Wzrost (cm) Height (cm)	184,5 ± 7,7	173,4 ± 4,9	ns
Waga (kg) Weight (kg)	91,0 ± 7,1	80,1 ± 14,7	ns
BMI (kg/m ²)	27,5 ± 1,3	26,6 ± 4,6	ns
Chol (mg/dl)	231,5 ± 62,9	201,5 ± 37,5	ns
LDL (mg/dl)	147,6 ± 57,8	124,3 ± 35,6	ns
HDL (mg/dl)	45,7 ± 12,1	49,7 ± 8,9	ns
TG (mg/dl)	144,2 ± 62,8	143,1 ± 87,4	ns
LPO (mg/dl)	1,6 ± 0,5	1,5 ± 0,4	ns
ET-1 (fmol/ml)	0,54 ± 0,29	0,38 ± 0,22	ns
NO (ng/ml)	14,8 ± 4,6**	23,5 ± 10,6	$p < 0,01$
IL-1β (pg/ml)	3,9 ± 1,9	5,1 ± 1,3	ns
IL-6 (pg/ml)	10,7 ± 7,8	7,5 ± 5,4	ns
sICAM-1 (ng/ml)	273,9 ± 57,6**	223,9 ± 40,8	$p < 0,01$
SEL-E (ng/ml)	48,0 ± 14,6	38,4 ± 15,4	ns

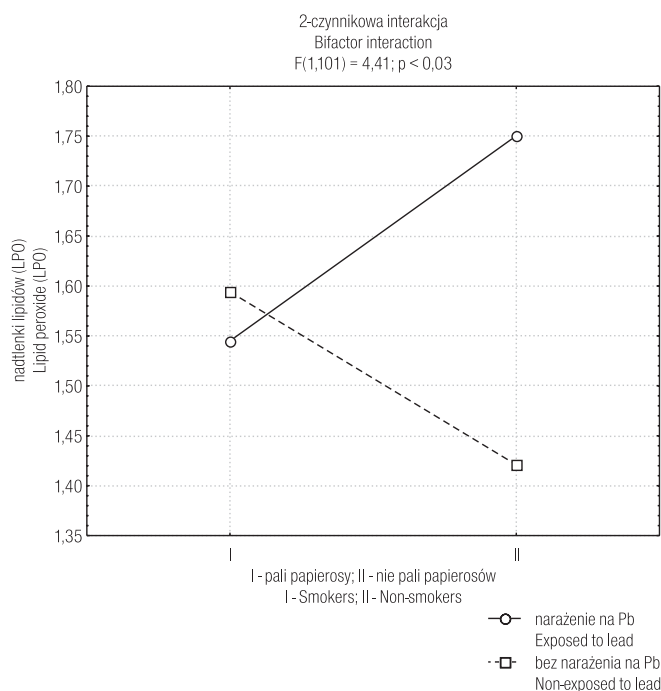
Wyniki przedstawiono jako średnia ± odchylenie standardowe. Results are shown as mean ± standard deviation.

n - liczebność grupy; p - istotność statystyczna; ns - nieistotny statystycznie; BMI - wskaźnik masy ciała; Chol - cholesterol całkowity; LDL - cholesterol LDL; HDL - cholesterol HDL; TG - triglicerydy; LPO - nadtlenki lipidów; ET-1 - endotelina-1; NO - tlenek azotu; IL-1β - interleukina-1β; IL-6 - interleukina-6; sICAM-1 - rozpuszczalna cząsteczka adhezji międzykomórkowej-1; Sel-E - selektyna-E.

n - number of people included into study; p - statistical significance; ns - non-significant; BMI - body mass index; Chol - total cholesterol; LDL - LDL cholesterol; HDL - HDL cholesterol; TG - triglycerides; LPO - lipid peroxides; ET-1 - endothelin-1; NO - nitric oxide; IL-1β - interleukin-1β; IL-6 - interleukin-6; sICAM-1 - soluble intracellular adhesion molecule-1; Sel-E - selectin-E.

dzielonych grupach, jakkolwiek w grupie hutników występowała tendencja do niekorzystnych zmian w lipidogramie (wzrost stężenia LDL cholesterolu i obniżony poziom HDL cholesterolu), a także w stężeniu endoteliny-1 i selektyny-E, które były podwyższone (tab. 4).

Dwuczynnikowa analiza wariancji wykazała występowanie interakcji między paleniem tytoniu i zawodową ekspozycją na ołów w oddziaływaniu na stężenie nadtlenków lipidów w surowicy ($F = 4,41$; $p < 0,03$) (ryc. 3).



Ryc. 3. Interakcja między paleniem tytoniu i ekspozycją na ołów w oddziaływaniu na stężenie nadtlenków lipidów w surowicy ($F = 4,41; p < 0,03$).

