

Täiendavad võimalused pikaajaliste kutse-ekspositsioonide toksilise toime hindamiseks

Viive Pille¹, Vladimir Muzōka², Sergei Bogovski², Anu Viitak³, Toomas Veidebaum² –

¹PERHi kutsehaiguste- ja töötervishoiukeskus, ²Tervise Arengu Instituut, ³Tallinna Tehnikaülikooli keemiaminstituut

orgaanilised lahustid, keevitusaurud, diiselpõletamisgaasid, 5-aminolevuliinhape (ALH), ALH süntetaas, ALH dehüdrataas, porfobilinogeen, protoporfüriin, ferrokelaataas, Ca, Zn, Cu, Fe

Pikaajaline ekspositsioon töökeskkonnas sisalduvatele orgaaniliste lahustite, diiselpõletamisgaaside ning keevitusaurudele põhjustab mitmesuguseid tervisehäireid. Loetletud õhusaastekomponendid mõjutavad oluliselt porfüriini ja heemi ainevahetust, vallandades ainevahetushäirete ahela. Raskemetallide, porfüriini ja heemi ainevahetuse näitajate uurimine veres annab lisainfot mitmesuguste kutsekahjustuste hindamiseks.

Kogu maailmas on peamiseks surmapõhjuseks kroonilised kopsu- ning südame-veresoonkonnahaigused (1). Need haigused on paljuski tingitud väliskeskonna kahjulikest mõjuritest. Väliskeskonna mõjuritest tingitud krooniliste intoksikatsioonide diagnoosimist raskendab asjaolu, et muutused organismis on sageli mittespetsiifilised ning tavaliste kliiniliste uuringutega ei ole neid võimalik tuvastada (2).

Mitmed uuringud on näidanud seost linna atmosfääri õhu saastatuse ja hingamis- ning südame-veresoonkonnahaiguste esinemissageduse vahel (3, 4). Teatavasti on geneetilistest teguritest tingitud erinevate ensüümide aktiivsus ja hulk rakkudes indiviiditi erinev (5). Sellest tulenevalt varieerub ka individuaalne tundlikkus mitmesuguste keskkonnamõjude suhtes. Teadmine ensüümide aktiivsusest erinevates rakkudes eri indiviididel soodustab preventiivse meditsiini arengut, edukate raviprotseduuride kasutusele võtmist ning efektiivse profülaktika rakendamist (6).

Väliskeskonna toksiliste mõjude uurimiseks inimesel rakendatakse järjest laialdasemalt mitmesuguste biokeemiliste parameetrite määramist perifeerses veres. Porfüriinid ja heem, mis on raua kelaatühend protoporfüriiniga (PP), moodustuvad enamikus inimorganismi kudedes. Heem kuulub paljude hemoproteiinide koosseisu. Nende hul-

gas on ainevahetuses olulised hemoglobiin ja müoglobiin, mitokondriaalsed tsütokroomid, mis osalevad energia akumuleerimises, vahendades elektrone hapnikule; mikrosomaalsed tsütokroomid, mis katalüüsivad toksiliste ainete oksüdatsiooni (7, 8); trüptofaanpürrolaas (9) ja lämmastikoksiidsüntetaas (10). Kaks viimast ensüümi võtab osa neurotransmitterite – serotoniini ja lämmastikoksiidi biosünteesist. Kvantitatiivseid muutusi porfüriini ja heemi sünteesis võivad indutseerida mitmed toksilised tegurid. Meie uuringud (11) on näidanud, et krooniline benseeni ja plii ekspositsioon kutsus esile heemi sünteesi pärssimise peaaegu ja erütrotsüütides. Sellised nihked võivad viia kantserogeneesini (12).

Porfüriinide ja nende prekursorite analüüs veres ning uriinis on informatiivne tolmu või suitsu põhjustatud kutsehaiguste diagnoosimisel. Porfüriine saab veres kergesti määrata ja nad annavad informatsiooni biokeemiliste muutuste kohta organismis mitmesuguste haigusseisundite korral.

Töökeskkonna atmosfääris leidub tihti diiselpõletamisgaase ja aurusid koos partikkelitega, orgaanilisi lahustajaid ning metalle (13–15). Need toksilised ained võivad tekitada organismis väga agressiivseid vabu radikaale, mis käivitavad kopsus ja südame-veresoonkonnarakkudes reaktsiooniahela, mille tagajärjel kujunevad häired nende elundite talitluses.

