

**Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici**

# **ASHRAM**

**ARSENIC HEALTH RISK ASSESMENT AND MOLECULAR EPIDEMIOLOGY  
ANALÝZA RIZIKA ARZÉNU A MOLEKULÁRNA EPIDEMIOLOGIA**

**Banská Bystrica, Slovenská republika, 2009**

**EDITORI:**  
**MUDR. KVETOSLAVA KOPPOVÁ, PHD.**  
**ING. JANA NÁMEŠNÁ**

# RIEŠITEĽSKÉ PRACOVISKÁ – PROJEKT ASHRAM

V Slovenskej republike sa na projekte zúčastnili organizácie:

## **Regionálny úrad verejného zdravotníctva Banská Bystrica – zodpovedný riešiteľ projektu v Slovenskej republike**

MUDr. Kvetoslava Koppová, PhD. – zodpovedný riešiteľ v Slovenskej republike  
MUDr. Eleonóra Fabiánová, PhD. - regionálna hygienička, odborný garant projektu  
MUDr. Katarína Slotová, PhD.  
Ing. Marek Drímal, PhD.  
Ing. Zuzana Šikulová  
PhDr. Pavlína Bartová  
Ing. Milan Danko  
RNDr. Františka Hrubá, PhD.  
MUDr. Ivana Sedliačiková, MPH  
MUDr. Agáta Koprivová  
MUDr. Jarmila Beláková  
Ing. Jana Námešná  
Ing. Zuzana Mazúrová  
Ing. Katarína Zelená  
MUDr. Ľubica Hettychová  
Jana Cimermanová  
Zdena Mudráková  
Ing. Daniela Borošová  
Hana Jelínková  
Jozefína Mlynáriková  
Ing. Valéria Skupeňová  
Ing. Peter Miškovič  
Mgr. Marie Sršňová

### ***Technická spolupráca***

Ing. Ema Drobová  
Ing. Ján Villim  
Mgr. Katarína Sedliaková  
Anna Vigašová  
Soňa Rendlová  
Mária Berková  
Libuša Ščepková

## **Regionálny úrad verejného zdravotníctva Nitra**

MUDr. Mariana Malíková  
MUDr. Miroslav Machata, MPH, PhD.  
Mgr. Alexander Hricko  
MUDr. Katarína Tináková  
MUDr. Ján Szeleš  
Erika Ondrášková  
Ing. Martin Vencelík

### **Regionálny úrad verejného zdravotníctva Levice**

MUDr. Dana Čechová  
Ing. Jozef Péter  
Ing. Erika Jakubíková

### **Regionálny úrad verejného zdravotníctva Nové Zámky**

MUDr. Magdaléna Majzonová  
Mgr. Simona Kunčáková  
Ing. Ladislav Slaný, MPH  
Viera Ballová  
Viera Pálešová  
Adela Miškovičová  
Ing. Silvia Kasášová  
MUDr. Juraj Benko  
Jaroslav Vodička  
Jarmila Svitekova  
Ing. Ingrid Jaššová

### **Regionálny úrad verejného zdravotníctva Žiar nad Hronom**

MUDr. Margita Zajacová  
Jolana Koláriková  
Viera Miháliková  
Mária Šugárová  
Ing. Libor Tesař  
Mária Debnárová  
Maroš Ondřík  
Ludmila Ondříková  
Ing. Peter Olejarník  
Darina Harachová

### **Fakultná nemocnica s poliklinikou F.D. Roosevelta v Banskej Bystrici**

MUDr. Slavomír Urbanček  
MUDr. Vladimír Baláž  
MUDr. Jana Menšíková  
MUDr. Erik Wagner  
MUDr. Milan Kaniansky

### **Fakultná nemocnica Nitra**

MUDr. Eva Vrtíková  
Gabriela Horníková  
MUDr. Dušan Ďurčanský, CSc.  
PhDr. Darina Matuščinová  
MUDr. Juraj Barta  
Katarína Čerešňová

### **Nemocnica s poliklinikou Brezno n.o.**

MUDr. Jaroslav Jackuliak  
MUDr. Pavel Mráz  
Marcela Goceliaková  
MUDr. Peter Saktor

### **Fakultná nemocnica s poliklinikou Nové Zámky**

MUDr. Georgína Ghobrialová  
MUDr. Alexander Sládeček  
MUDr. Imrich Matuška  
MUDr. Tomáš Kovačič  
MUDr. Silvester Demo  
MUDr. Mikuláš Bocz

### **Nemocnica s poliklinikou Levice**

Alica Éderová  
Anna Fabiánová

### **Nemocnica s poliklinikou Nová Baňa**

Judita Kvapilová

### **Výskumný ústav vodného hospodárstva Bratislava**

Ing. Ľuboslav Gajdoš

### **Štátny geologický ústav Dionýza Štúra Bratislava**

Mgr. Katarína Krčmová, PhD.  
doc. RNDr. Stanislav Rapant, CSc.

