

Anna Szymańska-Chabowska
 Jolanta Antonowicz-Juchniewicz
 Ryszard Andrzejak

ANALIZA STĘŻEŃ WYBRANYCH MARKERÓW NEOPLAZMATYCZNYCH U OSÓB ZAWODOWO NARAŻONYCH NA ARSEN I METALE CIĘŻKIE*

PLASMA CONCENTRATION OF SELECTED NEOPLASTIC MARKERS IN PERSONS OCCUPATIONALLY EXPOSED TO ARSENIC AND HEAVY METALS

Z Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego Akademii Medycznej we Wrocławiu

STRESZCZENIE

Wstęp. Arsen i jego związki nieorganiczne są czynnikiem rakotwórczym dla ludzi, chociaż mechanizm ich działania karcynogenne nie został do tej pory wyjaśniony. Do udowodnionych zjawisk należy zwiększone ryzyko występowania u osób narażonych na raka płuc, skóry, wątroby, pęcherza i nerek. Celem pracy było zbadanie karcynogenne działanie arsenu i metali ciężkich oraz określenie zależności pomiędzy ich stężeniem w płynach ustrojowych a poziomem specyficznych markerów neoplazmatycznych, mogących świadczyć o zagrożeniu procesem rozrostowym pochodzenia zawodowego. **Materiał i metody.** Badaniem objęto 224 pracowników Huty Miedzi „Legnica”, pracujących w narażeniu na ołów i arsen. Określono stężenia metali (m.in. ołowiu, kadmu i arsenu) oraz wybranych markerów neoplazmatycznych w ich płynach ustrojowych. Przeprowadzono analizę korelacji pomiędzy stężeniami metali i poziomem specyficznych markerów, mogących świadczyć o zagrożeniu rozwojem choroby nowotworowej pochodzenia zawodowego. **Wyniki i wnioski.** Badania przeprowadzone w grupie 224 osób, pracowników Huty Miedzi „Legnica”, pozwoliły na ustalenie, że istnieją silne dodatnie zależności korelacyjne pomiędzy stężeniem arsenu w moczu i kadmu we krwi a poziomem niektórych markerów neoplazmatycznych w surowicy badanych (CEA, SCC-Ag, PSA). Wykazana wyraźna reakcja synergiczna pomiędzy stopniem intoksykacji arsenem, kadmem i ołowiem a ilością wypalanych papierosów stawia eksponowanych na te metale hutników palących papierosy w grupie osób istotnie zagrożonych procesem nowotworowym. Stwierdzana w oparciu o wyniki badań zależność pomiędzy stężeniem ołowiu we krwi, czy zawartością wolnych protoporfiryn erytrocytarnych a poziomem wydalanego przez hutników arsenu może oznaczać większe ryzyko wystąpienia późnych skutków intoksykacji tymi metalami u osób narażonych na nie jednocześnie. Med. Pr. 2004; 55 (4): 313–320

SŁOWA KLUCZOWE: arsen, ołów, kadm, markery nowotworowe, karcynogeneza

ABSTRACT

Background: Industrial development increases the threat to human health caused by chemical contamination of the environment. Occupational neoplasms induced by exposure to carcinogenic factors present in workplaces are one of its effects. Heavy metals, especially arsenic, play an important role in this process. The aim of the study was to assess potential carcinogenic effects of arsenic and other heavy metals and the relation between their concentrations in organic fluids and the level of specific neoplastic markers, which might indicate the risk of the development of occupation-related neoplastic diseases. **Materials and Methods:** Over two years, 224 men employed in the “Legnica” Copper Foundry, Divisions of Furnace Charge Preparing and Metallurgy, were examined. Plasma and urine concentrations of some metals and neoplastic markers were measured. We analyzed a possible correlations between metals and markers concentrations. **Results and Conclusions:** The study allowed to establish a strong positive correlation between urine arsenic concentration, blood cadmium concentration and some serum neoplastic markers (CEA, SCC-Ag, PSA). There was a distinct synergistic reaction between the levels of arsenic, cadmium and lead intoxication and the number of smoked cigarettes, so that smoking copper smelters exposed to these metals form a high cancer risk group. Significant positive correlation between blood lead concentration, free erythrocyte protoporphyrins and the level of arsenic in copper smelters might indicate the increased risk of late effects of intoxication in persons under combined exposure to these metals. Med Pr 2004; 55 (4): 313–320

KEY WORDS: arsenic, lead, cadmium neoplastic markers, carcinogenesis

Adres autorów: Pasteura 4, 50-367 Wrocław, e-mail: szyman@mp.pl
 Nadesłano: 10.05.2004
 Zatwierdzono: 16.06.2004
 © 2004, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi

WSTĘP

Arsen, ołów i kadm – toksyczność i karcynogenność

Arsen (As; izotop ⁷⁵As) należy do grupy V układu okresowego. W stanie wolnym występuje w dwóch odmianach allotropowych: szarej i żółtej (krystalicznej). W środowisku naturalnym arsen występować może w formie siarczków w rudach srebra, ołowiu, miedzi, niklu i żelaza, a także – w śladowych ilościach – w glebie. Główną drogą krążenia arsenu w środowisku (w postaci arsenianów i arseninów) stanowi woda (1–6).

W powietrzu atmosferycznym arsen występuje głównie w postaci połączeń nieorganicznych (np. w formie trójtlenku

As₂O₃). Uwolnienie dużych ilości toksyny do atmosfery związane jest przede wszystkim z erupcją wulkanów i zamierzoną działalnością człowieka (hutnictwo, spalanie węgla o wysokiej zawartości arsenu, a także stosowanie pestycydów). Grupy zawodowe o największym narażeniu na arsen to: hutnicy, pracownicy elektrowni i przemysłu elektronicznego oraz górnicy i rolnicy (3,5,6).