Tabel 1. Ülekaalulisuse mõju ainevahetuse näitajatele

Rühm	ALH erütr.	PP erütr.	ALH plasma*	ALH uriin*	KP uriin*
Referentsväärtus	4,5–17,6 µmol/l	130–1400 µg/l	1,78–5,32 µmol/l	8,2 – 24,9 µmol/l	30–90 µg/l
Kontrollrühm >90 kg (tüse) (8)	5,5 ± 1,3	405,4 ± 97	2,57 ± 1,4	15,9 ± 2,5	20,1 ± 12,2
Uuringurühm >90 kg (6)	17,0 ± 4,8	753 ± 115	2,91 ± 1,26	26,2 ± 3,8	33,7 ± 15,7
Uuringurühm <90 kg (15)	20,7 ± 4,5	1613 ± 935	4,73 ± 2,18	25,6 ± 8,7	33,5 ± 22,1

* Kliinilise laboratooriumi andmed

Uurimismaterjal ja -meetodid

Uuring valmis koostööprojektina, mille eemärgiks oli leida seosed töökeskkonna õhusaastatuse ja heemi ainevahetuse muutuste vahel töölistel, kes on krooniliselt eksponeeritud mitmele õhus leiduvale saasteainele vähemalt ühe aasta vältel. Porfüriini ja heemi ainevahetuse näitajaid veres uuriti 21 töölistel, kellest 8 olid tööprotsessis eksponeeritud diiselpõletusgaaside, 8 orgaaniliste lahustite aurude ja 5 keevitusaurude toimele. Tööliste tervislikku seisundit hinnati standarditud küsitluse abil ning arstlikul läbivaatusel, kus hinnati ka neuroloogilist staatust. Kõik uurimisalused täitsid lühiküsimustiku oma harjumuste, toitumise, kasutatud ravimite ja võimalike töövälise toksiliste mõjude kohta viimase kuue kuu vältel. Uuritute keskmine iga oli 52 aastat (48–62). Rühmas oli 9 naist ja 12 meest, nendest 11 olid suitsetajad ja 10 mittesuitsetajad. Keegi uuritust ei tarvitanud vitamiine. Kuuel isikul oli liigne kehakaal. Kliinilistel uuringutel neil patoloogiat ei sedastatud. Kontrollrühma kuulusid samaaegsed keemilistest saasteainetest mõjutamata terved mittesuitsetajad inimesed.

Igalt uuritult võeti 10 ml verd vaakumkatseklaasi. Heemi sünteesi ahela kahte esimest metaboliiti, 5-aminolevuliinhappet (ALH) ja porfobilinogeeni (PBG) määrati spektrofotomeetriliselt erütrotsüütides, lümfotsüütides ja vereplasmas (16). Protoporfüriini (PP) määrati erütrotsüütides ja lümfotsüütides kromatograafiliselt ja spektrofotomeetriliselt (17). ALH süntetaasi (ALH-S) ja ALH dehüdrataasi (ALH-D) aktiivsust mõõdeti spektrofotomeetriliselt lümfotsüütides ja erütrotsüütides Bottomley, Berliini ning Schalleri meetodi järgi (16, 18). Ferrokelaatas (FK, heemsüntetaas) on mitokondri sisemembraanil paiknev ensüüm, mis katalüüsib rauaiooni inkorporeerimist protoporfüriini molekuli, olles heemi biosünteesi viimaseks lülisk. FK aktiivsust määrati Yoneyama jt kirjeldatud meetodi järgi (19).

Kahevalentsete metallide Ca, Zn ja Fe sisaldust vereplasmas mõõdeti leekatomadsorptsiooni spektromeetria meetodil.

Tabel 2. Heemi sünteesi näitajad naistel ja meestel ning suitsetajatel ja mittesuitsetajatel