### **Výskumný ústav potravinársky Bratislava**

Ing. Danko Šalgovičová  
Ing. Angela Svätlíková

### **HISTOCYT s.r.o. Banská Bystrica**

MUDr. Dagmar Hudcová  
MUDr. Ľudovít Mateček

### **Fakultná nemocnica s poliklinikou Bratislava, Nemocnica Staré Mesto, Mickiewiczova 13, Bratislava**

MUDr. Daniela Kobzová

### **Nemocnica s poliklinikou Zvolen**

MUDr. Jan Kuřátko

### **Nemocnica s poliklinikou Žiar nad Hronom**

Mária Koková  
MUDr. Pavol Lajčiak  
Viera Miháliková

# OBSAH

Všeobecné informácie o projekte „Hodnotenie rizika arzénu a molekulárna epidemiológia“.....	7
Spracovala: MUDr. Kvetoslava Koppová, PhD	
Záverečná správa medzinárodného projektu Arsenic Health Risk Assessment and Molecular Epidemiology, preklad verzia z 25. augusta 2005 .....	11
Preložili:	
RNDr. Františka Hrubá, PhD	
Ing. Danko Borošová, PhD	
MUDr. Kvetoslava Koppová, PhD	
MUDr. Zora Adamčáková	
Správa o terénnej práci na Slovensku“ .....	80
Spracovala: MUDr. Kvetoslava Koppová, PhD	
Prednášky z odborného seminára „Hodnotenie zdravotných rizík z expozície arzénu „ konaného 20. januára 2009 v Banskej Bystrici.....	103

**VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE  
O PROJEKTE  
„HODNOTENIE RIZIKA ARZÉNU  
A MOLEKULÁRNA  
EPIDEMIOLOGIA“**

---

Výskumný projekt ASHRAM – Arsenic Health Risk Assessment and Molecular epidemiology bol riešený v rámci Piateho rámcového programu EÚ Kvalita života a manažment životných podmienok, podporovaný grantom Európskej komisie na základe kontraktu QLRT-2001-00264. Projekt bol riadený medzinárodným konzorciom odborníkov Európskej únie v zastúpení: Londýnska škola hygieny a tropickej medicíny, Veľká Británia; Karolínsky inštitút Štokholm, Švédsko; Karl-Franz Univerzita Graz, Rakúsko.

Riešiteľskými štátmi boli tri krajiny Strednej Európy – Slovensko, Maďarsko, Rumunsko. Projekt prebiehal v trojročnom časovom období 2002 – 2004. Vychádzal z predpokladu, že konzumáciu vody s koncentráciou As 10 µg/l a viac, ktorá bola zistená v niektorých európskych krajinách, možno považovať za zdravotne významnú, z čoho vychádzali aj jeho hlavné ciele:

- Kvantifikovať karcinogénne riziko (karcinóm kože, močového mechúra, obličiek) súvisiace s príjmom arzenu ingesciou – prostredníctvom pitnej vody v Slovenskej republike, Maďarsku a v Rumunsku.
- Vyhodnotiť účinok a dopad individuálnych rozdielov v metabolizme a rekonštrukcii DNA vo vzťahu ku karcinogénnemu riziku.
- Charakterizovať determinanty individuálnych rozdielov v špecifikácii arzenu in vivo.
- Na základe nových poznatkov analyzovať súčasný model odhadu karcinogénneho rizika súvisiaceho s arzénom a opodstatnenosť súčasných a navrhovaných štandardov pre As v pitnej vode.

V súlade s cieľmi projektu bola pozornosť v projekte venovaná výskumu metabolizmu As a jeho interakcii so zložkami bunky, možnej bioakumulácii As, účinkom As na genetický materiál, lepšej charakterizácii expozícií človeka a zdravotných účinkov As.

Projekt mal dizajn prospektívnej epidemiologickej štúdie prípadov a kontrol, bola využitá metóda kvantitatívneho hodnotenia zdravotných rizík z príjmu arzenu, vrátane genetických markerov citlivosti a stanovenia metabolitov arzenu v moči respondentov. Multicentrická štúdia prípadov a kontrol bola realizovaná s multidisciplinárnym prístupom epidemiológov, toxikológov, chemických analytikov, genetikov.

Pre realizovanie projektu ASHRAM v Slovenskej republike boli vybrané oblasti, v ktorých obyvatelia pili vodu z verejných vodovodov s obsahom arzenu nad 10 µg/l. Oblasť sú situované v Banskobystrickom a Nitrianskom kraji, spolu 7 okresov: Banská Bystrica, Brezno, Žiar nad Hronom, Žarnovica, Nitra, Levice, Nové Zámky. Okres Nitra bol do projektu zaradený vzhľadom k spádovosti poskytovania zdravotnej starostlivosti.

V rámci Slovenskej republiky bol zodpovedným riešiteľským pracoviskom Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici, odborným garantom bola MUDr. Eleonóra Fabiánová, PhD, riaditeľka RÚVZ Banská Bystrica, zodpovedným riešiteľom MUDr. Kvetoslava Koppová, PhD, vedúca odboru hygieny životného prostredia RÚVZ Banská Bystrica.

Ďalšími riešiteľskými inštitúciami v SR boli: Regionálny úrad verejného zdravotníctva Nové Zámky, Levice, Nitra, Žiar nad Hronom, NSP F.D. Roosevelta Banská Bystrica, NSP Nitra, Brezno, Levice, Nová Baňa, Žiar nad Hronom, Štátny geologický ústav Dionýza Štúra, Výskumný ústav vodného hospodárstva, Výskumný ústav potravinársky.