Zagrożenia zdrowotne w populacjach osób eksponowanych na związki arsenu wynikają z inhalacji pyłu arsenowego, konsumpcji zanieczyszczonej arsenem wody lub żywności, a także kontaktu powierzchni ciała ze skażoną wodą i glebą (7–8).

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

U podłoża **mechanizmu toksycznego** działania arsenu leży konwersja w jego aktywną formę – metaarsenin, będący czynnikiem acylującym grupy cysteinowe i sulfhydrylowe białek enzymatycznych, co prowadzi do ich inaktywacji (2,6,8). Głównym komórkowym celem ataku dla arsenu są mitochondria i zawarta w nich dehydrogenaza sukcynianowa, biorąca udział w procesie fosforylacji oksydatywnej. Spadek wewnątrzkomórkowego poziomu ATP, będący rezultatem kumulacji arsenu, zaburza wszystkie ważniejsze funkcje komórki (w tym utrzymanie równowagi sodowo-potasowej i syntezę białek) (8,9–11).

Drugim – obok toksycznego – istotnym z medycznego punktu widzenia działaniem arsenu jest jego prawdopodobne działanie mutagenne oraz **dowodzona rakotwórczość** spowodowana klastogenezą (wywoływaniem aberracji chromosomalnych) w limfocytach obwodowych i nasileniem procesu wymiany chromatyd siostrzanych (8,10–14). Działanie karcynogenne uwidoczni się głównie po ekspozycji drogą inhalacyjną. Rozwój nowotworów dotyczy przede wszystkim tkanki płucnej i skóry (raki podstawokomórkowe i płaskokomórkowe), chociaż obserwowano także nowotwory pęcherza, wątroby i nerek (7,9,15–21).

Potencjalnych mechanizmów arsenowej transformacji komórkowej jest kilka. Do najważniejszych należy:

- hypermetylacja cytozyny w regionie promotorowym genu supresorowego p53 i hypometylacja pozostałych fragmentów DNA, wynikająca ze wspólnego toru metabolicznego i zużywania grup metylowych przez arsen (11,22,23),
- sekrecja czynników wzrostu (G-CSF, GM-CSF, TGF-alfa, TNF-alfa) (10,20,24),
- udział kinaz proteinowych C (ERK-extracellular regulated kinases),
- wzrost aktywności cytochromu P450 i jednoczesny spadek stężenia stymulatorów detoksyfikacyjnych arsenu (GSH i ALAT) (25–29).

Coraz częściej rozważana jest także genotoksyczność arsenu, mianowicie:

- tworzenie nukleoproteinowych wiązań krzyżowych,
- pęknięcia w nici DNA,
- hamowanie usuwania dimerów pirymidyny z nici DNA,
- hamowanie fosforylacji histonów i aktywności topizomerazy II,
- potencjalizacja transformacji wirusowej komórek,
- stymulacja mitozy komórkowej, podobna do interleukiny 1,
- apoptoza komórkowa przy udziale jonu nadtlenkowego O_2^- , wodorotlenowego OH^- oraz nadtlenku wodoru H_2O_2 (4,21,27,30–36).

W patogenetycznej analizie działania arsenu szczególną uwagę zwrócono na jego tzw. **efekt komutageny** (powiększający), dzięki któremu arsen indukować może proces rozrostowy w stężeniach znacznie niższych niż normalnie w połączeniu z innymi metalami, związkami alkilującymi lub promieniowaniem UV (11,37).

Rozpowszechnienie związków arsenu w środowisku wymusza niejako konieczność podejmowania dalszych badań nad mechanizmami jego działania. Należałoby na przykład określić, jaki jest udział polimorfizmu genów w indywidualnej dla każdego wrażliwości na działanie arsenu, czy istnieją różnice w aktywności enzymów metabolizujących arsen (metylotransferaz) u ludzi i zwierząt i czy fakt, że te same związki arsenu wywołują dwa różne efekty: toksyczny i karcynogeny, wynika (jak sugerują niektórzy) z odmienności ich ustrojowego metabolizmu (21).

Epidemiologiczne dane o **potencjalnej karcynogenności związków ołowiu** są stosunkowo nowe – w przeciwieństwie do zbadanych i udowodnionych już efektów hematologicznych, neurologicznych i nefrologicznych długotrwałej ekspozycji na ołów. Do ich sformułowania doprowadziły wieloletnie i żmudne badania populacyjne przeprowadzane na terenach USA, Skandynawii oraz Wielkiej Brytanii. Największe z nich (dwuetapowe), obejmujące grupę 7000 osób zawodowo narażonych na ołów, dowiodło istotnego związku pomiędzy ekspozycją a nowotworami płuc, żołądka, wątroby i nerek (8).

Ołów jest metalem łatwo wchodzącym w interakcje, np. z wapniem, cynkiem, czy żelazem. Zastąpienie ołowiem jonów wapnia w wapniowo-specyficznym białku – kalmoduleinie – spowodować może nietypową stymulację kinaz proteinowych C, będących receptorami dla substancji promotorowych nowotworu lub aktywujących protoonkogeny. Być może jest to jeden z potencjalnych mechanizmów ułatwiających rozwój nowotworu po ekspozycji na ołów (4,11). Przeprowadzone dotychczas badania są jednak niewystarczające, aby zakwalifikować ołów do grupy uznanych przez IARC karcynogenów ludzkich.

Poszukiwania związku pomiędzy **działaniem drażniącym kadmu a jego karcynogennością** zaowocowały stwierdzeniem, że rakotwórczość kadmu jest w pewnym sensie pochodną jego toksyczności, a dla rozwoju raka zdecydowanie istotniejszy jest długotrwały kontakt tkanek z metalem (nawet w dawkach nietoksycznych) niż jednorazowe „zatrucie” organizmu dawką maksymalną (8,38).