Rühm	ALH (lümf.) (106)	ALH (erütr.) (µmol/l)	ALH (plasma) (µmol/l)	PBG (erütr.) (nmol/l)	PBG (plasma) (nmol/l)	PBG-D (erütr.) (µmol ALH//min)	PP (erütr.) (µmol/l)	FK (lümf.) (µmol//60')	FK (erütr.) (µmol//60')	Cu (mg/l)	Zn (mg/l)	Ca (mg/l)	Fe (mg/l)
Referentsväärtused	1,2 ± 0,2	4,5–17,6	3,5 ± 1,7	max 500	66 ± 9	33,0–60,3	max 2,48	55,7 ± 6,1	82,1 ± 8,9	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,1	110 ± 8	0,5–1,6
Naised (9)	1,6 ± 0,5	15,9 ± 7,7	3,9 ± 2,0	381 ± 132	66,8 ± 23,7	37,7 ± 6,8	1,1 ± 0,3	50,4 ± 6,3	72,3 ± 15,2	0,9 ± 0,2	1,7 ± 1,5	82 ± 8	2,3 ± 1,0
Mehed (12)	1,8 ± 0,7	17,8 ± 5,8	4,5 ± 2,0	520 ± 228	69,4 ± 17,2	35,7 ± 8,4	1,3 ± 0,7	48,2 ± 7,4	64,7 ± 17,5	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,3	78 ± 11	2,3 ± 1,3
Suitsetajad (11)	1,7 ± 0,7	16,4 ± 7,0	4,8 ± 2,2	443 ± 212	67,7 ± 22,8	38,8 ± 9,5	1,2 ± 0,2	48,6 ± 7,5	68,4 ± 15,8	0,9 ± 0,2	0,77 ± 0,3	79 ± 12	2,2 ± 1,3
Mittesuitsetajad (10)	1,7 ± 0,5	17,6 ± 6,4	3,8 ± 1,7	480 ± 198	68,8 ± 17,7	33,6 ± 4,2	1,3 ± 0,9	49,9 ± 6,0	67,4 ± 18,3	0,8 ± 0,2	1,6 ± 1,4	80 ± 8	2,3 ± 1,1

Tabel 3. Heemi sünteesi näitajad erinevatele õhusaastajatele eksponeeritud uuritutel

Rühm	ALA (lümf.) nmol/106	ALA (erütr.) µmol/l	ALA (plasma) µmol/l	PBG (erütr.) nmol/l	PBG (plasma) nmol/l	PBG-D (erütr.) µmolALH/ l/ min	PP (erütr.) µmol/l	FK (lümf.) µmol/l/60'	FK (erütr.) mol/l/60'
Referentsväärtused	1,2 ± 0,2	4,5–17,6	1,78–5,32	max 500	66 ± 9	33,0–60,3	max 2,48	55,7 ± 6,1	82,1 ± 8,9
Orgaanilised lahustid	1,5 ± 0,3	16,2 ± 8,1	3,7 ± 1,7	432 ± 202	62,3 ± 23,0	34,3 ± 6,7	1,1 ± 0,2	49,4 ± 3,3	75,0 ± 16,7
Keevitusaurud	2,0 ± 1,1	21,2 ± 5,8	4,9 ± 2,4	525 ± 321	72,2 ± 19,3	38,5 ± 11,6	2,0 ± 0,9	47,1 ± 13,0	68,5 ± 17,4
Diiselheitgaasid	1,7 ± 0,6	18,7 ± 2,8	4,7 ± 1,3	448 ± 110	67,1 ± 18,6	36,9 ± 7,63	2,8 ± 0,2	42,1 ± 2,0	52,4 ± 5,3

Tabel 4. Metallide sisaldus erinevatele õhusaastajatele eksponeeritud tööliste vereplasmas

Rühm	Cu, mg/l	Zn, mg/l	Ca, mg/l	Fe, mg/l
Referentsväärtused	1,1 ± 0,2 (0,6–1,20)	1,1 ± 0,1 (0,6–1,60)	110 ± 8 (90–120)	0,5–1,6
Orgaanilised lahustajad	0,83 ± 0,30	1,10 ± 0,86	80,00 ± 10,73	1,86 ± 0,47
Keevitusaurud	0,89 ± 0,20	0,85 ± 0,18	82,73 ± 14,46	1,90 ± 1,19
Diiselheitgaasid	0,83 ± 0,22	1,58 ± 1,56	75,71 ± 6,72	3,09 ± 1,48

Tulemused

Heemi ja porfüriini ainevahetuse näitajad varieerusid oluliselt sõltuvalt uuritava kehakaalust (vt tabel 1). Kuus uurimisel olid ülekaalulised kehakaaluga üle 90 kg, 15 uurimisel normaalse kehakaaluga. Ilmnes, et kõikidel uuritavatel registreeriti suurenenud ALH ja PP sisaldus erütrotsüütides ning suurenenud ALH sisaldus uriinis. Samas oli PP sisaldus erütrotsüütides normaalkaalulistel uurimisel suurem võrreldes uuritud ülekaaluliste isikutega.

Uuritud meestel registreeriti suurem PBG sisaldus erütrotsüütides, naistel oli Zn sisaldus vereplasmas suurem võrreldes meestega (vt tabel 2). Uuritud näitajad ei olnud sõltuvuses uuritute suitsetamisharjumusest.

