

# Genotoxické xenobiotika v životním prostředí

**Problém přítomnosti rizikového množství některých genotoxických látek v životním prostředí je obzvláště alarmující v případě tzv. chemických karcinogenů. Přitom nejde pouze o látky syntetizované v chemickém průmyslu (průmyslové produkty), ale také o látky přírodní, jako jsou např. produkty plísně *Aspergillus flavus* (tzv. aflatoxiny) apod. Dalšími zdroji těchto látek mohou být skládky genotoxicky působících pesticidů užívaných v zemědělství i skládky chemického či jiného průmyslu.**

Z hlediska rizika přichází v úvahu většinou dostatečná koncentrace toxické látky. Ta však nemusí záviset vždy pouze na množství, ale také na charakteru genotoxické látky, případně délce expozice již ohrožující zdraví člověka. Třeba si uvědomit, že v rámci charakteristiky uvažovaných chemických karcinogenů hraje velkou roli penetrace do organismu a frekvence časových expozic pracovníka, který je riziku vystaven.

Mapování míst, kde je předpoklad vysoké koncentrace genotoxické látky se zpravidla neprovádí (snad až na průmyslovou výrobu). Patří sem např. klinické pracoviště, zpravidla onkologické, kde se k léčbě užívá chemoterapie, a kde je většina používaných antineoplastik silně karcinogenní (ale i mutagenní a teratogenní). Při klinické aplikaci (většinou v injekční nebo infuzní formě) vzniká riziko pro obsluhující personál, přicházející opakovaně do styku s těmito látkami, přičemž se nebere v úvahu očista přístrojů a likvidace obalů lékových forem těchto látek.

Další riziko vzniká při skladování, přepravě a možných haváriích genotoxických látek, ale především při jejich aplikaci (např. v zemědělství). Existují sice různá pravidla zacházení s těmito látkami, ale ani zdaleka nepostihují všechny možné situace.

V ekologii, případně ekotoxikologii, se těmito problémy zabývá pouze několik pracovišť, např. (IARC) International Agency for Research on Cancer Lyon, příp. okrajově OECD (Organization for Economic Cooperation and Development), ETAD (Ecological and Toxicological Association of Dyestuffs Manufacturing Industry), IPCS (International Programme of Chemical Safety) apod. Některé jsou ve spojení se světovou zdravotnickou organizací WHO (World Health Organization). Výčet všech institucí, zejména mimoevropských však není, pochopitelně, vyčerpán. Problémy se vzhledem k velikosti úkolu řeší většinou toliko dílče, protože kapacita potřebná ke globálnímu zpracování je tak velká, že žádná instituce ji v takovém rozsahu nemůže zvládnout. Proto se k jednotlivým problémům přistupuje čistě pragmaticky a celý případ se řeší pouze ve vymezených dimenzích.

Rizikové lokality jsou zpravidla známe. Pokud ne, je třeba provést detekci škodlivin, zpravidla analytickými nebo biologickými metodami. Chemická analýza je, zejména díky možnosti využití bohaté instrumentace, snadnější

než způsoby biologické. Biologické metody nejsou zpravidla totožné s klasickými způsoby, používají se spíše mikrobiální systémy (např. test mutagenity dle Amese na *Salmonella typhimurium*), ale také rnyz, houby a kvasinky, tkáňové živočišné a rostlinné kultury, perfundované orgány apod. Na rozhraní těchto metod se nacházejí některé metody biochemické.

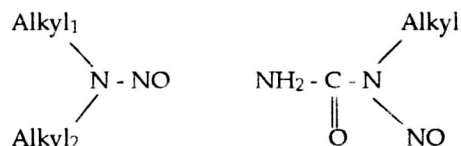
Pro zajištění správného odběru vzorků a standardizace další manipulace (v rámci daných možností) se užívá postupů doporučených tzv. správnou laboratorní praxí (GLP - Good Laboratory Practice), případně se postupuje podle pravidel QAP (Quality Assurance Programme), což je de facto součástí GLP a týká se vysloveně problémů hygienických na pracovištích. Poněkud méně je mezinárodních dohod o jedotnosti používaných ekotoxikologických metod.