W 1993 r. IARC wpisał kadm na listę związków karcynogennych. Podstawowym czynnikiem, który spowodował zaliczenie kadmu do tej grupy był udowodniony badaniami epidemiologicznymi wzrost ryzyka występowania raka płuc u osób narażonych zawodowo (8,11).

Pierwsze doniesienia o potencjalnym rakotwórczym wpływie kadmu na organizm człowieka pojawiły się w Wielkiej Brytanii, gdzie przebadano populację pracowników fabryki baterii kadmowo-niklowych (11). Wyniki tych badań epidemiologicznych były kontrowersyjne. W roku 1985 Elinder i wsp. wykazali związek pomiędzy złośliwym rozrostem płuc i prostaty a przewlekłą ekspozycją na kadm. Od tego czasu analogiczne badania prowadzone były w innych krajach Europy i w Stanach Zjednoczonych. Wyniki dość jednoznacznie wskazywały na możliwość koincydencji obu nowotworów u osób eksponowanych na kadm, z jednoczesnym wskaza-

niem na niewielką przewagę chorób rozrostowych płuc. Ryzyko rozwinęcia się nowotworu wzrastało znacząco wraz z wydłużaniem się czasu ekspozycji oraz wzrostem stężenia kadmu w środowisku. Nie bez znaczenia pozostawał również fakt współdziałania kilku karcynogenów w przypadku ekspozycji złożonej (np. na kadm, arsen i ołów) (1,4,39). Do chwili obecnej nie ma jednakże wystarczających informacji o udziale palenia tytoniu w indukowaniu nowotworów układu oddechowego u osób narażonych na kadm. Zatem ostateczny udział kadmu w indukcji nowotworów płuc w narażonych populacjach pozostaje nadal kwestią otwartą. Nie zdefiniowano również różnicy pomiędzy stopniem karcynogenności poszczególnych form chemicznych i fizycznych kadmu. Szczególnego zainteresowania i wnikliwej analizy epidemiologicznej wymagają pracownicy hut, w których mamy do czynienia z ekspozycją złożoną, a głównym – obok kadmu – czynnikiem rakotwórczym jest arsen (7,12,40).

Markery nowotworowe – znaczenie w diagnostyce

W tradycyjnym rozumieniu, pojęcie markerów nowotworowych oznacza biologicznie i immunologicznie uchwytne makromolekuły, które można stwierdzić ilościowo w znacząco podwyższonych stężeniach zarówno w surowicy osób chorych, jak i w tkance nowotworowej. Substancje te zwykle wykazują korelację z wielkością guza, a więc z ilością komórek nowotworowych (41–46).

Nowotwory wytwarzają dwa rodzaje antygenów: **swoiste neoantygeny** (mające związek z onkogenezą i zmianą informacji genetycznej) oraz **antygeny towarzyszące** nowotworom (związane z różnicowaniem komórkowym) (44,45,47).

Etiopatogenetycznie markery nowotworowe odzwierciedlają trzy następujące zjawiska:

- proliferację komórek nowotworowych (np.: TPS)
- różnicowanie komórek nowotworowych (np.: AFP, CEA, PSA)
- obumieranie komórek nowotworowych – apoptozę lub martwicę (np.: TPA, CYFRA 21-1) (48–50).

W badaniach, będących przedmiotem niniejszej pracy, oznaczano pięć markerów: **antygen karcynoembrionalny**

(CEA), **antygen nowotworów płaskonabłonkowych (SCC)**, **alfafetoproteinę (AFP)**, **specyficzny antygen prostaty (PSA)** oraz **onkoproteinę p-185**, jednak w diagnostyce klinicznej oraz monitorowaniu przebiegu chorób rozrostowych wykorzystuje się zdecydowanie więcej testów markerowych (42,43,45,51,52).

Celem pracy było zbadanie potencjalnie karcynogennego działania arsenu i innych metali na podstawie zakładanych zależności pomiędzy ich stężeniem w płynach ustrojowych a poziomem specyficznych markerów neoplazmatycznych, których obecność mogłaby świadczyć o zagrożeniu procesem rozrostowym pochodzenia zawodowego.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto łącznie (w ciągu 2 lat) 224 mężczyzn – pracowników Wydziału Metalurgicznego i Przygotowania Wsadu Huty Miedzi „Legnica” oraz Instytutu Metali Nieżelaznych. Na stanowiskach pracy tych osób przeprowadzone zostały – na wszystkich zmianach roboczych – pomiary czynników szkodliwych metodą dozymetrii indywidualnej. Wyniki pomiarów wskazywały na obecność arsenu oraz kilkakrotne przekroczenia najwyższych dopuszczalnych stężeń ołowiu w środowisku pracy badanych (tabela 1 i 2).

Każdy z hutników został poddany pełnemu badaniu lekarskiemu według specjalnej ankiety. Następnie każdemu pacjentowi pobrano krew z żyły łokciowej na oznaczenie:

- stężenia ołowiu (Pb) i kadmu (Cd) we krwi pełnej oraz manganu (Mn), miedzi (Cu), cynku (Zn), wapnia (Ca), magnezu (Mg) i selenu (Se) w surowicy krwi,
- zawartości wolnych protoporfiryn erythrocytarnych (FEP),
- stężenia markerów neoplazmatycznych – AFP, CEA, PSA, SCC oraz p-185.

Stężenie arsenu oznaczano w pobranych od pacjentów (bezpośrednio po pracy) próbkach moczu.

