

Názov prezentácie:

Činnosť Národného referenčného centra pre hodnotenie neskorých účinkov chemických látok metódami genetickej toxikológie

Autori: Gajdošová Dagmar, Bujňák Anton

1. Dátum konzultačného dňa: 7. 12.2022
2. Vznik NRC pre GT v Košiciach : 15.10.2021
Dôvod: Obsah náplne činnosti NRC pre GT je dôležitý nakoľko ním monitorované rizikové faktory musia byť pod kontrolou, lebo vedú k neustálemu vzniku nových zhubných nádorových ochorení. Je dôležité pokračovať v činnosti NRC pre GT aj po zániku NRC, ktoré existovalo v Bratislave na ÚVZ SR do 15.10.2021. V Košiciach je na RÚVZ od roku 1986 špecializované pracovisko Oddelenie genetickej toxikológie, ktoré okrem klasických vyšetrení cytogenetickými a mikrobiologickými metódami rozvíja aj problematiku poradenstva pre zvyšovanie vedomostí populácie v danej problematike. Poskytuje poradenstvo ľuďom s rakovinovými ochoreniami, alebo ľuďom ktorí sa preventívne snažia predísť rakovine.
NRC pre GT na RÚVZ so sídlom v Košiciach má teraz vymedzenú časť pôsobnosti NRC, do ktorej spadajú vyšetrenia robené mimo územia Košíc.
Od 1.8.2023 sa zruší Oddelenie genetickej toxikológie a všetka činnosť monitorovania rizikových faktorov mutagénnych, genotoxických aj životosprávnych bude riešená v rámci pôsobnosti NRC pre GT, ktoré zatiaľ je jediným na území SR.
3. Náplň: NRC vykonáva laboratórnu diagnostiku v oblasti hodnotenie neskorých účinkov chemických látok a iných genotoxických faktorov metódami genetickej toxikológie. Vyšetruje biologický materiál – krv, moč a tiež genotoxické účinky rôznych chemických látok a komplexných zmesí. Taktiež analyzuje vplyvy iných mutagénnych faktorov z jednotlivých zložiek životného, pracovného prostredia a životosprávnych faktorov.
NRC pre GT zabezpečuje na RÚVZ so sídlom v Košiciach, Ipeľská 1 aj špecializovanú primárnu prevenciu onkologických ochorení a poškodení genofondu populácie analýzou anamnestických údajov a tiež poradenskú činnosť v rámci včasnej prevencie rakoviny jednotlivcom alebo skupinám.
4. Miesto : Činnosť NRC pre GT: zabezpečuje sa na Regionálnom úrade verejného zdravotníctva v Košiciach, Ipeľská 1, Košice, kde laboratórnu diagnostiku vykonáva podľa osvedčenia pre správnu laboratórnu prax - Osvedčenie o akreditácii č S-061.
5. Personálne obsadenie:
vedúca NRC: RNDr. Dagmar Gajdošová
vedúci Poradne genetickej toxikológie pre prevenciu rakoviny: RNDr. Andrej Gajdoš, CSc.
Laboratórny diagnostik: Mgr. Anton Bujňák
Zdravotnícky laborant: Eva Roszková, Renáta Marcinčinová
Činnosť NRC je koordinovaná v rámci Odboru chemických analýz vedúcou OCHA: Ing. Martinou Tomaszovou

6. Činnosť v roku 2022 sme vyšetřili metódou CALPL rámci činnosti NRC pre GT nasledujúce prevádzky, kde sme monitorovali genotoxický vplyv možných mutagénnych faktorov:
- CHEMOSVIT FOLIE, s.r.o**
 - ÚSTAV RADIÁCNEJ OCHRANY**
 - EWS Vojany, s.r.o.**

Tabuľka č. 1 Karcinogénne a mutagénne faktory v prevádzke **CHEMOSVIT FOLIE, s.r.o:**

Por. č.	Názov karcinogénneho a mutagénneho faktora
1.	Chróom (VI) a zlúčeniny chróomu ako prach a aerosól (ako Cr)
	- TSH1 (mg/m ³) 0,010(I)
	Karcinogén kategórie 1A
	Mutagén 1B

Poznámka: Podklady pre tabuľku č. 4 vypracoval: **EKOLAB, Napájadlá 17, 040 12 Košice**

Výsledky cytogenetickej analýzy

CHEMOSVIT FOLIE, s.r.o

Tabuľka č. 1.1 Sumárne výsledky cytogenetickej analýzy ľudských periférnych lymfocytov