Prvý rok projektu bola práca odborného tímu sústredená na prípravu spoločných protokolov, dotazníkov, ich odskúšania v nemocniciach v pilotnej štúdii, detailné spracovanie systému vyhľadávania pacientov a zavedenie tohto systému. Všetky písomné materiály, na príprave ktorých sa riešitelia zo Slovenska priamo podieľali, boli preložené do slovenského jazyka.

Od januára 2003 sa začala plná fáza projektu, v ktorej bola epidemiologická časť práce sústredená na vyhľadávanie pacientov na urologických a kožných oddeleniach a prácu s pacientmi pri ich zaradení do štúdie. Veľmi podrobne boli do projektu zaškolení lekári a sestry príslušných lôžkových oddelení nemocníc zúčastnených v projekte. Práca na projekte si vyžadovala úzku, takmer dennú spoluprácu



regionálnych úradov verejného zdravotníctva so zdravotníckymi pracovníkmi v nemocniciach pri vyhladávaní pacientov a zabezpečovaní odberov biologických materiálov a dôslednom spracovaní údajov do dotazníkov. Do štúdie boli zaradovaní pacienti – nové prípady a recidívy histologicky verifikovaných prípadov ochorení na rakovinu kože, močového mechúra a obličiek vo veku 30 – 79 rokov, s bydliskom vo vybratých oblastiach. Pacienti s rakovinou obličiek a močového mechúra boli identifikovaní klinikmi na urologických oddeleniach. Pacienti s rakovinou kože boli identifikovaní pri histologickom vyšetrení lekármi patológmi.

Pacienti – kontroly boli vyberaní podľa prijatých kritérií – rovnakého pohlavia, rovnakej vekovej kategórie, bývanie v študovanej oblasti, bez výskytu iného nádorového ochorenia v anamnéze, s možnými diagnózami – zápal červovitého privesku, abdominálna hernia, žlčové kamene, zlomeniny, vredové ochorenie dvanástnika.

Podrobné údaje o každom účastníkovi v projekte boli získavané spracovaním dotazníkov – hlavný dotazník obsahoval základné demografické údaje o respondentovi, osobnú zdravotnú a pracovnú anamnézu, podrobné zisťovanie druhu a spôsobu zásobovania pitnou vodou, otázky zamerané na životný štýl, vrátane fajčenia a opalovania. Dotazník výživových zvyklostí bol zameraný na zisťovanie stravovacích návykov v období pred rokom 1989 a zisťovanie stravovacích návykov po roku 1989.

Od každého pacienta boli odobraté vzorky krvi a moču. Vzorky museli byť odobraté v prvý deň príjmu do nemocnice a ihneď po odbere zmrazené, aby bola hodnoverne zistená expozícia As.

Štúdia prípadov a kontrol bola realizovaná v priebehu 20-tich mesiacov, s ukončením v septembri 2004. Spolu bolo do štúdie pozvaných 1836 pacientov, 1566, t.j. 85,3% súhlasilo s účasťou v štúdii. Neskôr bolo 71 z nich zo štúdie vylúčených, nakoľko nemali rakovinové ochorenie preukázané histologickým vyšetrením, 7 ďalších bolo vylúčených z iných dôvodov. Pre analýzy tak boli k dispozícii údaje o 1488 pacientoch, z toho 531 bolo z Maďarska, 467 z Rumunska a 490 zo Slovenska. Zo skupiny pacientov zahrnutých v štúdii 948 boli pacienti s potvrdeným ochorením na rakovinu a 540 boli pacienti kontroly.

Súbežne s epidemiologickou časťou práce boli zabezpečené úlohy, ktoré si vyžadovalo hodnotenie expozície z príjmu As ingesciou. Bol pripravený návrh modelu pre hodnotenie expozície arzénu, v ktorom sa uvažovalo s hodnotením kumulatívnej dávky As so zohľadnením relevantných ciest príjmu. Veľmi podrobne bolo u každého pacienta zisťované zásobovanie pitnou vodou retrospektívne, pokiaľ bolo možné od narodenia. Osobitne bolo zisťované zásobovanie vodou na pracoviskách, na ktorých pacient pracoval. Odbery vzoriek vôd na stanovenie As boli robené zo všetkých spotrebísk, ktoré boli identifikované ako relevantné pre hodnotenie expozície konkrétneho respondenta. Spolu bolo v SR odobratých a vyšetrených 484 vzoriek pitných vôd, pre hodnotenie historickej expozície bolo zhodnotených 1500 vyšetrených vzoriek z 330 sídiel študovaných oblastí.