Zastosowano następującą metodykę badań:

- stężenia ołowiu i kadmu we krwi pełnej oraz manganu w surowicy oznaczano metodą bezplomieniową w ku-

Tabela 1. Charakterystyka stanowisk pracy na Wydziale Przygotowania Wsadu
Table 1. Characteristics of workstations at the Furnace Charge Preparing Division

Pył całkowity Total dust		Pb Lead		As Arsenic		Narażenie łączne na metale Exposition to metals	
1998 r.	1999 r.	1998 r.	1999 r.	1998 r.	1999 r.	1998 r.	1999 r.
1,7–4,4 • NDS	1,3–3,5 • NDS	2,2 • NDS	1,1–6,1 • NDS	0,19 • NDS	1,85–2,8 • NDS	1,5–5,6 • NDS	-

Tabela 2. Charakterystyka stanowisk pracy na Wydziale Metalurgicznym
Table 2. Characteristics of workstations at the Metallurgy Division

Pył całkowity Total dust		Pb Lead		As Arsenic	
1998 r.	1999 r.	1998 r.	1999 r.	1998 r.	1999 r.
1,1–1,7 • NDS	1,1–3,7 • NDS	4,3 • NDS	1,2–9,9 • NDS	0,42 • NDS	1,1–9,6 • NDS

wecie grafitowej na Spektrofotometrze Absorpcji Atomowej PU-9100 firmy Philips, stosując metodę dodatków, która została opisana w instrukcji opublikowanej przez firmę,

- stężenia miedzi, cynku, wapnia i magnezu w surowicy krwi oznaczano metodą spektrofotometrii płomieniowej w płomieniu powietrzno-acetylenowym na SAA PU-9100 firmy Philips,

- poziom wolnych protoporfiryn erytrocytarnych oznaczano mikrometodą wg Sergio Piomelli (53),

- arsen w moczu oznaczano metodą borowodorków na spektrofotometrze absorpcyjnym,

- selen w surowicy krwi oznaczano metodą spektrofotometrii plazmowej,

- markery nowotworowe PSA, CEA, SCC, AFP w surowicy krwi oznaczano ilościowo przy użyciu mikrocząsteczkowych testów immunoenzymatycznych AxSYM System firmy Abbott (wg instrukcji przygotowanej przez firmę),

- onkoproteinę p-185^{Her-2} oznaczano testem ilościowym ELISA firmy Bender MedSystems.

Z uwagi na brak normy laboratoryjnej (w tym także określonej przez producenta testu ELISA Bender MedSystems) dla onkoproteiny p-185 – dobrano grupę kontrolną, składającą się z 78 zdrowych, nienarażonych na metale ciężkie osób i (na podstawie wykonanych u nich oznaczeń) ustalono średnią wartość stężenia markera we krwi. Dobór grupy kontrolnej opierał się na kryterium wieku badanych.

Określono współczynniki korelacji liniowych w całości grupy i w podgrupach osób palących i niepalących oraz współczynniki korelacji cząstkowych.

WYNIKI

Realizując główne założenia pracy przebadano 224 osoby o średnim wieku 41,77 lat i średnim stażu pracy 15,41 lat oraz ustalono ich status biochemiczny i toksykologiczny za pomocą opisanych wcześniej metod laboratoryjnych (tabela 3).

Średnie wartości stężenia kadmu, arsenu i ołowiu mieściły się w zakresach norm dopuszczalnych dla osób narażonych na te metale, jednak dość znacznie przekraczały wartości graniczne dla nienarażonych. Z kolei średnie stężenia tzw. metali ochronnych, czyli: cynku, wapnia i magnezu oscylowały wokół dolnych wartości swoich przedziałów referencyjnych. Stężenie wolnych protoporfiryn erytrocytarnych nie przekraczało dopuszczalnej granicy 100 µg na 100 ml erytrocytów.

Wartości średnie poziomów wszystkich spośród pięciu oznaczanych markerów nowotworowych mieściły się w granicach prawidłowych.

Analiza korelacji liniowych w całości badanej grupy (tabela 4) oraz w podgrupach palaczy papierosów i osób niepalących (tabela 5 i 6) pozwala na zaobserwowanie wyraźnej synergicznej reakcji pomiędzy stopniem intoksykacji organizmu niektórymi metalami (Cd, As, Pb) a ilością wypalanych papierosów. Widoczna jest również wzajemnie dodatnia zależność stężeń metali toksycznych i tzw. pierwiastków śladowych, ochronnych (Zn, Cu, Ca). Wyjątek stanowi selen, którego zasoby ustrojowe wyczerpują się wraz ze wzrostem stężenia kadmu. Uwagę zwraca także wzajemnie dodatnia istotna korelacja pomiędzy stężeniem ołowiu i wolnych protoporfiryn erytrocytarnych, a poziomem wydalanego przez hutników arsenu.

Tabela 3. Średnie wartości oznaczanych parametrów (z odchyleniem standardowym i medianą) u badanych pracowników
Table 3. The mean values of workers' parameters (standard deviation and median)

$\bar{x} \pm SD$	Wiek Age	Staż Duration of employment	Papieroso-lata Cigarettes/years ratio	Cd _k	Mn _s	Cu _s	Zn _s	Ca _s	Mg _s
Wartości prawidłowe Normal values				<5,0 µg/l	<1,0 µg/l	80–150 µg/dl	80–160 µg/dl	90–110 µg/ml	18–31 µg/ml
Średnia arytmetyczna Mean values	41,77 ± 8,9	15,41 ± 9,6	296,57 ± 306,7	3,08 ± 2,5	2,74 ± 2,09	121,92 ± 16,92	112,09 ± 19,5	97,31 ± 5,6	19,51 ± 1,5
Mediana Median	42	14	280	2,5	2,1	125	110	96	19,3

$\bar{x} \pm SD$	Pb _k	FEP	As _m	AFP _s	CEA _s	SCC _s	PSA _s	p-185 _s	Se _s
Wartości prawidłowe Normal values	<500 µg/l	<100µg/100mlE	<80 µg/l	0–8,5 ng/ml	0–2,5 ng/ml	<1,5 ng/ml	0–4 ng/ml	2,5 ± 0,5 ng/ml	46–125 µg/l
Średnia arytmetyczna Mean values	278,64 ± 133,8	55,77 ± 48,1	55,27 ± 39,6	2,46 ± 1,4	1,44 ± 1,16	1,07 ± 0,6	0,49 ± 0,5	3,12 ± 1,9	69,21 ± 16,0
Mediana Median	281	40,2	45,5	2,21	1,1	1,0	0,36	2,79	71,5

\bar{x} – średnia, k – krew, m – moczu.