Jednotlivé lokality toxických, a tedy i genotoxických látek, jsou buď přesně definovány (pracovištěm, obalem a pod.), nebo je třeba předpokládat jejich určitou delokalizaci. V druhém případě je třeba rozlišovat epicentrum a následný rozptyl. Zde zdůrazňujeme, že neexistuje zcela čistá lokalita, nýbrž je třeba počítat s pravidelným pozadím - "šumem" - způsobeným samotným prostředím, případně intoxikací jedince (kouření, pití kávy a alkoholu, aplikovaná farmaka někdy i s nežádoucími vedlejšími účinky - dokonce karcinogenními apod.).

V úvodu jsme se zmínili o tzv. aflatoxinech, velmi účinných karcinogenech, které se dostávají do různých substrátů působením plísní *Aspergillus flavus*, resp. *Aspergillus parasiticus*. Substrátem mohou být uskladněná jaderná krmiva, různé přežralé plody, špatně skladované mléčné výrobky apod. Aflatoxinů je celá řada a vzhledem ke složité chemické struktuře používá se pro jejich označení velkých písmen: B, G, M, P a pod. s číselným dodatkem. Nejvíce rizikový, jak co se týče karcinogenity, tak i běžné toxicity, je aflatoxin B<sub>1</sub> (DL<sub>50</sub> = 0,5 mg/kg - pes, orálně). Hlavním rizikem u aflatoxinů je kontaminace potravinového řetězce. Obvykle má původ v nesprávně uskladněném jaderném krmivu, mohou to tedy také být zásoby mléčných výrobků, včetně sušeného mléka pro kojenice. Upozorňujeme také na mutagenní a teratogenní účinky těchto látek. Pro analýzu aflatoxinů možno použít hmotnostní spektrometrie, přičemž musí předcházet izolace a případně obohacení, což je spjato s otázkou potřebné

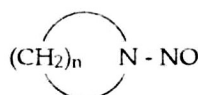
koncentrace látky k vlastnímu stanovení (obvykle postačuje množství 4-5 µg). Podobně lze stanovit i metabolity aflatoxinů, které jsou většinou také genotoxické. Na biologické monitorování lze v těchto případech použít Amesův test. Jiné metody monitorování těchto látek jsou založené na jejich hepatotoxicitě a hepatokarcinogenitě.

Stejně závažné genotoxické riziko představuje i skupina tzv. N-nitrososloučenin. Ty je možno rozdělit na principu podobnosti chemické struktury na tři typy:



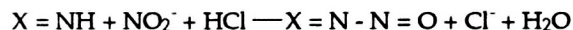
dialkyl-N-nitrosamin

N-alkyl-N-nitrosomomočovina



cyklický-N-nitrosamin

Tyto sloučeniny se však vyrábějí zřídka. Zpočátku to bylo pro průmysl gumárenský, později některé pro účely farmaceutické (alkylační antineoplastika). V barvířském průmyslu se vzácně vyskytují jako meziprodukty, které se zpravidla neizolují, ale přímo dále zpracovávají. N-nitrososloučeniny vznikají za určité konstelace komponent i v zevním prostředí. Důležitou kapitolu tvoří ty N-nitrososloučeniny, které vznikají v organismu "in vivo". Podmínkou pro jejich vznik je přítomnost substrátu, kdy jsou na dusíku různě vázaném k dispozici dva vazebné elektrony (jinými slovy zpravidla jde o iminoskupinu začleněnou do dialkylderivátu, dále amidoskupinu a dusík vestavěný do cyklického útvaru). I když se v případě N-nitrososloučenin neuvažuje o existenci výrazných lokalit s odpovídající koncentrací, přece v určitých podmínkách a případech se to může stát. Navíc je závažná ta skutečnost, že jde obvykle opět o kontaminaci potravinového řetězce. Reakce vedoucí ke vzniku těchto látek probíhá poměrně snadno, často za významné podpory účinných katalyzátorů, jako jsou např. halogenidové ionty, rhodanidy, formaldehyd apod. Mají-li tedy vzniknout N-nitrososloučeniny s karcinogenním účinkem "in vivo", je třeba přítomnosti prekursorů, které mají v molekule např. iminoskupinu apod., jako jsme již uvedli. Druhým prekursorem nemusí být nutně dusitanový ion, stačí i dusičnanový, protože dusičnany se v zažívacím traktu vlivem přítomných bakterií (ale pravděpodobně také enzymů), mění na dusitany. Reakce pak proběhne (např. v prostředí žaludku) velmi snadno podle schematu:



V uvažovaných lokalitách musí tedy být vedle substrátu se skupinou =N: nebo C=N: také dusičnany, o které dnes není nouze jak v potravě, tak v tekutinách - často včetně samotné pitné vody.

Poměrně vysoké procento genotoxických látek, především karcinogenních (ne všechny chemické karcinogeny jsou chemickými mutageny, ale všechny chemické mutageny jsou chemickými karcinogeny. Tato anomalie se vysvětluje tím, že karcinogeny, které nemají mutagenní aktivitu, působí tzv. epigenetickým mechanismem), jsou chemické sloučeniny používané v zemědělství jako pesticidy, jmenovitě insekticidy a herbicidy. Zde je ekologické riziko obzvláště velké, protože tyto látky se aplikují na poměrně rozsáhlé zemědělské plochy. Vedle možného rizika při skladování, a hlavně pak při jejich aplikaci, rozhodujícím faktorem, který určuje míru rizika, je jejich degradace v ekosystému. Proto se stanovují residua těchto látek v rostlinách, přičemž často může ujít pozornosti jejich někdy vysoce biologicky aktivní metabolit. Biotransformace látek probíhající v rostlinné buňce je totiž velmi blízká mechanismu biotransformace v buňce živočišné. Závažné je to především pro chemické karcinogeny, které se zpravidla musí nejprve metabolicky aktivovat před svou interakcí s receptorem na geneticky významné makromolekule (DNA, RNA apod.). U chemických karcinogenů se totiž předpokládá, že jejich vlastní působení probíhá až na nukleofilních receptorech, které jsou umístěny na molekule DNA, RNA, proteinech apod. Chemický karcinogen zde ale musí existovat ve své elektrofilní formě. K té se u většiny karcinogenů dospěje biotransformační přeměnou - tzv. metabolickou aktivací, tedy mechanismem, který u jiných toxických látek vede k jejich deaktivaci (detoxikaci). Jako jsme již uvedli, tato aktivace může nastat také v buňce rostlinné.

K typickým reprezentantům pesticidních látek patří např. Melathion, Metylparathion, Fenthion, Fosfamidon, Dichlorvos, DFP (di-isopropyl-fluorofosfát), Trichlorfon, HMP (hexamethyl-fosforamid) apod., některé se v mnoha zemích již doporučují vyřadit, právě z důvodu jejich karcinogenity. Patří sem také tzv. karbamátové insekticidy, jako např. Zeetram (Mexacarbanát), Propoxur (Baygon), Aldicarb (Temik) atd. Aldicarb je látka navíc vysoce toxická - její letální dávka je 10 x nižší než u alkalicých kyanidů. Tato vlastnost ji prakticky zařazuje do oblasti bojových chemických látek.

Poměrně velké riziko vykazují také látky ze skupiny thio-karbamátů, např. Thiram, Disulfiram, Maneb a Zineb. Dále jsou to pesticidy na bázi substituované močoviny. Mezi známější patří Carbaryl, Diallyl apod. Z karcinogenity jsou podzelené také pesticidy na bázi N-karbooxyl-aziridinů.

Pochopitelně, mezi potenciální centra s přítomností genotoxických látek patří i taková, která obsahují anorganické karcinogeny. Jsou to především lokality s velkou koncentrací např. arsenu (především ve formě pětivazného) nebo slouče-

nin šestivazného chromu, ďalej sa jedná o sloučeniny niklu, kadmia, berylia a kobaltu. Vedľa toho je to ešte asbest a jsou dokonca informácie, že také sloučeniny železa - krevel jsou karcinogenní.