Võrreldi erinevatele õhusaastajatele eksponeeritud uurimisel biokeemilisi näitajaid (vt tabel 3). Sõltumata toksilisest mõjurist, oli ALH sisaldus lümfotsüütides ja erütrotsüütides suurenenud kõikidel uuritutel. Registreeriti oluliselt madalam FK aktiivsus diiselheitgaasidele eksponeeritud. Keevitusaurudele eksponeeritud ilmnes suurenenud PBG sisaldus erütrotsüütides. ALH sisaldus vereplasmas oli suurenenud nii keevitusaurudele kui diiselheitgaasidele eksponeeritud. Kõikidel uurimisel registreeriti rava suurenenud sisaldus plasmas, kuid vase ja tsiingi sisaldus plasmas jäi normi piiresse.

Arutelu

Meie uuringud kinnitavad, et pikaajaline ekspositsioon orgaaniliste lahustite, keevitusaurude või diiselheitgaaside suhtes kutsub esile muutusi heemi ja metallide ainevahetuses inimorganismis. Analoogete muutusi oli leitud ka mitmele teisele keemilisele ainele eksponeeritud inimestel (20). Need muutused ei ole spetsiifilised ühele või teisele õhusaastekomponendile, kuid ilmselt pikemaajalise ekspositsiooni korral võivad olla mitmesuguste patoloogiliste seisundite põhjuseks.

Meie uurimisel registreeritud ALH sisalduse kasv ja FK aktiivsuse langus lümfotsüütides võib viidata immuunmehhanismide nõrgenemisele uuritud õhusaastekomponentidele eksponeeritud inimestel (21). Samuti põhjustab selline krooniline ekspositsioon olulisi häireid heemi süsteesis ja ainevahetuses, millele viitab ALH sisalduse suurenemine vererakkudes ja FK aktiivsuse langus veres.

Keevitusaurud ja diiselheitgaasid sisaldavad raskemetalle: Fe, Cu, Zn (22, 23). On tõestatud, et nende metallide suurenenud sisaldus veres on korrelatsioonis hingamisnäitajate patoloogiliste muutustega. Seega võib nende metallide sisalduse määramine vereplasmas anda lisainfot mitmesuguste kutsehaiguste diagnoosimisel.

Porfüriini ja heemi ainevahetuse näitajate uurimise inimestel, kes on pidevalt eksponeeritud mitmesugustele töökeskonna saasteainetele, annab

lisainformatsiooni kutsekahjustuste hindamiseks, eriti nende varajases staadiumis.

Tööd on toetanud Eesti Teadusfond (grant nr 4738).