\bar{x} – mean, k – blood, m – urine.

SD – odchylenie standardowe, s – surowica.

SD – standard deviation, s – serum.

Tabela 4. Wybrane korelacje liniowe istotne statystycznie w całości badanej grupy (n = 224)**Table 4.** Significant correlations in the whole group of workers

Korelacje dodatnie Positive correlations	Korelacje ujemne Negative correlations
$Pb_k - \text{papierosolata} = 0,16$	$Cd_k - Se_s = -0,24$
$Pb_k - \text{cigarettes/years}$	$Cd_k - AFP_s = -0,15$
$Cd_k - \text{papierosolata} = 0,22$	
$Cd_k - \text{cigarettes/years}$	
$Cd_k - Ca_s = 0,16$	
$Cd_k - Cu_s = 0,26$	
$As_m - \text{papierosolata} = 0,13$	
$As_m - \text{cigarettes/years}$	
$Zn_s - Pb_k = 0,15$	
$Zn_s - Cd_k = 0,13$	
$Pb_k - As_m = 0,32$	
$FEP - As_m = 0,25$	
$FEP - Pb_k = 0,49$	
$Cd_k - PSA_s = 0,26$	
$As_m - CEA_s = 0,14$	

k - krew.
k - blood.
s - surowica.
s - serum.
m - mocz.
m - urine.

Tabela 5. Wybrane korelacje liniowe istotne statystycznie w podgrupie osób niepalących (n = 76)**Table 5.** Significant correlations in the group of non-smokers

Korelacje dodatnie Positive correlations	Korelacje ujemne Negative correlations
$Cd_k - Ca_s = 0,27$	$Cd_k - Se_s = -0,27$
$Cd_k - Cu_s = 0,29$	$FEP - PSA_s = -0,24$
$Pb_k - FEP = 0,54$	
$As_m - Pb_k = 0,32$	
$As_m - CEA_s = 0,36$	
$As_m - SCC_s = 0,39$	
$FEP - CEA_s = 0,26$	
$Cd_k - PSA_s = 0,25$	

Skróty jak w tabeli 4.
Abbreviations explained as in Table 4.

Tabela 6. Wybrane korelacje liniowe istotne statystycznie w grupie osób palących papierosy (n = 148)**Table 6.** Significant correlations in the group of smokers

Korelacje dodatnie Positive correlations	Korelacje ujemne Negative correlations
$Cd_k - Cu_s = 0,25$	$Cd_k - Se_s = -0,20$
$Cd_k - PSA_s = 0,30$	$Zn_s - CEA_s = -0,19$
$Cd_k - CEA_s = 0,18$	$Zn_s - AFP_s = -0,18$
$Pb_k - FEP = 0,47$	
$As_m - Pb_k = 0,31$	
$As_m - FEP = 0,28$	

Skróty jak w tabeli 4.
Abbreviations explained as in Table 4.

Spośród markerów nowotworowych oznaczanych w całości grupy badanej tylko CEA istotnie dodatnio korelował ze stężeniem wydalanego arsenu. Poziom PSA natomiast wzrastał wprost proporcjonalnie do stężenia kadmu we krwi.

W podgrupie osób niepalących (tabela 5) zaobserwowano dodatkowe (oprócz powyższych) korelacje dodatnie pomiędzy stężeniem arsenu i poziomem SCC-Ag oraz stężeniem FEP i antygenem karcynoembrionalnym CEA.

U osób palących papierosy (tabela 6) analogiczną dodatkową korelację stwierdzono pomiędzy stężeniem kadmu we krwi oraz markerem CEA.

OMÓWIENIE

W badaniach, stanowiących meritum niniejszej pracy, oceniano kliniczne i biochemiczne skutki ekspozycji złożonej na arsen, ołów i kadm w organizmach hutników, ze szczególnym uwzględnieniem karcynogennego wpływu arsenu. Zatem obserwowane wyniki są wypadkową zmian wywołanych w ustroju przez wszystkie te metale. Dodać przy tym należy, że w Hucie Miedzi od ponad 20 lat nie stwierdzano istotnych zanieczyszczeń kadmem, w związku z czym ekspozycja na ten pierwiastek jest najprawdopodobniej wynikiem powszechnego wśród hutników nawyku palenia papierosów, braku spójnego systemu ochrony środowiska oraz intensywnej industrializacji w Okręgu Legnicko-Głogowskim.

Wzajemnie dodatnia, istotna korelacja pomiędzy stężeniem ołowiu we krwi czy zawartością wolnych protoporfiryn w erytrocytach a poziomem wydalanego z moczem arsenu jest bardzo interesującym - z klinicznego punktu widzenia - spostrzeżeniem. Korelacja ta widoczna jest zarówno w całości badanej grupy, jak i w podgrupach. W praktyce klinicznej oznacza ona większe ryzyko wystąpienia późnych skutków przewlekłej intoksykacji tymi pierwiastkami, szczególnie, że skłonność do kumulacji obu metali wykazują osoby młode i palące najwięcej papierosów.