Obsah arzénu v pokrmoch bol stanovovaný prostredníctvom dotazníkovej metódy zameranej na frekvenciu konzumovania jednotlivých pokrmov. Pre overenie kvality takto získaných údajov bola v Slovenskej republike uskutočnená osobitná výživová podštúdia, v ktorej bol vo vybratých vzorkách potravín vyšetrovaný obsah arzénu. Pri výbere potravín zaradených do vyšetrovania hlavnými výberovými kritériami boli frekvencia konzumovaných potravín, potraviny s predpokladaným vysokým obsahom As, potraviny ktoré boli zahrnuté do výživového dotazníka. Na základe týchto kritérií bolo vybratých 7 komodít na vyšetrenie vzoriek (zemiaky, ryža, kuracie mäso, bravčové mäso, kapusta, tmavý chlieb, mlieko). Odberové miesta boli určené v študovaných oblastiach vo väčších obchodných reťazcoch i v menších predajniach. Výsledky laboratórnych analýz, ktoré boli realizované v laboratóriách partnera z Rakúska, slúžili pri hodnotení expozície As z potravín pre všetky tri riešiteľské krajiny.

Podrobne bola tiež u účastníkov štúdie vyhodnotená pracovná expozícia arzénu metódou hodnotenia expertov na základe informácií z hlavného dotazníka. Tieto však do prvých analýz štúdie prípad – kontrola neboli z kapacitných dôvodov zahrnuté.

Výsledky realizovaného projektu ASHRAM poskytli dôkazy o zdravotných účinkoch aj nízkych koncentrácií arzénu v pitnej vode. V štúdií bol zistený pozitívny vzťah medzi expozíciou As a všetkými tromi druhmi rakoviny – rakovinou kože, močového mechúra a obličiek.

Okrem odborných záverov mal projekt veľký metodologický prínos pre environmentálnu epidemiológiu, boli spracované detailné pracovné postupy pre realizáciu epidemiologickej štúdie, pre hodnotenie zdravotných rizík všetkými relevantnými cestami príjmu.

Boli získané cenné skúsenosti v manažmente štúdie, v spolupráci a komunikácii odborníkov z rôznych oblastí v rôznych profesiách. V SR bolo v projekte zapojených 103 odborníkov. Okrem odborných pracovníkov verejného zdravotníctva sa na práci podieľali lekári z klinickej praxe, zdravotné sestry, informatici a štatistici, geológovia, chemici, prírodovedci, ekonómovia.

Záverom je možné konštatovať, že hoci projekt ASHRAM bol oficiálne ukončený, práce na hodnotení údajov z rozsiahlej databázy budú pokračovať. Je potrebné urobiť ďalšie detailné analýzy a spracovanie podkladov pre prácu verejného zdravotníctva, pre výkon preventívnej medicíny založenej na dôkazoch.

Tento odborný text, ktorý predkladáme odbornej verejnosti, je sumarizáciou v súčasnosti ukončených analýz a hodnotení. Obsahuje preklad záverečnej správy projektu, popis terénnej práce pri jeho plnení v Slovenskej republike, ako i prednášky, ktoré boli prezentované na záverečnom odbornom seminári v Banskej Bystrici v januári 2009. Je určený odborníkom v oblasti ochrany a podpory verejného zdravia, v klinickej praxi, ale i manažérom zdravotných rizík, chemikom, či informatikom a štatistikom pre doplnenie poznania a uplatnenie v praxi.

V mene riešiteľov projektu ASHRAM

MUDr. Kvetoslava Koppová, PhD.

**ZÁVEREČNÁ SPRÁVA  
MEDZINÁRODNÉHO PROJEKTU  
ARSENIC HEALTH RISK  
ASSESSMENT AND MOLECULAR  
EPIDEMIOLOGY,  
PREKLAD  
VERZIA – 25.AUGUST 2005**

---

# **ASHRAM**

**ARSENIC HEALTH RISK ASSESSMENT AND MOLECULAR EPIDEMIOLOGY  
ANALÝZA RIZIKA Z ARZÉNU A MOLEKULÁRNA EPIDEMIOLOGIA**

## **ZÁVEREČNÁ SPRÁVA**

**JANUÁR 2002 – 31. DECEMBER 2004**

**VERZIA – 25. AUGUST 2005**

Londýnska škola hygieny a tropickej medicíny, Veľká Británia

Ústav environmentálnej medicíny, Karolinska univerzita, Štokholm, Švédsko

Ústav chémie – analytická chémia, Karl-Franzens univerzita, Graz, Rakúsko

Divízia molekulárnej genetickej epidemiológie, Nemecké výskumné centrum pre rakovinu, Heidelberg,  
Nemecko