Fig. 3. Interaction between tobacco smoking and lead exposure referred to serum lipid peroxides concentration ($F = 4,41; p < 0.03$).

OMÓWIENIE

Podobnie jak w badaniach prowadzonych przez innych autorów wykazano, że u palaczy tytoniu stężenie tlenu azotu w surowicy jest niższe niż u osób niepalących (7,8). Taki efekt występował zarówno u mężczyzn zawodowo narażonych na działanie ołowiu, jak i u nienarażonych (tab. 2). Niezależnie od przyczyny (zmniejszona synteza, zwiększona degradacja, redystrybucja NO), jest to efekt wiązany z niekorzystnym oddziaływaniem na naczynia krwionośne. Wiąże się ze zwiększonym napięciem podstawowym i wzrostem reaktywności naczyń na endogenne czynniki presyjne oraz nasiloną peroksydacją lipidów. Są to czynniki sprzyjające powstawaniu zmian miażdżycowych (25,26).

Analiza case to case wyników uzyskanych u badanych dobranych według kryteriów: taki sam wiek, podobne BMI, lipidy, fakt palenia lub niepalenia papierosów i aktywność fizyczna wykazała, że u mężczyzn zawodowo narażonych na działanie ołowiu stężenie tlenu azotu w surowicy jest niższe, a stężenie sICAM-1 wyższe niż u mężczyzn z grupy kontrolnej ($p < 0,01$). sICAM-1 jest obecnie uznanym wskaźnikiem prognostycznym wystąpienia choroby niedokrwiennej serca (6). Uzyskane w pracy wyniki mogą świadczyć o aktywacji lub podtrzymywaniu przez ołów miejscowego stanu zapalnego, o którym obecnie wiadomo, że uczestniczy w patomechanizmie miażdżycy (23). Przemawia za tym także tendencja do wzrostu stężeń endoteliny-1 i selektyny-E w surowicy w grupie hutników. Ekspozycja na działanie ołowiu

jest związana również z tendencją do niekorzystnych zmian w lipidogramie, tj. wzrostu stężenia cholesterolu we frakcji LDL i obniżenia cholesterolu zawartego we frakcji HDL (tab. 4). Łącznie ze wzrostem stężenia cząsteczek adhezji i obniżeniem poziomu tlenu azotu w surowicy przemawia to za istotnym udziałem ołowiu w patogenezie chorób układu krążenia.

Palenie papierosów w połączeniu z ekspozycją na działanie ołowiu nie spowodowało obniżenia stężenia tlenu azotu do wartości niższych niż każdy z tych czynników działający oddzielnie. Utrzymywały się jednak tendencje do wzrostu stężenia endoteliny-1 i zaburzeń metabolizmu cholesterolu. Palenie papierosów i ekspozycja na działanie ołowiu związane były z zaburzeniami homeostazy naczyniowej, o czym świadczy brak ujemnej korelacji liniowej między stężeniem tlenu azotu i endoteliny-1, będącej wyznacznikiem fizjologicznych mechanizmów regulacji napięcia ściany naczyń.

Przeprowadzone badania potwierdziły niekorzystne oddziaływanie palenia papierosów na układ krążenia, manifestujące się przede wszystkim obniżonym stężeniem tlenu azotu w surowicy. Wykazały także potencjalnie miażdżycorodne działanie ołowiu obecnego na stanowisku pracy. Dysfunkcja śródbłonna naczyniowego u hutników przejawiała się obniżeniem stężenia tlenu azotu oraz podwyższeniem poziomu sICAM-1 w surowicy. Wzrost stężenia tej cząsteczki adhezji jest obecnie przez wielu autorów uważany za niekorzystny czynnik prognostyczny wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych. Współistnienie dwóch czynników – palenia tytoniu i ekspozycji na działanie ołowiu – jest związane z występowaniem objawów dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, takimi jak w następstwie działania każdego z tych czynników oddzielnie. Dodatkowo związane jest jednak z zaburzeniami w mechanizmach regulujących utrzymanie homeostazy naczyniowej. Występowanie tych zaburzeń oraz interakcji między ekspozycją na ołów i paleniem tytoniu w oddziaływaniu na peroksydację lipidów ($p < 0,03$) może zwiększać ryzyko wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego w stosunku do ryzyka spowodowanego działaniem poszczególnych czynników.

WNIOSEK

1. Pracownicy zatrudnieni w narażeniu na ołów powinni być informowani o szkodliwych następstwach palenia tytoniu w aspekcie interakcji ze skutkami toksycznego wpływu ołowiu na układ krążenia.