Szczególne zainteresowanie epidemiologii molekularnej skupiło się w ostatnim czasie na problematyce raka zawodowego, którego występowanie związane jest z narażeniem na chemiczne karcynogeny w środowisku pracy. Wczesne etapy zagrożenia rakiem wykrywa się najczęściej za pomocą określania aktywności mutagennych, adduktów (kompleksów karcynogenów z białkami i kwasami nukleinowymi) oraz zmian cytogenetycznych w komórkach (54,55). Jedną z nowocześniejszych metod stosowanych w profilaktyce i wczesnym wykrywaniu nowotworów jest oznaczanie w płynach ustrojowych markerów neoplazmatycznych, czyli substancji produkowanych przez zmienione nowotworowo komórki. Pod względem struktury chemicznej markery są bardzo zróżnicowane; wykazywać mogą właściwości przeciwciał, enzymów, hormonów, antygenów i nukleozydów (46).

Zastosowanie nowotworowych markerów molekularnych w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej wydaje się przydatne w rozpoznawaniu wczesnego uszkodzenia komórek, ocenie mono- lub poliklonalnego rozrostu guza, prognozowaniu

w chorobie nowotworowej, wyborze optymalnej metody leczenia lub określaniu stopnia predyspozycji genetycznej do zachorowania na nowotwór (46). W badaniach Zakładu Immunologii Akademii Medycznej we Wrocławiu wykazano, że wzmożona ekspresja onkoproteiny p53 zdarza się w ok. 20% przypadków guzów jajnika w stadium *in situ* oraz u niewielu chorych z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, stanowiącym stan przedrakowy (42,47). Tak więc markery wykrywalne w surowicy mogą również świadczyć o potencjalnym ryzyku rozwoju nowotworu na bazie zmian łagodnych.

Stężenie wybranych markerów nowotworowych w surowicy krwi – zgodnie z założeniem pracy – ma być pochodną narażenia zawodowego na karcynogeny (arsen, kadm). Założenie to potwierdziła analiza korelacyjna, szczególnie w odniesieniu do trzech spośród badanych antygenów: CEA, PSA oraz SCC-Ag. Najsilniejszą zależność (istotną statystycznie zarówno w całości grupy, jak i w obu podgrupach) obserwowano w stosunku do par: Cd-PSA oraz As-CEA. Eliminacja czynnika papierosowego w grupie osób niepalących spowodowała wyodrębnienie dodatkowej istotnej korelacji dodatniej pomiędzy stężeniem arsenu a poziomem markera rozrostu płaskonabłonkowego (głównie płuc), czyli SCC-Ag. Wyraźnie zaznaczyła się także (nieobecna u palaczy papierosów) zależność stężenia CEA od zawartości wolnych protoporfiryn erytrocytarnych, będących wykładnikiem tkankowych depozytów ołowiu.

Z kolei kadm, pochodzący z dymu tytoniowego, zawarty w krwi osób palących korelował dodatnio nie tylko z markerem sterczowym, ale także z CEA, potwierdzając tym samym swój niewątpliwą wkład w ryzyko złośliwej transformacji prawidłowych komórek organizmu.

WNIOSKI

1. Wykazano wyraźną reakcję synergistyczną pomiędzy stopniem intoksykacji arsenem, kadmem i ołowiem a ilością wypalanych papierosów, co stawia eksponowanych na te metale hutników palących papierosy w grupie osób istotnie zagrożonych procesem nowotworowym. Ryzyku temu sprzyja (w świetle dostępnej literatury) stopniowe wyczerpywanie się ustrojowych zasobów metali antykarcynogennych (selenu) w organizmach narażonych (56–58).

2. Wykazano silne dodatnie zależności korelacyjne pomiędzy stężeniem arsenu w moczu i kadmu we krwi a poziomem niektórych markerów neoplazmatycznych w surowicy badanych (CEA, SCC-Ag, PSA). Zależności te mogą odzwierciedlać stymulowaną przez niektóre karcynogeny (As, Cd) transformację nowotworową prawidłowych komórek organizmu.

3. Istotna, dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem ołowiu we krwi lub zawartością wolnych protoporfiryn erytrocytarnych a stężeniem arsenu w moczu badanych hutników może oznaczać większe ryzyko wystąpienia późnych skutków intoksykacji tymi metalami u osób narażonych na nie jednocześnie.

4. Biorąc pod uwagę fakt, że średni staż pracy w grupie przebadanych hutników wynosił 15 lat, a czas ekspozycji na arsen w przypadku tak heterogenicznej wiekowo grupy jest trudny do ustalenia (szczególnie w aspekcie profilaktycznego rotacyjnego odstawiania poszczególnych pracowników od stanowisk pracy) – w pełni zrozumiałym wydaje się brak istotnego wzrostu zachorowalności na nowotwory w tej grupie w chwili obecnej. W celu uzyskania bardziej miarodajnych wyników tę samą grupę hutników należałoby przebadać za kilka lub kilkanaście lat, a diagnostykę potencjalnych chorób rozrostowych rozszerzyć o badania genomu, mogące ustalić zakres i charakter zmian wywołanych przez arsen w obrębie chromosomów i DNA lub ewentualną nasiloną ekspresję onkogenów, nadzorujących proces transformacji nowotworowej komórek. Na świecie badania takie stanowią obecnie kanon profilaktyki i wczesnego wykrywania chorób nowotworowych (13,59,60).

