

# A GÉN-ÉS IMMUNTOXIKOLÓGIAI MONITOR GYAKORLATI JELENTŐSÉGE A DAGANATOS MEGBETEGEDÉSEK KOCKÁZATBECSLÉSÉBEN FORMALINNAL EXPONÁLT DOLGOZÓK VIZSGÁLATAI ALAPJÁN

Besenyei Krisztina, Jakab Mátyás, Tompa Anna, Biró Anna  
Nemzeti Népegészségügyi Központ

TOX'2019 Konferencia  
Szeged, 2019. október 9-11.

# Bevezetés

- Nemzetközi statisztikák szerint a rosszindulatú daganatos megbetegedések okozta elhalálozások 5,3-8,4%-áért a foglalkozással összefüggő ártalom a felelős.
- A rákos megbetegedések és a munkahelyi eredetű rákos megbetegedések mortalitása egyre nő (növekvő várható élettartam, gyógyítható betegségek).
- A 10 legfontosabb munkahelyi rákkeltő felelős a munkahelyi eredetű rákos elhalálozások kb. 85%-áért.
- A leggyakoribb munkahelyi eredetű rákos megbetegedések a tüdőrák (54-75%), leukémia és rosszindulatú mezothelioma (azbeszt expozíció)

# Munkahelyi eredetű, rosszindulatú daganatos halálozás alakulása az EU-ban (2011)

Country	Occupational cancer deaths
Andorra	17
Austria	1820
Belgium	2079
Bulgaria	1445
Croatia	742
Cyprus	179
Czech Republic	2238
Denmark	1242
Estonia	292
Finland	1135
France	12035
Germany	17706
Gibraltar	5
Greece	2131
Greenland	14
Guernsey	13
Hungary	1808
Ireland	928
Isle of Man	18

Country	Occupational cancer deaths
Italy	10609
Jersey	23
Latvia	491
Lithuania	694
Luxembourg	98
Malta	75
Monaco	21
Netherlands	3721
Poland	7501
Portugal	2371
Romania	4233
San Marino	0
Slovakia	1150
Slovenia	442
Spain	9807
Sweden	2103
United Kingdom	13330
<b>Total EU</b>	<b>102,517</b>

# Célkitűzés

A gén- és immuntoxikológiai monitor alkalmazhatóságának bemutatása a munkahelyi, kémiai kóroki tényezők okozta megbetegedések megelőzésében, valamint a preventív munkavédelmi intézkedések hatékonyságának ellenőrzésében.

Az NNK Toxikológiai Laboratóriumi Osztályán az elmúlt 30 év alatt több mint 6000 donor, 30.000 vizsgálata történt meg, részben pilóta, részben követéses vizsgálatban.

Az exponált donorok vizsgálati eredményeit kontroll donorok adataihoz viszonyítva (epidemiológia megközelítésben) összefüggések állapíthatók meg a szervezetben végbemenő változások és a szervezetet ért káros hatások között.

Különbéle expozíciók hatása a monitor használatával specifikusan tanulmányozható.