PIŚMIENNICTWO

- Stafford R.S., Becker C.G.: Cigarette smoking and atherosclerosis. W: Fuster V., Ross R., Topol, E.J. [red.]. Atherosclerosis and Coronary Artery Disease. Lippincott-Raven, Philadelphia 1996, ss. 303–326.
- Bartecchi C.E., MacKenzie T.D., Schrier R.W.: The human costs of tobacco use. N. Engl. J. Med. 1994; 330: 907–912.
- Sigurdsson G.Jr., Gudnason V., Sigurdsson G., Humphries S.E.: Interaction between a polymorphism of the apo A-I promoter region and smok-

- ing determines plasma levels of HDL and apo A-I. *Arterioscler. Thromb.* 1992; 12: 1017–1022.
4. McCall M.R., van den Berg J.J., Kuypers F.A., Tribble D.L., Krauss R.M., Knoff L.J. i wsp.: Modification of LCAT activity and HDL structure. New links between cigarette smoke and coronary heart disease risk. *Arterioscler. Thromb.* 1994; 14: 248–253.
 5. Sugiishi M., Takatsu F.: Cigarette smoking is a major risk factor for coronary spasm. *Circulation* 1993; 87: 76–79.
 6. Shen Y., Rattan V., Sultana C., Kalra V.K.: Cigarette smoke condensate-induced adhesion molecule expression and transendothelial migration of monocytes. *Am. J. Physiol.* 1996; 270: 1624–1633.
 7. Barua R.S., Ambrose J.A., Eales-Reynolds L.J., DeVoe M.C., Zervas J.G., Saha D.C.: Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium-dependent vasodilatation. *Circulation* 2001; 104: 1905–1910.
 8. Zhang S., Day I., Ye S.: Nicotine induced changes in gene expression by human coronary artery endothelial cells. *Atherosclerosis* 2001; 154: 277–283.
 9. Terres W., Becker P., Rosenberg A.: Changes in cardiovascular risk profile during the cessation of smoking. *Am. J. Med.* 1994; 97: 242–249.
 10. Kaji T., Yamamoto C., Sakamoto M., Kozuka H.: Inhibitory effect of lead on the release of tissue plasminogen activator from human vascular endothelial cells in culture. *Toxicology* 1992; 73: 219–227.
 11. Kaji T., Suzuki M., Yamamoto C., Mishima A., Sakamoto M., Kozuka H.: Severe damage of cultured vascular endothelial cell monolayer after simultaneous exposure to cadmium and lead. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1995; 28: 168–172.
 12. Ohkawara S., Kaji T., Yamamoto C., Fujiwara Y., Sakamoto M.: Interaction between cadmium and zinc in the production and sulfation of glycosaminoglycans in cultured bovine vascular endothelial cells. *J. Toxicol. Environ. Health* 1996; 47: 183–193.
 13. Wagner M., Klein C.L., Kleinert H., Euchenhofer C., Förstermann U., Kirkpatrick C.J.: Mechanisms of cell activation by heavy metal ions. *J. Biomed. Mater. Res.* 1998; 42: 443–452.
 14. Anetor J.I., Adeniyi F.A.: Decreased immune status in Nigerian workers occupationally exposed to lead. *Afr. J. Med. Med. Sci.* 1998; 27: 169–177.
 15. Stohs S.J., Biaghi D.: Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Rad. Biol. Med.* 1995; 18: 321–336.
 16. Tsangaris G.T., Stathopoulou F.: Metallothionein expression prevents apoptosis: a study with antisense phosphorothiate oligodeoxynucleotides in a human T cell line. *Pathobiology* 1997; 65: 241–252.
 17. Verma S., Arikawa E., Lee S., Dumont A.S., Yao L., McNeill J.H.: Exaggerated coronary reactivity to endothelin-1 in diabetes: reversal with bosentan. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2002; 80: 980–986.
 18. Mather K.J., Anderson T.J., Verma S.: Insulin action in the vasculature: physiology and pathophysiology. *J. Vasc. Res.* 2001; 38: 415–422.
 19. Mather K.J., Verma S., Anderson T.J.: Improved endothelial function with metformin in type 2 diabetes mellitus. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001; 37: 1344–1350.
 20. Schachinger V., Zeiher A.M.: Atherosclerosis-associated endothelial dysfunction. *Z. Kardiol.* 2000; 89 Sup.: 435–443.
 21. Schachinger V., Britten M.B., Zeiher A.M.: Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000; 101: 1899–1906.
 22. Shimokawa H.: Primary endothelial dysfunction: atherosclerosis. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1999; 31: 23–27.
 23. Ross R.: Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am. Heart J.* 1999; 138: 419–420.
 24. Satoh K.: Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica Chimica Acta* 1978; 90: 37–43.
 25. Levin E.R.: Endothelins. *N. Engl. J. Med.* 1995; 323: 356–363.
 26. Toporsian M., Govindaraju K., Nagi M., Eidelman D., Thibault G., Ward M.E.: Downregulation of endothelial nitric oxide synthase in rat aorta after prolonged hypoxia *in vivo*. *Circ. Res.* 2000; 86: 671–675.