Všetchno to jsou rizika, která spolu s působením dalších chemických karcinogenů, kterých je v současné době zhruba kolem 500, mohou ohrožovat lidskou populaci. Navíc

zde nevzpomínáme aditivní rizika karcinogenů a promotorů chemické karcinogenese. V případě kokarcinogenů se jedná např. o všudepřítomné halogenované bifenoly, ale také látky přidávané do potravin jako aditiva typu sacharinu, cyklamátu a dalších. Tyto problémy by se měly řešit samostatně, protože jejich závažnost je v současnosti velmi významná.

MÁRIA VARGOVÁ

## Súčasný stav a perspektívy toxikologického hodnotenia chemických látok

Znečistenie životného prostredia chemikáliami je významným celosvetovým problémom, ale aj špecifickým problémom v krajinách bývalej ČSFR, strednej a východnej Európy. Z tohto hľadiska je stanovenie nebezpečenstva súvisiaceho s expozíciou chemickým látkam mimoriadne dôležité a predstavuje prvé a najdôležitejšie kritérium v stanovení rizika chemických látok.

Informácia o potenciálnych zdravotných účinkoch existujúcich i nových chemikálií sa zakladá predovšetkým na výsledkoch toxikologických štúdií, kde sa sledujú nepriaznivé účinky týchto látok na organizmus. Experimentálne štúdie na zvieratách sú rozhodujúce pre identifikáciu rizika i pre vytváranie legislatívnych opatrení. Integrovanou súčasťou týchto opatrení sú testovacie údaje, ktoré musia byť spoľahlivé a v súlade so správnou laboratórnou praxou (SPL), aby boli navzájom porovnateľné a medzinárodne prijateľné.

Toxikológia sa zaoberá obrovským množstvom údajov, ktorých získavanie je veľmi nákladné a časovo náročné. Laboratórne zdroje pre testovanie veľkých množstiev chemických látok a nových látok zavádzaných každý rok do životného prostredia sú obmedzené. Preto je veľmi dôležité zabezpečiť kvalitu týchto testov, aby sa zabránilo chybám, ktoré by mohli významne ovplyvniť výsledky experimentálnych štúdií a ohroziť človeka i celý ekosystém.

### Toxikologické hodnotenie chemických látok v SR v posledných desiatich rokoch

- *Legislatívne opatrenia.* "Úprava o hygienických požiadavkách pri schvaľovaní chemických látok a prípravkov z hľadiska ochrany zdravia" (č. 20/1984) platí v SR od r. 1986. Úprava bola na tie časy veľmi progresívna a prispela k zlepšeniu situácie v oblasti toxikologického tes-

ovania chemických látok. Výskumný ústav preventívneho lekárstva (VÚPL) sa uznesením vlády zároveň stal metodickým centrom pre toxikologické testovanie chemických látok. V rámci tejto úlohy sa pod vedením pracovníkov ústavu vypracovali metodické postupy pre základné a špeciálne testy toxicity a zásady správnej laboratórnej praxe (Vargová a kol., 1987, 1988).

- *Testovacie zariadenia.* Najväčším slovenským pracoviskom v oblasti biomedicínskeho výskumu je v súčasnosti Ústav preventívnej a klinickej medicíny (ÚPKM). Popri širokom spektre výskumných činností v oblasti poznávania vzťahov a interakcií medzi človekom a životným prostredím venuje sa systematicky už niekoľko desaťročí hodnoteniu toxických účinkov chemických látok na organizmus. Čiastočne sa toxikologické testovanie vykonávalo aj v rámci niektorých fakúlt slovenských vysokých škôl (lekárskych, prírodovedeckých, farmaceutickej a veterinárnej), ústavov SAV a priemyselných laboratórií.

### Súčasná situácia v toxikologickom hodnotení chemických látok

- *Legislatívne opatrenia.* V súčasnosti sa v SR pripravuje nový zákon o chemických látkach, ktorého cieľom je ochrana života a zdravia človeka, ako aj ochrana životného