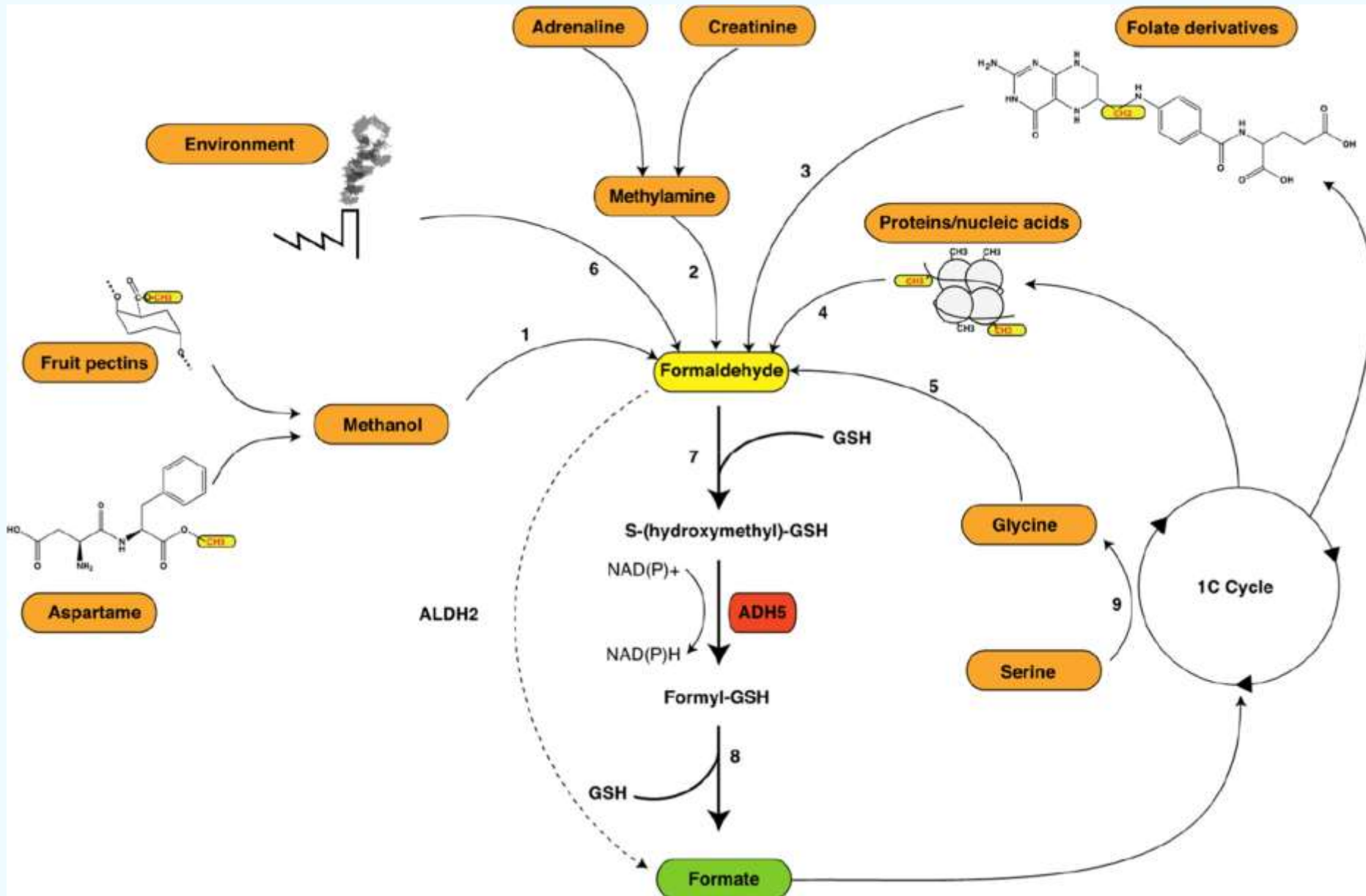
# Mikor van szükség a géntoxikológiai monitorra ?

1. Rákkeltő anyagokkal foglalkoztatott munkavállalóknál.
2. Munkavégzés során elszenvedett radioaktív vagy vegyi baleseti helyzetben, a késői toxikus hatások elemzéséhez.
3. Ha valamely betegség kialakulásában felmerül a mutagén/karcinogén ártalom szerepe.
4. A környezeti ártalom fokozódásával ill. kiiktatásával összefüggően, a genetikai állományban kialakult változások (késői toxikus következmények) kimutatására.
5. Daganatos betegeknel, ahol citosztatikus, immunszuppresszív vagy sugár terápia következményeként második betegség kialakulásától lehet tartani. (kezelés előtt elvégezve a vizsgálatot)
6. Minden olyan esetben, amikor korai daganatos tünetek és/vagy onkogén expresszió jelentkeznek .

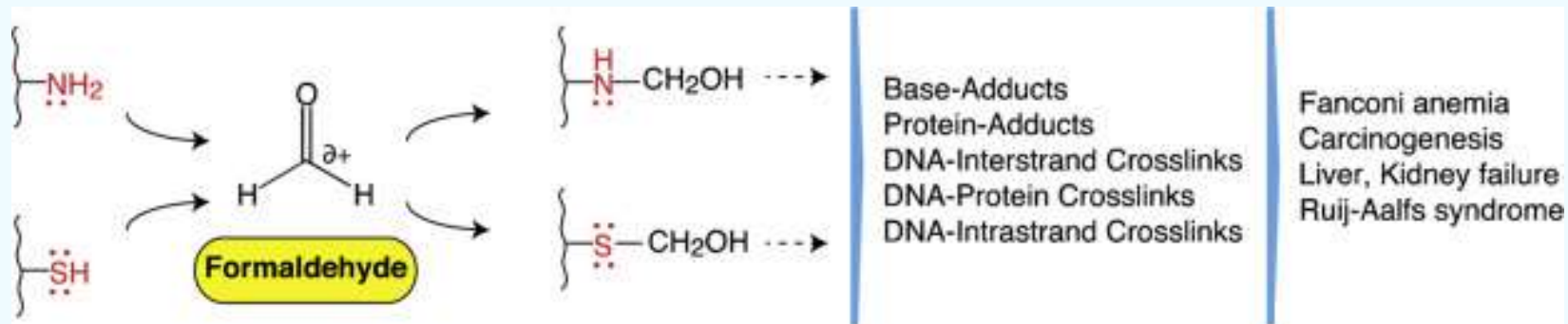
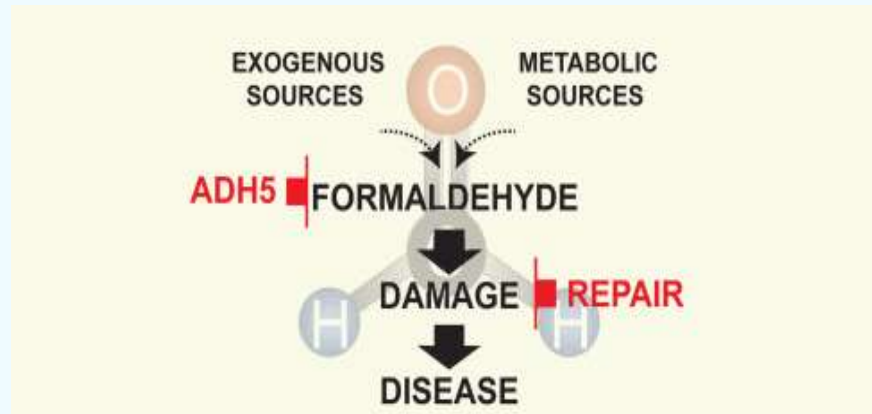
# Fontosabb munkahelyi kémiai rákkeltők