SKUPINA	Počet vyšetrených	PRIEMER		SUMA				Z/B	NEISTOTA (U) %	VÝSLEDOK priem. % AB.B.	
		Vek	Dĺžka expozície	Hodnotených buniek	Z1	V1	Z2				V2
CHEMOSVIT FOLIE, s.r.o	22	46	14 rokov	2200	21	1	19	0	0,019	24	1,24
Kontrolná skupina	22	46	0 rokov	2200	10	0	9	1	0,009	24	0,91

U = rozšírená neistota merania je určená s koeficientom pokrytia $k = 2$, ktorá pri normálnom rozdelení zodpovedá konfidénčnej pravdepodobnosti približne 95%.

Percentuálne vyjadrenie distribúcie % AB.B. v exponovanej skupine prezentuje, že 63 percent nálezov priemerného percenta AB.B. je na hladine 0-1 % (tab. č. 5) platnom pre **neefektívnu expozíciu** genotoxickým faktorom. Hodnotu 2 % AB.B - čo je hraničný limit pre neefektívnu expozíciu genotoxickým faktorom má 18 % vyšetrených. Teda 81 % vyšetrených pracovníkov CHEMOSVIT FOLIE s.r.o patrilo podľa výsledkov CALPL do skupiny s **neefektívnou expozíciou** genotoxickým faktorom za posledné tri mesiace.

Štatistické vyhodnotenie

Exponovaná skupina CHEMOSVIT FOLIE, s.r.o

V porovnaní priem. % AB.B. **1,24 %** exponovaného súboru prevádzky CHEMOSVIT FOLIE, s.r.o s aktuálnou vlastnou porovnateľnou kontrolnou skupinou, ktorej priem. % AB.B. bolo **0,91 %** (tab.č. 1.1) sme **nezistili štatisticky významný rozdiel na žiadnej hladine významnosti** (test Anova- jednofaktorová).

V porovnaní s referenčnou kontrolnou skupinou, ktorej priem. % AB.B. je **1,41 % AB.B.** [1.1], sme **nezistili štatistický významný rozdiel na žiadnej hladine významnosti.** Požiadavky na hodnotenie výsledkov CALPL skúšok sú uvedené v literatúre: [1]

Úroveň (skupinový priemer) chromozomálnych poškodení (aberácií) neprekročil u prevádzky CHEMOSVIT FOLIE, s.r.o limitné hodnoty. Expozícia pracovníkov CHEMOSVIT FOLIE, s.r.o v pracovnom prostredí je na zdravotne tolerovateľnej úrovni a pracovné prostredie nevytváralo vysoké riziko mutagenity a karcinogenity pre zamestnancov.

ÚSTAV RADIÁČNEJ OCHRANY

Tabuľka č. 2 Karcinogénne a mutagénne faktory v prevádzke ÚSTAVU RADIÁČNEJ OCHRANY

Por. č.	Názov karcinogénneho a mutagénneho faktora
1.	Ionizujúce žiarenie < 100 nm
	Röntgenové žiarenie od 1 pm do 10nm

Tabuľka č. 2.1 Sumárne výsledky cytogenetickej analýzy ľudských periférnych lymfocytov u jednotlivcov

Meno	PRIEMER		SUMA				Z/B	NEISTOTA ± (%)	VÝSLEDOK priem. % AB.B.	
	Vek (roky)	Dĺžka expozície (roky)	Hodnotených buniek	Z1	V1	Z2				V2
Pracovník č.1	29	7	200	1	0	0	0	0,005	24	0,50
Pracovník č.2	44	24	200	1	0	1	0	0,010	24	1,00
Pracovník č.3	31	7	200	1	0	1	0	0,010	24	1,00
Pracovník č.4	29	7	200	1	0	0	0	0,005	24	0,50
Pracovník č.5	44	24	200	1	0	1	0	0,010	24	1,00
Pracovník č.6	31	7	200	1	0	1	0	0,010	24	1,00

Uvedená rozšírená neistota merania je vyjadrená ako štandardná neistota merania vynásobená koeficientom pokrytia $k=2$, ktorá pri normálnom rozdelení zodpovedá konfidenčnej pravdepodobnosti približne 95%.