Kirjandus

1. Karakatsani A, Andreadaki S, Katsouyanni K, Dimitroulis I, Trichopoulos D, Benetou V, Trichopoulos A. Air pollution in relation to manifestations of chronic pulmonary diseases: a nested case-control study in Athens, Greece. *Eur J Epidemiol* 2003;18:45–5.
2. Ridgway P, Nixon TE, Leach JP. Occupational exposure to organic solvents and long-term nervous system damage detectable by brain imaging, neurophysiology or histopathology. *Food Chem Toxicol* 2003;41:153–87.
3. Goldberg MS, Burnett RT, Bailar III JS, Tambllyn R, Ernst P, Flegel K, et al. Identification of persons with cardiorespiratory conditions who are at risk of dying from the acute effects of ambient air particles. *Environ Health Perspect* 2001;109:487–94.
4. Prescott GJ, Cohen GR, Elton RA, Fowkes FGR, Agius R. Urban air pollution and cardiopulmonary ill-health – a 14.5 year time series study. *Occup Environ Med* 1998;55:697–704.
5. Olden K, Wilson S. Environmental health and genomics: visions and implications. *Nat Rev Genet* 2000;1:149–53.
6. Christiani DC, Sharp RR, Collman GW, Suc WA. Applying genomic technologies in environmental health research: Challenges and opportunities. *J Occup Environ Med* 2001;43:526–33.
7. Anandatheerthavarada HK, Shankar SK, Ravindranath V. Rat brain cytochromes-P450: catalytic, immunochemical properties and inducibility of multiples forms. *Brain Res* 1990;536:339–43.
8. Guengerich FP, Shimada T, Chul-Ho Yun, Yamazaki H, Raney KD, Thier R, et al. Interaction of ingested food, beverage, and tobacco components involving human cytochrome P450 1A2, 2A6, 2E1, and 3A4 enzymes. *Environ Health Perspect* 1994;102:49–55.
9. Badawy AA-B, Morgan CJ, Davis NR. Effects of heme precursor 5-aminolevulinic acid on tryptophan metabolism and disposition in the rat. *Biochem J* 1987;248:293–95.
10. Ikeda M, Suzuki M, Watarai K, Sagai M, Tomita T. Impairment of endothelium-dependent relaxation by diesel exhaust particles in rat thoracic aorta. *Jap J Pharmacol* 1995;68:183–9.
11. Muzyka V, Bogovski P. Studies of the relationship between 5-aminolevulinic acid and brain myelin proteins under the influence of benzene and lead. *Bull Experim Biol Med* 1985;10:447–9.
12. Rinski RA, Hornung RW, Silver SR, Tseng CY. Benzene exposure and hemopoietic mortality: A long-term epidemiologic risk assessment. *Am J Ind Med* 2002;42:474–80.
13. Antonini JM. Health effects of welding. *Crit Rev Toxicol* 2003;33:61–103.
14. Fairhurst S. Hazard and risk assessment of industrial chemicals in the occupational context in Europe: some current issues. *Food Chem Toxicol* 2003;41:1453–62.
15. Nilson LN, Sällsten G, Hagberg S, Bäckman L, Barregård L. Influence of solvent exposure and aging on cognitive functioning: an 18 year follow up of formerly exposed floor layers and their controls. *Occup Environ Med* 2002;59:49–57.
16. Bottomley SS, Smithee OA. Characterization and measurement of ALA-synthesis in bone marrow mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1968;159:27–37.
17. Woods JS, Miller HD. Quantitative measurement of porphyrins in biological tissues and evaluation of tissue porphyrins during toxicant exposures. *Fundam Appl Toxicol* 1993;21:291–7.
18. Berlin A, Schaller KH. European standardized method for the determination of 5-aminolevulinic acid dehydratase activity in blood. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1974;12:389–90.
19. Yoneyama Y, Tamai A, Yasuda T, Yoshikawa H. Ironchelating enzyme from rat liver. *Biochim Biophys Acta* 1965;105:100–5.
20. Muzyka V, Veimer S, Schmidt N. On carcinogenic risk evaluation of diesel exhaust. Benzene in airborne particles and alterations of heme metabolism in lymphocytes as markers of exposure. *Sci Total Environ* 1998;217:103–11.
21. Ban M, Hettich D, Bonnet P. Effect of inhaled industrial chemicals on systemic and local immune response. *Toxicology* 2003;84:41–50.
22. Adamson IY, Prieditis H, Hedgecock C, Vincent R. Zinc is the toxic factor in the lung response to an atmospheric particulate sample. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 166: 111–9.
23. Vouk VB, Piver WT. Metallic elements in fossil fuel combustion products: amounts and form of emissions and evaluation of carcinogenicity and mutagenicity. *Environ Health Perspect* 1983;47:201–25.
24. Stepniowski M, Kolarzuk E, Zagrodzki P, Solarzka K, Pietrziscka A, Kitlinski M, et al. Pattern recognition methods in evaluation of the structure of the laboratory data biomarkers, antioxidant enzymes, selected biochemical parameters, and pulmonary function of welders. *Biol Trace Elem Res* 2003;93:39–46.

Summary

Additional modalities to assess the long-term toxic effect of occupational hazards

At the present time, it is not possible to draw reliable evidence with respect to presence or absence of damage of metabolism related to the long-term effects of occupational hazards. The aim of this study was to present data indicating that occupational air pollutants have the ability to induce long-term damages of heme synthesis. The effects of long-term exposures to organic solvents, welding fumes or diesel exhaust on porphyrins and heme synthesis in blood cells were investigated. Altogether 21 participants exposed to these air hazards were examined at the Centre of Occupational Diseases and Labour Medicine and were asked to complete a questionnaire. All patients were matched for age and gender with the control group.

The levels of 5-aminolevulinic acid (ALA), porphobilinogen (PBG) and protoporphyrin (PP), activities of ALA synthetase (ALA-S), ALA-dehydratase (ALA-D) and ferrochelatase (FC) were investigated in lymphocytes and erythrocytes spectrophotometrically. The content of

metals, related to heme synthesis or metabolism, were measured in the blood plasma by flame atomic absorption spectrometry method.

Long-term exposure to organic solvents, welding fumes or diesel exhaust caused alterations in heme synthesis and in metal content in the human organism. Our data showed that chronic exposure to organic solvents caused accumulation of ALA and reduction of FC in lymphocytes. Chronic exposure to welding fumes leads to a significant accumulation of ALA in lymphocytes and erythrocytes. Long-term exposure to diesel exhaust causes a moderate accumulation of ALA and a significant decrease in FC activity in blood cells.

Our findings provide evidence that long-term exposure to air pollution is an important factor in development of chronic diseases.

sergei.bogovski@tai.ee