VEGYI ANYAG	MUNKAHELY
Arzén	Mezőgazdaság, halászat, bányászat
Azbeszt	Bányászat, tűzvédelem
Radon	Bányászat
Ipari korom, nyersgumi	Szigetelés, csatorna, kéménytisztítás
Aromás aminok	Festékgyártás
Policiklikus aromás szénhidrogének (PAH)	Kőolajipar
Nikkel, króm	Fémipar
Peszticidek	Vegyipar, mezőgazdaság
Vinilklorid	Műszálgyártás
Sztirol	Műanyagfeldolgozás
Formaldehid	Festékgyártás, egészségügy
Klórozott szénhidrogének	Peszticidek gyártása
Benzol	Gumiipar, olajfinomítás
Festékek, színezők, cserzők	Bőripar
Fapor, ragasztók, műgyanták	Faipar
Akrilnitril, dimetil-formamid	Textilipar
Etilénoxid	Egészségügy, élelmiszeripar

# Formaldehid expozíció



# Formaldehid expozíció egészségkárosító hatása





# A monitor módszerei

## Részletes anamnézis felvétel és klinikai laboratóriumi vizsgálatok

Vizsgálati minta: venipunkcióval nyert leukociták

### Géntoxikológiai végpontok (Genotípus módosulások):

- Szerkezeti és számbeli kromoszóma aberrációk (CA)
- UV-indukált unscheduled DNS szintézis (UDS)
- Egysejtes gélelektroforézis (COMET)
- Sister-chromatid exchange (SCE)

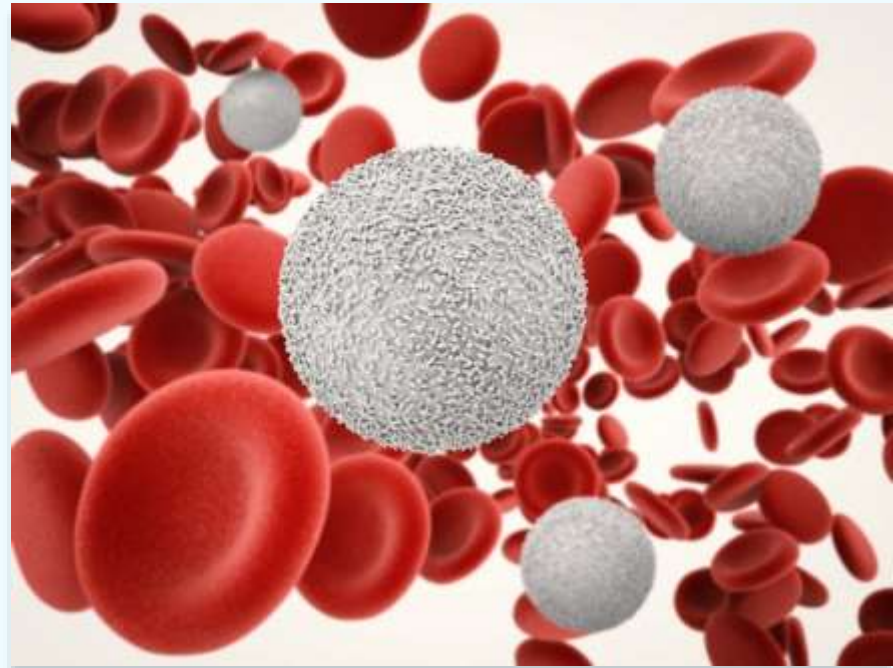
### Immuntoxikológiai végpontok (Fenotípus módosulások):