Národný ústav ŽP a zdravia, Národné centrum VZ, Budapešť, Maďarsko

Centrum ŽP a zdravia, Kluž-Napoca, Rumunsko

Regionálny úrad verejného zdravotníctva Banská Bystrica, Slovenská republika

# OBSAH

1. Úvod .....	15
1.1 Ciele .....	15
1.2 Teoretický prehľad poznatkov .....	15
2. Materiál a metódy.....	17
2.1 Etické otázky a bezpečnostné opatrenia .....	17
2.2 Kvalita epidemiologickej terénnej práce.....	17
2.3 Výber študovanej populácie .....	17
2.3.1 Študovaná oblasť .....	17
2.3.2 Prístup k prípadom a kontrolám .....	18
2.4 Metóda pre dotazníkovú štúdiu.....	19
2.5. Výživové štúdie .....	20
2.5.1 Princíp a tvorba výživových frekvenčných dotazníkov .....	20
2.5.2 Hodnotenie spotreby potravín prostredníctvom výživových frekvenčných dotazníkov.....	20
2.5.3. Štúdiá na overenie opakovateľnosti a vierohodnosti údajov získaných výživovými frekvenčnými dotazníkmi .....	22
2.5.4. Biomarker výživového stavu – obsah selénu v plnej krvi .....	22
2.6 Analýza arzénu vo vode a v moči.....	22
2.6.1 Popis metódy na stanovenie As vo vode .....	22
2.6.2 Trojmocný organicky viazaný arzén .....	23
2.6.2.1 Teoretický prehľad poznatkov o toxicite MA(III) a vysvetlenie podštúdie v rámci riešenia ASHRAM.....	23
2.6.2.2. Syntéza MA(III), DMA(III) a vývoj metód .....	24
2.6.2.3 Postupy spracovania vzoriek v prípade detekcie organicky viazaného trojmocného As. .....	24
2.6.2.4 Kyselina metylarzenitá(III) a dimetylarsenitá(III) vo vzorkách moču sledovanej oblasti .....	25
2.6.2.5 Vzorky moču od pacientov, ktorí podstúpili liečbu oxidom arzenitým .....	25
2.7 Expozícia arzénu z pitnej vody.....	26
2.7.1 Celkový prístup k hodnoteniu expozície.....	26
2.7.2 Zdroje údajov o arzéne .....	27
2.7.3 Indikátory expozície arzénu .....	29
2.8 Prehľad celkových koncentrácií arzénu vo vybraných potravinách na Slovensku .....	34
2.9 Expozícia slnečnému žiareniu a iné ovplyvňujúce faktory .....	36
2.10 Štatistické metódy .....	36
2.10.1 Manažment údajov.....	36
2.10.2 Analýza faktorov ovplyvňujúcich metabolizmus .....	36
2.10.3 Analýzy výživových látok.....	36
2.10.4 Analýzy prípadov a kontrol.....	37
3. Výsledky .....	39
3.1 Študovaná populácia .....	39
3.2 Merania arzénu vo vode.....	39
3.2.1 Koncentrácie arzénu vo vzorkách vody .....	39
3.3 Merania arzénu v moči.....	41
3.3.1 Koncentrácie arzénu vo vzorkách moču .....	41
3.3.2 Výsledky analýz trivalentných organických zlúčenín arzénu .....	43
3.3.3 Kationové zlúčeniny arzénu a arzenocukor vo vzorkách moču .....	44
3.4 QA/QC Program .....	46
3.5 Vzťah medzi arzénom vo vode a v moči .....	49
3.6 Rozdiely v metabolizme arzénu medzi ľuďmi .....	50
3.7 Indikátory expozície arzénu.....	53
3.7.1 Expozícia arzénu v mieste bydliska .....	53
3.7.2 Pracovná expozícia arzénu.....	56
3.7.3 Expozícia arzénu cestou potravín.....	56

3.8 Výživové štúdie .....	59
3.8.1 Výživový stav účastníkov štúdie .....	59
3.8.2 Výsledky z tvorby metód: opakovateľnosť a validácia.....	60
3.8.3 Vytvorenie výživovej databázy .....	60
3.8.4 Stanovenie Se v krvi .....	60
3.9 Výsledky štúdií prípad - kontrola.....	60
3.9.1 Vplyv arzénu ako lineárneho faktora na riziko rakoviny.....	61
3.9.2 Vplyv arzénu na riziko rakoviny v dvoch skupinách podľa DMA a MMA.....	62
3.10 Relevantnosť výsledkov pre analýzu rizika arzénu .....	64
3.11 Odhad zdravotnej záťaže .....	64
3.11.1 Odhad zdravotnej záťaže v Maďarsku.....	64
3.11.2 Expozícia arzénu v Európe .....	64
4. Diskusia.....	66
5. Závery .....	68
6. Publikovanie výsledkov.....	69
6.1 Prezentácie na politickej úrovni .....	69
6.2 Konferencie .....	69
6.2.1 Abstrakty článkov z medzinárodných konferencií.....	69
6.3 Články.....	70
6.4 Prednášky .....	71
7. Úspechy v oblasti politik.....	73
8. Literatúra.....	74

# 1. ÚVOD

Expozície nízkym koncentráciám arzénu v pitnej vode (v rozsahu 5-30 µg/l) sú v európskych populáciách veľmi rozšírené. Tieto expozície majú vzhľadom na karcinogenitu arzénu veľký potenciál vplyvu na zdravie populácií. Doterajšie znalosti o tomto vplyve však vychádzali z extrapolácie rizika rakoviny z epidemiologických štúdií, kde expozície arzénu boli oveľa vyššie ako priemerná expozícia v Európe. Preto má priame pozorovanie rizika rakoviny vo vzťahu k nízkym koncentráciám arzénu v pitnej vode veľké možnosti na zistenie súvislostí pre verejné zdravotníctvo. V strednej Európe sú početné populácie exponované v posledných 20 rokoch nízkym až stredným koncentráciám (v rozsahu 10-100 µg/l), čo umožnilo uskutočniť epidemiologickú štúdiu na túto tému.