PIŚMIENNICTWO

- Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials. Angerer J., Schaller K.H. [red.]. Working Group Analytical Chemistry. T. 3. John Wiley & Sons Limited 1991.
- Apostoli P., Alessio L.: Metabolism of arsenic after acute occupational arsine intoxication. *J. Toxicol. Environ. Health* 1997; 52: 331–342.
- Axelsson O., Dahlgren E., Jansson C.D., Rehnlund S.O.: Arsenic exposure and mortality: a case referent study from a Swedish copper smelter. *Br. J. Ind. Med.* 1978; 35: 8–15.
- Beckman L., Nordenson I.: Interaction between some common genotoxic agents. *Hum. Hered.* 1986; 36: 397–401.
- Chen C.J., Wang C.J.: Ecological correlation between arsenic level in well water and age-adjusted mortality from malignant neoplasms. *Cancer Res.* 1990; 50: 5470–5474.
- Jakubowski M.: Arsen i jego związki nieorganiczne (w przeliczeniu na As). Zespół Ekspertów ds. Czynników Chemicznych Międzyresortowej Komisji ds. Aktualizacji Wykazu NDS i NDN, Łódź 1996, ss. 1–20.
- Enterline P.E., Marsh G.M., Esmen N.A., Henderson V.L., Callahan C.M., Paik M. i wsp.: Some effects of cigarette smoking, arsenic, and SO₂ on mortality among US copper smelter workers. *J. Occup. Med.* 1987; 29 (10): 831–838.
- Magos L.: Epidemiological and experimental aspects of metal carcinogenesis: physicochemical properties, kinetics and the active species. *Environ. Health Perspect.* 1991; 95: 157–189.
- Kenyon E.M., Hughes M.F.: A concise review of the toxicity and carcinogenicity of dimethylarsinic acid. *Toxicology* 2001; 160 (1–3): 227–236.
- Leonard A., Lauwerys R.R.: Carcinogenicity, teratogenicity and mutagenicity of arsenic. *Mut. Res.* 1980; 75: 49–62.
- Rossmann T. G.: Metal mutagenesis. *Hand Exp. Pharm.* 1995; 115: 373–409.
- Boffetta P.: Carcinogenicity of trace elements with reference to evaluations made by the IARC. *Scand. J. Work. Environ. Health* 1993; 19 Supl. 1: 67–70.
- Hsu Y.H., Li S.Y., Chiou H.Y., Yeh P.M., Liou J.C., Hsueh Y.M. i wsp.: Spontaneous and induced sister chromatid exchanges and delayed cell proliferation in peripheral lymphocytes of Bowen's disease patients and matched controls of arseniasis-hyperendemic villages in Taiwan. *Mut. Res.* 1997; 386: 241–251.