- Limfocita szubpopulációk aránya (T, Th, Tc, Th/Tc, B, NK)
- Aktivációs markerek (CD25+, CD71+)
- Leukociták ölőképességének vizsgálata  
(reaktív oxigén-intermedier termelés mérése)

### Apoptózis és sejtproliferáció mérése áramlási citometriával

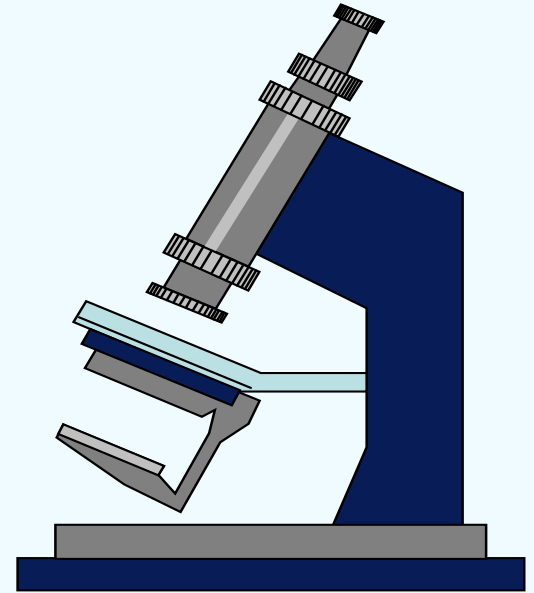
# Limfocita minta előnyei:

- könnyen nyerhetők
- a limfociták az egész test expozícióját reprezentálják
- hosszú életidejűek
- a tenyésztés egyszerű
- humánspecifikus



# 1. Strukturális kromoszóma aberrációk

- Valódi mutációs eseményeket tükröznek
- Hosszú távú expozíció retrospektíven is detektálhatók
- Pozitív eredmények megbízhatóak
- Érzékenységi problémák lehetnek: tenyésztés, DNS repair, szelektív stimuláció
- Az analízis időigényes és speciális képzettséget igényel



# A kromoszóma aberrációk mértékének és a populációban később kialakuló daganatok valószínűségének összefüggése

## 1984 donor, 18 éves követés

CA gyakoriság	Észlelt daganat gyakoriság	Becsült daganat gyakoriság	Standardizált incidencia arány (SIR)	95% CI
Alacsony < 1.0 %	16	18.4	0.9	0.5-1.6
Közepes 1.0-3.0 %	11	16.6	0.7	0.3-1.2
Magas > 3.0 %	39	18.9	2.1	1.5-2.8
Összes	66	53.9	1.2	1.0-1.6

P = 0.0009 trend

(Hagmar L, et al.: Cancer Res. 54:2919. 1994.)

## 1455 donor, 20 éves követés

Tumor típusa	CA gyakoriság	Standardizált mortalitási arány (SMR)
Összes tumor	Magas	178.5
	Közepes	182.0
Légzőrendszer	Magas	250.8
Lymphoid, hemopoietikus	Magas	548.8

(Bonassi S, et al.: Cancer Genet. Cytogenet. 79:133. 1995.)

# A leggyakoribb kromoszóma aberrációk

A kromoszóma és kromatida típusú aberrációk keletkezése a sejtciklus során

## A) Kromatida típusú kromoszóma aberrációk

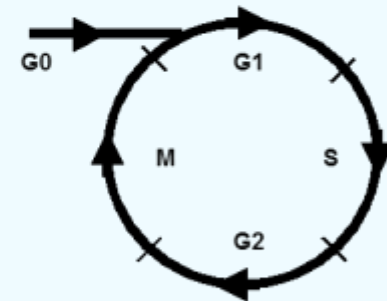
- Gap vagy akromatikus lézió
- Transzlokáció
- Kromatid break vagy törés
- Exchange



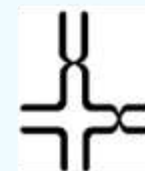
Kromoszóma típusú aberrációk  
(egykromatidás állapot)

## B) Kromoszóma típusú kromoszóma aberrációk

- Terminális deléció vagy kromoszóma törés
- Dicentrikus kromoszóma
- Gyűrű (ring) kromoszóma