V čase návrhu a prijatia tohto projektu existovalo len veľmi málo dokumentov o vzťahu dávka-účinnok pre arzén a rakovinu pre populácie exponované rozsahu koncentrácií 10-100 µg/l arzénu v pitnej vode, ktoré by mohli použiť aj politici. Naviac chýbali informácie o mechanizme interakcií medzi arzénom ako rizikovým faktorom a ostatnými faktormi, zvlášť tými, ktoré by mohli vysvetľovať zvýšenú citlivosť. Po začiatku našej štúdie začalo byť dostupných viac poznatkov o riziku rakoviny aj citlivosti, tieto však boli založené na štúdiách malého rozsahu. Predchádzajúce štúdie sa tiež v mnohých prípadoch spoliehali na pomerne nepresné merania expozícií. Preto sme sa rozhodli zamerať sa na riešenie tohto nedostatku údajov a metodologických problémov tým, že navrhujeme štúdiu o riziku rakoviny močového mechúra, kože a obličiek v troch cieľových oblastiach strednej Európy. Oblasť boli vyberané tak, aby zahrnuli tri hlavné európske populácie, ktoré buď boli alebo (niektoré z nich) stále sú exponované arzénom v pitnej vode.

## 1.1 CIELE

Táto štúdia mala nasledovné ciele:

1. Kvantifikovať riziko rakoviny (pre močový mechúr, kožu, obličky) vo vzťahu k požitiu arzénu cestou pitnej vody v Maďarsku, Rumunsku a na Slovensku.
2. Odhadnúť vplyv variability v metabolizme arzénu a v rekonštrukciách DNA medzi ľuďmi na riziko rakoviny.
3. Charakterizovať determinanty rozdielov medzi ľuďmi v špecifikácii arzénu in vivo.
4. Zrevidovať, vzhľadom na nové údaje, súčasné modely pre analýzu rizika pre arzén a rakovinu, ako aj adekvátnosť súčasných a navrhovaných štandardov pre pitnú vodu.

## 1.2 TEORETICKÝ PREHĽAD POZNATKOV

V tejto časti sú uvedené podrobnejšie informácie na základe publikovanej literatúry. Metabolizmus anorganického arzénu (As) spôsobuje redukcii päťmocného arzénu na trojmocný arzén a prídavné metylové skupiny. Glutatión (GSH) a pravdepodobne aj iné tiolové zlúčeniny slúžia ako donori elektrónov v redukčných reakciách (Buchet and Lauwerys; 1988; Scott et al., 1993; Delnomdedieu et al., 1994a; Delnomdedieu et al., 1994b; Styblo et al., 1995), a reakcia je potom re-katalyzovaná pomocou As(V), MA(V) reduktáz a metyltransferáz, ktoré sú identifikované len čiastočne. Predpokladá sa, že MA(V)-reduktázou je glutatión-S-transferáza omega (GSTO1), ktorá tiež môže redukovať As(V) (Zakharyan, R. A. and Aposhian, 1999; Radabaugh and Aposhian, 2000; Zakharyan, R. A. et al., 2001). Metylácia As(III) a MA(III) je katalyzovaná pomocou metyltransferáz a pre aktivitu vyžaduje S-adenosylmetionín (SAM) ako metyl-donora, ale aj thiol. (Marafante and Vahter, 1984; Buchet and Lauwerys, 1985; Smith et al., 1992; Zakharyan, R. et al., 1995; Styblo et al., 1996).

Po expozícii anorganickému arzenu cestou ingescie a inhalácie následná exkrécia močom obsahuje hlavne arzenit [As(III)], arzenát [As(V)], kyselinu metylarzeničnú [MA(V)] a kyselinu dimetylarseničnú [DMA(V)].

Päťmocné metylované metabolity sú v porovnaní s anorganickým arzénom menej reaktívne so zložkami tkanív, menej akútne toxické a cytotoxické, a tiež sa ľahšie vylučujú močom (Buchet et al., 1981; Vahter and Marafante 1983; Vahter et al., 1984; Yamauchi and Yamamura 1984; Marafante et al., 1987; Moore et al., 1997; Rasmussen and Menzel 1997; Concha et al., 1998a; Hughes and Kenyon 1998; Sakurai et al., 1998). Naopak, MA(III) and DMA(III) sú reaktívnejšie a cytotoxické ako obidve As(III) alebo As(V) (Petrick et al., 2000; Styblo et al., 2000; Vega et al., 2001). Obidve MA(III) aj DMA(III) sú genotoxické a oveľa schopnejšie deštruovať DNA ako As(III) (Mass et al., 2001; Nesnow et al., 2002; Styblo et al., 2002; Kitchin and Ahmad, 2003; Kligerman et al., 2003; Schwerdtle et al., 2003a; Schwerdtle et al., 2003b). Celá skupina článkov ukázala, že trojmocné kyseliny [MA(III)] a [DMA(III)] sú súčasťou močových matric (Aposhian et al., 2000; Le et al., 2000; Mandal et al., 2001), aj keď je nepravdepodobné nájsť vysoké koncentrácie z dôvodu ich vysokej reaktivity, ktorá spôsobuje ich rozpustenie a naviazanie na tkanivo (Vahter, 2002). Naša štúdia podporuje tento poznatok, že v moči sa vylúčia veľmi malé množstvá MMA(III) aj DMA(III).