Štatistické vyhodnotenie

ANOVA TEST sa pri individuálnom hodnotení sa nevykonáva

Požiadavky na hodnotenie výsledkov CALPL skúšok sú uvedené v literatúre: [1]

Tabuľka č. 3. Individuálne hodnotenie (analýza kolektívu menšieho ako 20 osôb)

- **do 5 % AB.B. : biologicky neefektívna expozícia** genotypickým faktorom, jednorazovo nie sú tieto hodnoty považované za významné
- **5 a viac % AB.B. : vysoká expozícia** genotoxickým látkam, hlavne ak tieto hodnoty sú zistené opakovane
- analyzuje sa minimálne 200 buniek
- cytogenetickú analýzu je potrebné u jednotlivca zopakovať v priebehu roka niekoľko krát, aby bolo možné objektívne vyhodnotiť expozíciu genotoxickým faktorom a jej účinok.

Pri individuálnom hodnotení jednotlivých pracovníkov ÚSTAVU RADIAČNEJ OCHRANY, Trenčín **konštatujeme, že žiaden pracovník nedosiahol kritickú úroveň priemerného percenta aberantných buniek, ktorej hodnota je 5 %** (tab. č.2.1). Vyšetrenia nepotvrdili zvýšený genotoxický účinok IŽ ani iných faktorov u žiadneho z profesijne exponovaných pracovníkov URO Trenčín.

V pilotnej štúdii sme vyšetřili chromozomálne aberácie (poškodenia) u 7 pracovníkov ÚSTAVU RADIAČNEJ OCHRANY, Trenčín v profesii - špecialisti radiačnej ochrany.

Vyšetření pracovníci kontrolujú na pracoviskách zariadenia, ktoré sú zdrojom ionizujúceho žiarenia. Pracovníci sú pri kontrolách vybavení kontrolovanými dozimetrickými detektormi. Napriek tomu význam vyšetření chromozomálnych poškodení je nezastupiteľný a spočíva:

a) v objektívnom posúdení individuálnej citlivosti jedinca na dávky ožiarenia pri práci aj v korelácii s jeho aktuálnym zdravotným stavom a akýmkoľvek inými spolupôsobiacimi rizikovými faktormi

b) v objektívnom posúdení biologických účinkov (chromozomálnych poškodení) aj v prípadoch možného skrytého, dozimetrom neregistrovaného ožiarenia

c) pri náhodnej alebo zámernej manipulácii s dozimetrom tak, aby vykazoval vyššie dávky, alebo nižšie dávky expozície IŽ.

Potencionálne mutagénne riziko z faktorov pracovného prostredia sme objektívne vyšetřili akreditovanou metódou CALPL. U každého jednotlivca sme vyšetřili 200 mitóz v bunkách lymfocytov periférnej krvi a zaznamenali sme štandardné štrukturálne a numerické aberácie [1].

Percentá aberantných buniek od 0,50 % AB.B. do 1%.AB.B. Výsledky neprekročili hraničnú hodnotu biologicky efektívnej expozície genotoxickým faktorom (**5 % AB.B.**), vid'. tab.č. 3, pre individuálne

hodnotenie jednotlivcov a hodnoty sú v norme. Úroveň expozície týchto pracovníkov IŽ v pracovnom prostredí je na zdravotne tolerovateľnej úrovni a nevytvára zvýšené genotoxické riziko.

SWS spol. s.r.o., VOJANY

Tabuľka č. 4 Karcinogénne a mutagénne faktory v prevádzke SWS spol. s.r.o., Vojany

Por. č.	Názov karcinogénneho a mutagénneho faktora
1.	Benzén
2.	Čiernouhoľný decht <ul style="list-style-type: none">- Benzén v dechte- Benzo(a)pyrén v dechte- Ostatné polyaromatické uhľovodíky
3.	Benzol <ul style="list-style-type: none">- Benzén v benzole- Benzo(a)pyrén v benzole- Ostatné polyaromatické uhľovodíky (PAU)
4.	Naftalénový olej <ul style="list-style-type: none">- Ostatné PAU

Poznámka : Vypracoval: PZS5, s.r.o., Štefánikova 2, 071 01 Michalovce

Tabuľka č. 4.1 Sumárne výsledky cytogenetickej analýzy ľudských periférnych lymfocytov

SKUPINA	Počet	PRIEMER		SUMA				Z/B	NEISTOTA ± (%)	VÝSLEDOK priem. % AB.B.	
		Vek	Dĺžka expozície	Hodnotených buniek	Z1	V1	Z2				V2
Exponovaná SWS spol. s.r.o.	11	46	12	2200	28	0	21	0	0,022	23	2,18
Kontrolná skupina	11	50	0	1600	17	1	21	3	0,026	23	2,11

Uvedená rozšírená neistota merania je vyjadrená ako štandardná neistota merania vynásobená koeficientom pokrytia $k=2$, ktorá pri normálnom rozdelení zodpovedá konfidenčnej pravdepodobnosti približne 95%.