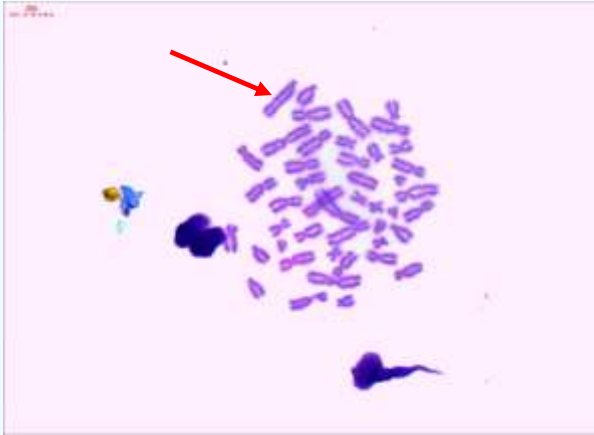


Kromatida típusú aberrációk  
(kétkromatidás állapot)

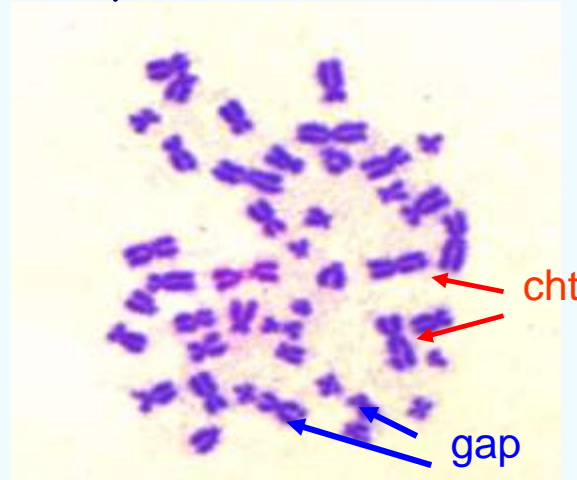


# A leggyakoribb kromoszóma aberrációk mikroszkópi képe

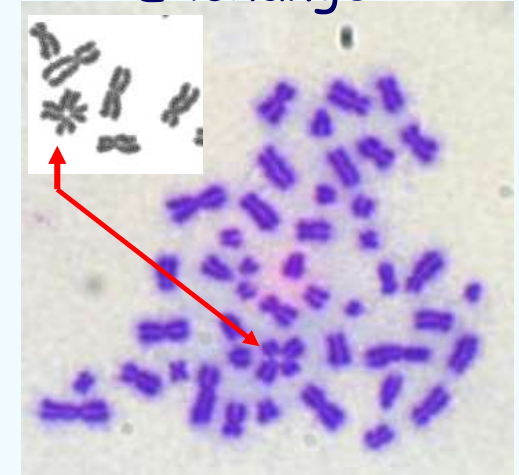
Transzlokáció



Gap és kromatid törés



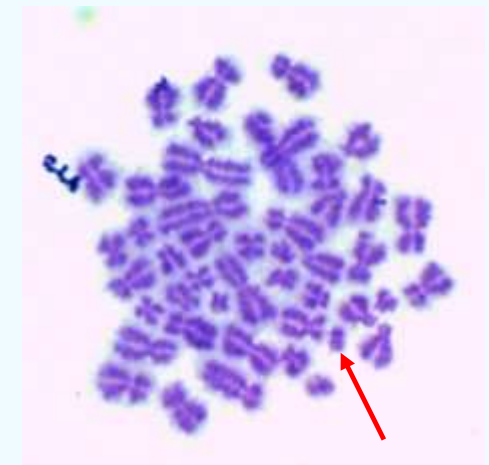
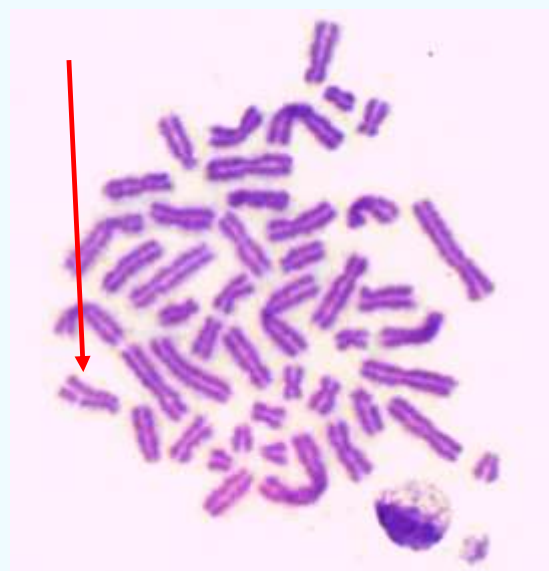
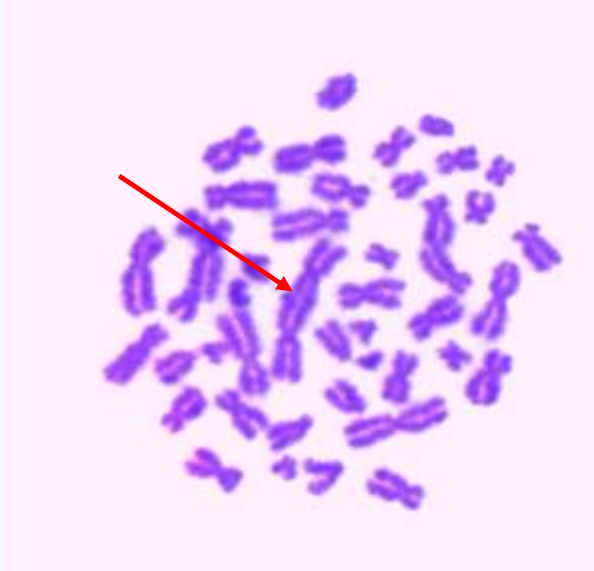
Exchange