14. Lerda D.: Sister-chromatid exchange (SCE) among individuals chronically exposed to arsenic in drinking water. *Mut. Res.* 1994; 312: 111–120.
15. Bettley F.R., O'Shea J.A.: The absorption of arsenic and its relation to carcinoma. *Br. J. Dermatol.* 1975; 92: 563–569.
16. Biggs M.L., Kalman D.A., Moore L.E., Hopenhayn-Rich C., Smith M.T., Smith A.H.: Relationship of urinary arsenic to intake estimates and a biomarker of effect, bladder cell micronuclei. *Mut. Res.* 1997; 386: 185–195.
17. Cantor K.P.: Invited commentary: arsenic and cancer of the urinary tract. *Am. J. Epidemiol.* 2001; 153 (5): 419–423.
18. Chen C.J., Chen C.W., Wu M.M., Kuo T.L.: Cancer potential in liver, lung, bladder and kidney due to ingested inorganic arsenic in drinking water. *Br. J. Cancer* 1992; 66: 888–892.
19. Chiou A.Y., Hsueh Y.M., Liaw K.F., Horng S.F., Chiang M.H., Pu Y.S. i wsp.: Incidence of internal cancers and ingested inorganic arsenic: a seven-year follow-up study in Taiwan. *Cancer Res.* 1995; 55 (6): 1296–1300.
20. Germolec D.R., Spalding J., Boorman G.A., Wilmer J.L., Yoshida T., Simeonova P.P. i wsp.: Arsenic can mediate skin neoplasia by chronic stimulation of keratinocyte-derived growth factors. *Mutat. Res.* 1997; 386 (3): 209–218.
21. Jager J.W., Ostrosky-Wegman P.: Arsenic: a paradoxical human carcinogen. *Mut. Res.* 1997; 386: 181–184.
22. Mass M.J., Wang L.: Arsenic alters cytosine methylation patterns of the promoter of the tumor suppressor gene p53 in human lung cells: a model for a mechanism of carcinogenesis. *Mut. Res.* 1997; 386: 263–277.
23. Zhao C.Q., Young M.R., Diwan B.A., Coogan T.P., Waalkes M.P. Association of arsenic - induced malignant transformation with DNA hypomethylation and aberrant gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997; 94 (20): 10907–10912.
24. Luster M.I., Wilmer J.L., Germolec D.R., Spalding J., Yoshida T., Gaido K. i wsp.: Role of keratinocyte-derived cytokines in chemical toxicity. *Toxicol. Lett.* 1995; 82/83: 471–476.
25. Bernstam L., Nriagu J.: Molecular aspects of arsenic stress. *J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev.* 20003; (4): 293–322.
26. Bradley D.: Therapeutic needs revive arsenic compound. *Pharm. Sci Technol. Today* 2000; 3 (12): 401.
27. Dong Z.: Molecular mechanism of carcinogenic and anti-cancer effects by arsenic. *Metal Ions Biol. Med.* 2000; 6: 44–46.
28. Liu S.X., Athar M., Lippai I., Waldren C., Hei T.K.: Induction of oxyradicals by arsenic: implication for mechanism of genotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 2001; 98 (4): 1643–1648.
29. Santra A., Maiti A., Chowdhury A., Mazumder D.R.: Oxidative stress in liver of mice exposed to arsenic-contaminated water. *Indian. J. Gastroenterol.* 2000; 19 (3): 112–115.
30. 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 (11–12): 1405–1412.
31. Barchowsky A., Klei L.R., Smith K.R., Ross Ch.R.: Oxidant signaling mechanisms initiated by low levels of arsenic in vascular cells. *Metal Ions Biol. Med.* 2000; 6: 47–49.
32. Dong J.T., Luo X.M.: Arsenic-induced DNA-strand breaks associated with DNA-protein crosslinks in human fetal lung fibroblasts. *Mut. Res.* 1995; 302: 97–102.
33. Gebel T.W.: Genotoxicity of arsenical compounds. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2001; 203 (3): 249–262.
34. Harris C.C.: Interindividual variation among humans in carcinogen metabolism, DNA adduct formation and DNA repair. *Carcinogenesis* 1998; 10: 1563–1566.
35. Hussain S.P., Harris C.C.: Molecular epidemiology of human cancer: contribution of mutation spectra studies of tumor suppressor genes. *Cancer Res.* 1998; 58: 4023–4037.
36. Simeonova P.P., Luster M.I.: Mechanism of arsenic carcinogenicity: genetic or epigenetic mechanisms? *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 2000; 19 (3): 281–286.
37. Li J.H., Rossman T.G.: Inhibition of DNA ligase activity by arsenic: a possible mechanism of its comutagenesis. *Mol. Toxicol.* 1989; 2: 1–9.
38. Raport Komisji Toksykologicznej Rady Sanitarno-Epidemiologicznej: Ogólna ocena toksykologicznego zagrożenia kadmem w Polsce. *Med. Pr.* 1995; 5 Supl. 5: 7–23.
39. Barret J.C., Shelby M.D.: Mechanisms of multistep carcinogenesis: keys to developing in vitro approaches for assessing the carcinogenicity of chemicals. *Food Chem. Toxicol.* 1986; 24 (6/7): 657–661.
40. Gerhardsson L., Nordberg G.F.: Lung cancer in smelter workers - interactions of metals as indicated by tissue levels. *Scand. J. Work. Environ. Health* 1993; 19 Supl. 1: 90–94.
41. ASCO (American Society of Clinical Oncology): Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 1996; 14 (10): 2843–2877.
42. Bar J.K., Harłodzińska A.: Clinical utility of p53 and c-erbB-2 immunostaining in the diagnosis of tumor effusions. *Diagn. Oncol.* 1994–1995; 4: 224–229.
43. Chapman M.A.S., Buckley D., Henson D.B., Armitage N.C.: Preoperative carcinoembryonic antigen is related to tumour stage and long-term survival in colorectal cancer. *Br. J. Cancer* 1998; 78 (10): 1346–1349.
44. Gisterek I.: Clinically useful tumor markers. *International Intensive Course of Oncology, Erasmus* 1999; 99: 211–221.
45. Hammarstrom S.: The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Semin. Cancer Biol.* 1999; 9 (2): 67–81.
46. Szymendera J.J., Góźdz S.S.: Rola krążących markerów nowotworowych w diagnostyce i monitorowaniu leczenia chorych na nowotwory. *Nowotwory* 1995; 45: 369–383.
47. Harłodzińska-Szmyrka A.: Nowotwory jako choroba genów. *Postepy Biochem.* 1995; 41 (1): 7–15.
48. Hurwitz M., Sawicki M., Samara G., Passaro E.: Diagnostic and prognostic molecular markers in cancer. *Am. J. Surg.* 1992; 164: 299–306.
49. Kułpa J., Wójcik E., Radkowski A., Kołodziejki L., Stasiak Z.: CYFRA 21-1, TPA-M, TPS, SCC-Ag and CEA in patients with squamous cell lung cancer and in chemical industry workers as a reference group. *Anticancer Res.* 2000; 20: 5035–5040.
50. Senn H.J., Drings P., Glaus A., Jungi W.S., Sauer R., Schlak P.: Biochemical tumor markers. *Kompedium Onkologii. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa* 1995.
51. Nikliński J., Furman M., Moniuszko-Jakoniuk J., Laudański J.: Antygen SCC-Ag w surowicy chorych na pierwotnego niedrobnokomórkowego raka płuca. *Pol. Tyg. Lek.* 1993; 48 (25–26): 548–550.
52. Parker M.E.: Free PSA for detecting prostate cancer. *JAMA* 1998; 280 (21): 1825–1826.

-
53. Piomelli S.: A micromethod for free erythrocyte porphyrins: the FEP test. *J. Lab. Clin. Med.* 1973; 81: 932-940.
54. Lutz W., Krajewska B.: Markery nowotworowe i ich znaczenie w profilaktyce raka zawodowego. *Pol. Tyg. Lek.* 1990; 45 (32-33): 643-646.
55. Lutz W., Krajewska B.: Onkoproteiny i antyonkoproteiny surowicy krwi jako biomarkery wczesnych skutków zdrowotnych powodowanych przez kancerogeny zawodowe i środowiskowe. *Med. Pr.* 1996; 47 (5): 511-518.
56. Babich H., Alguacil M.N., Borenfreund E.: Arsenic-selenium interactions determined with cultured fish cells. *Toxicol. Lett.* 1989; 45: 157-164.
57. Hu G., Liu X., Liu J.: Protective effects of sodium selenite and selenomethionine on genotoxicity to human peripheral lymphocytes induced by arsenic. *Chung. Hua. Yu. Fang. I. Hsueh. Tsa. Chih.* 1996; 30 (1): 26-29.
58. Styblo M., Thomas D.J.: Selenium modifies the metabolism and toxicity of arsenic in primary rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2001; 172 (1): 52-61.
59. Barret J.C., Oshimura M., Tsutsui T., Tanaka N.: Mutation and neoplastic transformation. Correlations and dissociations. *An. N.Y. Acad. Sci.* 1988; 534: 95-98.
60. Brown C.C., Chu K.C.: Implications of the multistage theory of carcinogenesis applied to occupational arsenic exposure. *JNCI* 1983; 70 (3): 455-463.