Percentuálne vyjadrenie distribúcie % AB.B. v exponovanej skupine prezentuje, že 55 percent nálezov priemerného percenta AB.B. je v intervale 0-2 % (tab. č. 5) platnom pre **neefektívnu expozíciu** genotoxickým faktorom.

Štatistické vyhodnotenie

Exponovaná skupina SWS Vojany

V porovnaní priem. % AB.B. **2,18 %** exponovaného súboru prevádzky SWS Vojany s aktuálnou vlastnou porovnateľnou kontrolnou skupinou, ktorej priem. % AB.B. bolo **2,18** (tab.č. 4.1) sme **nezistili štatisticky významný rozdiel na žiadnej hladine významnosti** (test Anova- jednofaktorová).

V porovnaní s referenčnou kontrolnou skupinou, ktorej priem. % AB.B. je **2,11** [4.1], sme **nezistili štatisticky významný rozdiel na žiadnej hladine významnosti**.

Požiadavky na hodnotenie výsledkov CALPL skúšok sú uvedené v literatúre: [1]

Exponovaná SWS Vojany spol. s.r.o.

V skupinovom teste mutagénnej aktivity pracovného prostredia exponovanej skupiny SWS Vojany spol. s.r.o. sa odobralo 11 vzoriek periférnej krvi. Vyhodnotenie

chromozómových aberácií sa robilo u jedenásťčlennej odobratej skupiny metódou CALPL. U každého vyšetreného pracovníka sme mikroskopicky, pre spresnenie štatistického hodnotenia, namiesto štandardne používaných 100 mitóz, vyšetrili dvojnásobný počet buniek, 200 mitóz, a zaznamenali sme štandardné štrukturálne a numerické aberácie [1].

V uvedenom súbore bolo zistené **priemerné percento aberantných buniek 2,18 %**. Táto hodnota mierne presahuje interval 0 - 2 % AB.B, čo je úroveň aberácií bežnej – profesionálne neexponovanej populácie, ktorá predstavuje biologicky neefektívnu (tolerovateľnú) expozíciu osôb genotoxickým látkam [1].

Podľa tab. č. 4 má síce vyšetrovaná skupina mierne zvýšenú expozíciu genotoxickým faktorom (percento AB.B. je mierne nad hraničnou hodnotou 2,00 %), musíme však zohľadniť kontraindikácie u vyšetrovaných pracovníkov. Konštatujeme, že z piatich vyšetrených pracovníkov, ktorí mali percento aberantných buniek vyššie než 2 % AB.B, boli štyria pracovníci s kontraindikáciami, čo predstavuje až 80 % výskytu kontraindikácii. Preto skupinové hodnotenie doplníme individuálnym hodnotením a podľa tab. č.4 konštatujeme, že nie je potrebné 11 pracovníkom SWS Vojany opakovať vyšetrenie CALPL do 3 mesiacov. Individuálne hodnotenie hladiny chromozómových aberácií neprekračuje platnú hraničnú hodnotu 5 % AB.B..

Popis výsledkov: Výsledok pre vyšetrených pracovníkov SWS Vojany je mierne nad limitom pre biologicky neefektívnu expozíciu genotoxickým faktorom (tab. č.1 a 3).

Tieto výsledky dokazujú, že na sledovaných pracoviskách v čase odberov vzoriek a minimálne 3 mesiace predtým, nebolo v pracovnom prostredí vysoké riziko mutagenity.

Pri individuálnom hodnotení jednotlivých pracovníkov exponovanej prevádzky v SWS Vojany spol. s.r.o. konštatujeme, že žiaden pracovník nedosiahol kritickú úroveň priemerného percenta aberantných buniek, ktorej hodnota je 5 % (tab. č.4 a 6).