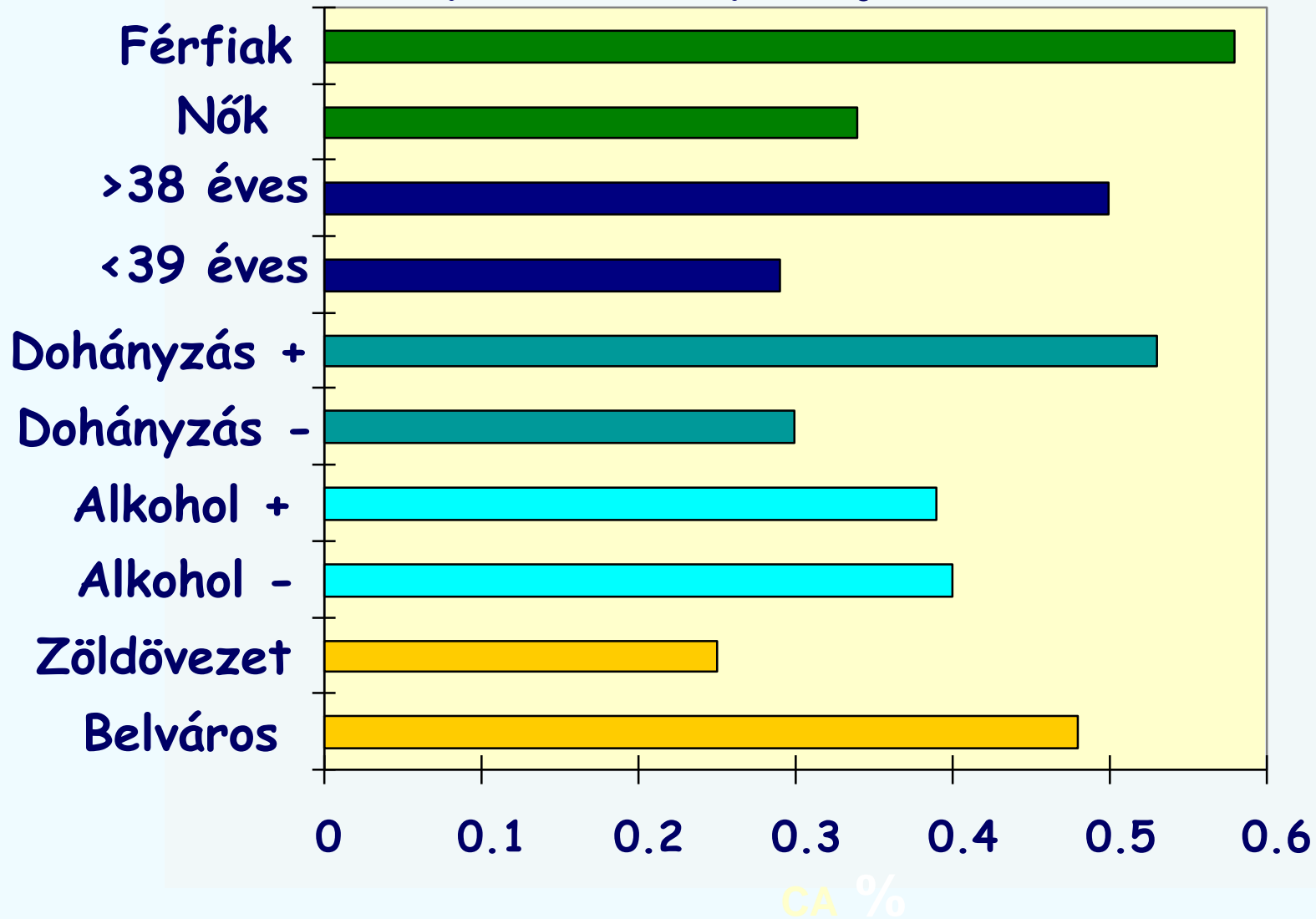
Dicentrikus kromoszóma

Kromoszóma törés

Gyűrű kromoszóma



# Kromoszóma aberrációk gyakorisága a történeti kontrollok nem, életkor és életvitel szerint képzett csoportjaiban



## 2. Immuntoxikológia

Az immunrendszer fő feladata a szervezetbe kerülő idegen fehérjék, antigének, fertőző ágensekkel szembeni harc, de a szervezeten belül kialakuló daganatos folyamatok elleni küzdelemben is fontos szerepe van. Az immunrendszer reagál a környezeti fizikai (hő, UV, radioaktivitás) és kémiai ágensekre (dohányzás, környezet szennyezés, gyógyszerek) is. Ezek az ágensek stimulálhatják a működést ( túlérzékenységi reakciók, autoimmunitás), vagy gátolhatják azt (fokozott hajlam a rákra, vagy a fertőzésekre).



**Környezeti  
hatások**

**Életmód**

**Munkahelyi  
ártalom**

**Immunrendszer  
működésének  
zavara**

**Fertőzés iránti  
hajlam  
fokozódása**

**Daganati  
kockázat  
növekedése**

**Krónikus, nem fertőző  
betegségek kialakulásának  
esélye nő**

# Vizsgált biomarkerek

## ➤ Immunfenotipizálás

Limfocita szubpopulációk aránya:

T limfociták: CD3+

Helper T limfociták: CD3+/CD4+

Citotoxikus T sejtek: CD3+/CD8+

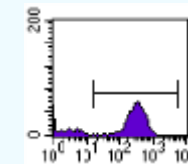
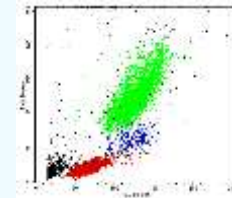
B limfociták: CD19+

NK sejtek: CD3-/CD56+

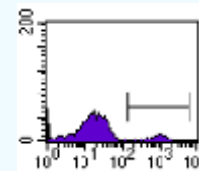
Aktivációs markerek

IL2 receptor: CD25

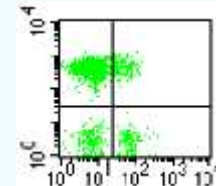
Transzferrin R: CD71



T limfocita



B limfocita



NK sejt

## ➤ Leukociták ölképességének vizsgálata

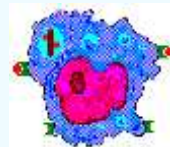
Reaktív oxigén intermedier (ROI) termelés mérése  
(Phagoburst®)

-fMLP

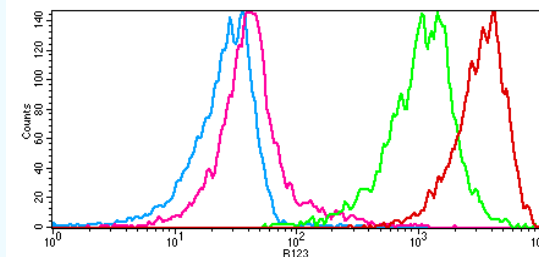
-E.coli

-PMA

fagocitózis  
aktiváció



ROI termelés



# Kontrollok és formaldehid exponált egészségügyi dolgozók demográfiai adatai

Csoportok	n	Életkor		Dohányzók (aktív + ex)	Alkohol
		Esetek (tesztek)	átlag ± SE	median (min-max)	%
Kontroll (nők)	76 (76)	36,25 ± 1,32	35 (17-70)	30,3	36,8
Kórházi kontroll	19 (19)	38,68 ± 2,28	38 (24-58)	47,4	47,4
Formaldehid exponáltak (nők)	84 (115)	44,06 ± 0,88	44 (21-64)	40,0	47,0
Formaldehid exponáltak (férfiak)	15 (19)	39,53 ± 2,79	34 (25-59)	36,8	73,7

# Formaldehid exponált kórházi dolgozók géntoxikológiai vizsgálatainak eredményei

(átlag ± SD)