Záverom konštatujeme:

V cytogeneticko - anamnestickom monitoringu je potrebné pokračovať v takýchto prevádzkach s rizikom mutagenity resp. karcinogenity v pracovnom prostredí. Je dôležité oboznamovanie o dodržiavaní ochranných opatrení a o individuálnych rizikových faktoroch osobnej životosprávy, výživy a anamnézy u každého vyšetrovaného jednotlivca a kvôli potenciálne rizikovému prostrediu. Vyšetrení zamestnanci pracujú v prevádzke, kde prichádzajú do styku s mutagénymi a karcinogénymi látkami .

Vyšetrovanie mutagénneho vplyvu expozícií z pracovného prostredia odporúčame robiť 1 x ročne, s ohľadom na to, že v prevádzke je expozícia uvedeným mutagénym resp. karcinogénym látkam a je vhodné včasné odhalenie rizika poškodenia chromozómov.

Pracovníci, pokiaľ budú pracovať v riziku vplyvu genotoxických chemických látok, by mali absolvovať monitorovanie metódou CALPL u nás, alebo na hociktorom akreditovanom pracovisku genetickej toxikológie, po zaradení na pracovnú pozíciu, v čase po zdravotne bezproblémovom trojmesačnom pracovnom období. Mali by byť tiež oboznámení o vplyve rizikových faktorov z pracovného prostredia na zdravie a s možným ochranným vplyvom vhodných životosprávnych postupov.

Vyšetrovanie CALPL sa musí vykonávať u skupín či jednotlivcov mimo zdravotne významných anamnestických epizód, pretože tieto generujú zvýšené aberácie a nie je možné odlíšiť riziko vplyvu faktorov pracovného prostredia od vplyvu významných rizikových faktorov anamnézy a životosprávy v období troch mesiacov pred odberom a vyšetrením [2].

Cieľom CALPL vyšetrení je zistiť, ako pôsobí riziko pracovného prostredia na pracovníka v čase mimo akútnych zdravotných epizód a nie v čase ich zdravotnej indispozície, kedy sa kumuluje riziko choroby a faktorov PP.

Podľa tab. č. 2 vyšetrovaná skupina nemá zvýšenú expozícia genotoxickým faktorom.

Tabuľka č. 5. Skupinové hodnotenie

- | | |
|------------------------|---------------------------------------------|
| ▪ 0 - 2 % AB.B. : | neefektívna expozícia genotoxickým faktorom |
| ▪ 2 - 4 % AB.B. : | zvýšená expozícia genotoxickým faktorom |
| ▪ 4 - a viac % AB.B. : | vysoká expozícia genotoxickým faktorom |

Poradňa genetickej toxikológie pre prevenciu rakoviny

Rozsah poskytovaných informácií a poradenských služieb:

- Odborné informácie, prednášky, školenia
- Anamnestické a cytogenetické vyšetrenia súvisiace s rizikom mutagenity a prevenciou rakoviny
- Analýza anamnestických údajov a epizód rizika mutagenity
- Stanovenie aktuálneho rizikového profilu a prognózy
- Odporúčania a intervenčné opatrenia pre zníženie rizika
- Skrining chromozomálnych poškodení v indikovaných prípadoch
- Monitoring chromozomálnych poškodení u populácie v riziku

V roku 2022 sme poskytli poradenstvo 202 klientom.

Literatúra

1. ACTA HYGIENICA EPIDEMIOLOGICA ET MICROBIOLOGICA: Cytogenetická analýza periférnych lymfocytov, Metódy biologického monitorování genotoxických účinku faktoru prostredí, číslo 1/2007
2. GABELOVÁ ALENA: Úloha medzibunkovej komunikácie v neoplastickej transformácii. Jesenné pracovné dni, Genetická toxikológia a prevencia rakoviny, 18.-20.10.2004, ÚEO SAV Bratislava, str.5
3. NÁRODNÉ REFERENČNÉ CENTRUM GT, Genetická toxikológia a prevencia rakoviny, Bratislava, 2002.

Vysvetlivky:

% AB.B.	percento aberovaných buniek	V1	chromatidový zlom
Z1	chromatidová výmena	V2	izochromatidový zlom
Z2	izochromatidová výmena	n	počet
B/C	počet zlomov na bunku	OGT	Oddelenie genetickej toxikológie
CALPL	Cytogenetická analýza ľudských periférnych lymfocytov	OCHA	Odbor chemických analýz
CPr	centrálny protokol	PP	pracovné prostredie
WHO	Svetová zdravotnícka organizácia	0	nie
RÚVZ	Regionálny úrad verejného zdravotníctva	1	áno