Csoportok	n	CA	UDS	UDS $\leq$ 4	UDS $\geq$ 9	SCE
		%	rel. unit	%	%	1/mitoses
Kontroll (nők)	76	1,92 ± 0,38	6,35 ± 0,34	20,5	15,1	6,06 ± 0,20
Kontroll (nők) nemdohányzó	53	1,92 ± 0,51	6,20 ± 0,40	21,6	13,7	5,97 ± 0,18
Kontroll (nők) dohányzó	23	1,91 ± 0,51	6,74 ± 0,66	19,0	19,0	6,56 ± 0,42
Kórházi kontroll	19	3,05 ± 0,52	5,98 ± 0,67	21,1	15,8	6,38 ± 0,25
Kórházi kontroll nemdohányzó	10	3,60 ± 0,88	6,47 ± 1,07	-	-	5,96 ± 0,27
Kórházi kontroll dohányzó	9	2,44 ± 0,83	5,43 ± 1,15	-	-	6,69 ± 0,46
Formaldehid exponált (nők)	114	3,47 ± 0,27*	6,41 ± 0,35	27,4	21,1	6,34 ± 0,10
Formaldehid exponált (nők) nemdohányzó	68	3,09 ± 0,31	6,27 ± 0,47	26,5	14,7	6,11 ± 0,13
Formaldehid exponált (nők) dohányzó	46	3,95 ± 0,48	6,69 ± 0,52	17,4	21,7	6,69 ± 0,15**
Formaldehid exponált (férfiak)	19	4,58 ± 0,93*	5,71 ± 0,73	33,3	27,8	6,05 ± 0,17
Formaldehid exp. (férfiak) nemdohányzó	12	-	-	-	-	-
Formaldehid exp. (férfiak) dohányzó	7	-	-	-	-	-

\* Szignifikáns a kontrollhoz viszonyítva

\*\* Szignifikáns a nemdohányzókhöz viszonyítva

# Formaldehid exponált kórházi dolgozók immunfenotipizálásának eredményei

(átlag érték  $\pm$  SD)

Csoportok	n	T cell	Th	Tc	Th/Tc	B cell	NK cell
		%	%	%	%	%	%
Kontroll (nők)	59	72,1 $\pm$ 0,9	42,9 $\pm$ 0,95	26,9 $\pm$ 0,9	1,74 $\pm$ 0,09	9,9 $\pm$ 0,4	13,4 $\pm$ 0,8
Kórházi kontroll	13	70,4 $\pm$ 2,4	41,3 $\pm$ 2,10	24,7 $\pm$ 1,8	1,76 $\pm$ 0,19	10,4 $\pm$ 1,2	14,6 $\pm$ 2,4
Formaldehid exponáltak (nők)	81	74,1 $\pm$ 0,7	46,2 $\pm$ 0,8*	25,8 $\pm$ 0,8	2,00 $\pm$ 0,1	10,4 $\pm$ 0,4	11,3 $\pm$ 0,6*
Formaldehid exponáltak (férfiak)	15	67,4 $\pm$ 1,8*	42,1 $\pm$ 1,5	20,6 $\pm$ 1,0*	2,14 $\pm$ 0,18	12,3 $\pm$ 1,0*	16,8 $\pm$ 1,8

\* Szignifikáns a kontrollhoz viszonyítva

# Formaldehid exponált kórházi dolgozók körében előforduló benignus és malignus tumorok előfordulási gyakorisága

Csoportok	n	Benignus tumorok		Malignus tumorok	
		Esetek száma	%	Esetek száma	%
Kontroll (nők)	76 (76)	6/76	7,9	5/76	6,6
Kórházi kontroll	19 (19)	3/19	15,8	1/19	5,3
Formaldehid exponált (nők)	84 (115)	17/84	20,2	19/84	22,6
Formaldehid exponált (férfiak)	15 (19)	-	-	3/15	20,0

# Formaldehid exponált kórházi dolgozók körében előforduló egyéb, nem-fertőző, krónikus megbetegedések gyakorisága

Csoportok	n	Magas vérnyomás	Diabetes	Pajzsmirigy	Allergia
Kontroll (nők)	76 (76)	5/76	-	1/76	35/76
Kórházi kontroll	19 (19)	3/19	-	6/19	9/19
Formaldehid exponált (nők)	84 (115)	17/84	4/84	8/84	35/84
Formaldehid exponált (férfiak)	15 (19)	3/15	-	-	6/15

# Következtetések

- A géntoxikológiai és immuntoxikológiai vizsgálatok, részletes anamnesztikus és klinikai háttér együttes alkalmazásával **pontos képet adnak** a kémiai kóroki tényezők hatására kialakuló egészségkárosodás kockázatáról.
- A bemutatott vizsgálatok alkalmazhatók a **kombinált kémiai expozíciók** kockázatbecslésében is.
- A **követéses vizsgálatok** egyfelől pontosabb képet adnak az expozíció változásairól, mint a pilóta vizsgálatok, másrészt a kockázatkezelés hatékonyságát is képesek igazolni.
- A karcinogén anyagok koncentrációjának csökkentése vagy eliminálása, ezzel párhuzamosan a **kémiai biztonsági** (ill. minőségbiztosítási) **előírások megléte és tudatos betartása védelmet jelent** az egészségkárosító kémiai expozíciók, így a munkahelyi eredetű rákos megbetegedések kialakulása ellen is.



**Köszönöm a figyelmet!**