V metylácii arzenu sú významné rozdiely medzi skupinami populácií a jednotlivcami, najmä v tvorbe MA. Štúdie ukázali, že pôvodní obyvatelia zo severnej Argentíny a Čile majú v moči iba niekoľko percent MA, zatiaľ čo obyvatelia Taiwanu majú v moči 20-30% MA. Väčšina ostatných študovaných populácií má v moči 10-20% MA (Vahter 2002). Tento veľký rozdiel medzi populačnými skupinami môže znamenať genetický polymorfizmus v regulácii enzýmov zodpovedných za metabolizmus arzenu. V jednej z posledných štúdií, kde mali dvaja ľudia veľký rozdiel v metabolitoch arzenu v moči voči ostatnej študovanej populácii (N=75), mali títo dvaja tiež nezvyčajný polymorfizmus na géne GSTO1 (Marnell et al., 2003). Na metabolizmus arzenu majú tiež vplyv ďalšie faktory, a to pohlavie a vek. (Concha et al., 1998a), tehotenstvo (Concha et al., 1998b), ochorenia (Buchet et al., 1984; Geubel et al., 1988; Hsueh et al., 1995) a životný štýl (Hopenhayn-Rich et al., 1996b). Viaceré štúdie ukazujú, že aj výživový stav môže ovplyvňovať metabolizmus, ale aj toxicitu arzenu (Hsueh et al., 1995; Milton et al., 2004; Mitra et al., 2004). Teda je dôležité objasniť, ktoré faktory ovplyvňujú metabolizmus anorganického arzenu a či to môže ovplyvniť riziko rakoviny spojené s arzénom.

Na druhej strane je pravdepodobné, že množstvo MMA(V) v moči odráža tvorbu toxického MMA (III) v tele. Zvyšuje sa počet dôkazov o tom, že vysoké percento MA v moči je spojené s toxicitou arzenu. Experimentálne zvieratá, ktoré väčšinou arzén metylujú efektívne na DMA, so žiadnym vylučovaním MA, ukazujú rýchlejšie celkové vylúčenie arzenu v porovnaní s ľuďmi (Vahter 2002). Tiež u ľudí s malým percentom arzenu v moči vo forme MA sa ukazuje nižšie zachovanie arzenu v tele ako u tých, ktorí majú vyššie percento MA v moči. A navyše posledné štúdie naznačujú zvýšenú prevalenciu výskytu toxických účinkov arzenu, ako napr. kožné lézie, rakovina kože, rakovina močového mechúra a chromozómové aberácie, vo vzťahu s rastúcim percentom MA v moči (Del Razo et al., 1997; Hsueh et al., 1997; Maki-Paakkanen J, 1998; Yu et al., 2000; Chen, Y. C. et al., 2003a; Chen, Y. C. et al., 2003b).

V tomto dokumente je napísaná správa o výsledkoch štúdie ASHRAM, a to o výsledkoch chemických analýz vody a moču, o distribúcii metabolitov arzenu, o genetickom polymorfizme a o predbežných analýzach štúdie prípad-kontrola.



## 2. MATERIÁL A METÓDY

### 2.1 ETICKÉ OTÁZKY A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

V Maďarsku boli etické otázky a bezpečnostné opatrenia štúdie ASHRAM schválené etickou komisiou Národnej rady pre zdravotnícky výskum a tiež regionálnymi etickými komisiami univerzity Alberta Szentgyörgyiho v Szegede a v študovaných oblastiach. V súlade s rozhodnutím etickej komisie Národnej rady pre zdravotnícky výskum musel byť protokol pre časť štúdie v Maďarsku zmenený v niektorých častiach. Najdôležitejšou zmenou bolo zrušenie vyšetrenia kože dotazovateľmi plánované v súlade s návrhom stretnutia dermatológov v Debrecíne v júni 2002. Dôvodom tohto rozhodnutia bolo, že podľa názoru komisie skúsenosť dotazovateľov nestačí na správne rozhodnutia o povahe kožných lézií. Malé zmeny sa tiež urobili v dotazníku, najmä z dôvodu ochrany osobných údajov.

V Rumunsku boli etické otázky a bezpečnostné opatrenia štúdie ASHRAM schválené miestnymi nemocnicami a úradmi verejného zdravotníctva. Súhlasy boli získané na základe zaslania úplného protokolu projektu ASHRAM na začiatku projektu.

Na Slovensku boli etické otázky a bezpečnostné opatrenia štúdie ASHRAM Slovensko schválené všetkými etickými komisiami nemocníc (7) a štátnych zdravotných ústavov (4) zahrnutých v štúdii. Štátny zdravotný ústav v Leviciach nemal založenú etickú komisiu, takže etické otázky a bezpečnostné opatrenia štúdie ASHRAM v okrese Levice boli schválené etickou komisiou nemocnice v Leviciach, ktorá bola zodpovedajúcou miestnou autoritou. Súhlasy boli získané na základe zaslania úplného protokolu projektu ASHRAM etickým komisiám na začiatku projektu

### 2.2 KVALITA EPIDEMIOLOGICKEJ TERÉNEJ PRÁCE

Kvalita terénnej práce epidemiológov bola zabezpečená štandardnými operačnými procedúrami založenými na:

- a. štandardných protokoloch
- b. tréningoch
- c. pilotnej štúdii
- d. protokole pre výkon terénnej štúdie
- e. protokoloch pre manažment údajov

### 2.3 VÝBER ŠTUDOVAanej POPULÁCIE

#### 2.3.1 ŠTUDOVANÁ OBLASŤ

Študovaná oblasť zahŕňala štyri susedné regióny Maďarska, dva susedné regióny Rumunska a 7 okresov na Slovensku, z ktorých boli dva susedné. V tejto oblasti žilo 2,799,570 obyvateľov a ich geografická distribúcia je zobrazená v tabuľke č. 1. Ďalšie informácie o oblasti a jej obyvateľoch sú uvedené v špecifických správach jednotlivých krajín.

Tabuľka č. 1

Populácia v regiónoch a okresoch Maďarska, Rumunska a Slovenska zahrnutá v študovanej oblasti ASHRAM

Krajina	Región	Okres v regióne	Populácia	Populácia celkom
Maďarsko	Bács -Kiskun	všetky	520000	1734000
	Békés	všetky	388000	
	Csongrád	všetky	420000	
	J-Nk-Szolnok	všetky	406000	
Rumunsko	Arad	všetky	462427	1065570
	Oradea	všetky	603143	
Slovensko	Banská Bystrica	Banská Bystrica	111984	687807
		Brezno	65909	
		Žiar nad Hronom	48125	
		Žarnovica	27634	
	Nitra	Nitra	163540	
		Levice	121021	
		Nové Zámky	149594	
<b>Celkom</b>				<b>2799570</b>

### 2.3.2 PRÍSTUP K PRÍPADOM A KONTROLÁM

Táto metóda bola súčasťou celkového terénneho protokolu pre vykonanie štúdie, ktorý bol vytvorený v spolupráci všetkých riešiteľov a zahŕňal návody pre rozhovor, ako aj zber vzoriek moču a krvi. S účasťou v štúdiu súhlasili všetky nemocnice v študovanej oblasti. Personál nemocnice – manažment aj vedúci klinici oznamovali lokálnemu koordinátorovi projektu ASHRAM kandidátov na nové prípady a kontroly. Zúčastnení klinici potvrdzovali vstupné a diagnostické kritériá. Klinici tiež pozývali kandidátov na účastníkov do štúdie, dávali každému účastníkovi informačný list a formulár pre súhlas. Klinici tiež zaznamenávali informácie o kandidátoch, ktorí boli pozvaní, ale odmietli sa zúčastniť štúdie. Nové prípady rakoviny kože, močového mechúra a obličiek vo veku 30-79 (<80 rokov) boli identifikované klinikmi v hlavných nemocniciach študovanej oblasti. Prípady museli bývať v oblasti najmenej 1 rok. Do štúdie boli zahrnuté prípady rakoviny podľa nasledujúcej tabuľky č. 2:

Tabuľka č. 2

Typy rakoviny v štúdiu ASHRAM

	MKCH 9	MKCH 10
rakovina kože	173.0-173.9	C44
rakovina močového mechúra	188.0-188.9	C67
iné rakoviny močového traktu	189.2-189.9	C66, C68
rakovina obličiek	189.0, 189.1	C64-C65

Do štúdie mohol byť zaradený každý nový prípad rakoviny kože, aj keď tento človek už bol v minulosti na rakovinu kože liečený. Pre štúdium vplyvu arzenu je toto zvlášť dôležité, pretože je známe, že arzén spôsobuje rakovinu kože mnohonásobne. Všetky diagnózy rakoviny boli potvrdené aj histologickým vyšetrením.

#### Definícia kontrol

Kontrolami boli pacienti prijatí na operáciu na všeobecnú chirurgiu, alebo pacienti ortopedie a traumatológie vo veku 30-79 (<80 rokov). V tabuľke č. 3 sú uvedené špecifické MKCH kódy povolené pre kontroly. Kontroly mali bývať v študovanej oblasti aspoň jeden rok (aby sa vyšlo účasti ľudí, ktorí prišli do oblasti špeciálne iba na operáciu).

Tabuľka č. 3

## Diagnostické kategórie pre kontroly

Chirurgické dg.	MKCH 10	MKCH 9	Ortopedické a traumatologické dg.	MKCH 10	MKCH 9
Appendicitída	K35-K37	540-543	Zlomeniny	S02,S12, S22,S32, S42,S52, S62,S72, S82,S92, T02,T08, T10,T12	800-829
Abdominálna hernia	K40-K46	550-553			
Vred dvanástnika	K26	532			
Cholecystiáza	K80	574			

Metóda pre výber kontrol: Pre každý zúčastnený prípad bola do štúdie pozvaná jedna kontrola.

Pozvaná kontrola mala byť vzhľadom na prípad:

- rovnakého pohlavia;
- rovnakej 5-ročnej vekovej skupiny (30-34, 35-39 atď.);
- z rovnakej krajiny;
- v súčasnosti (pred prijatím do nemocnice) bývajúca v tom istom okrese / regióne študovanej oblasti;
- bývajúca počas života aspoň rok v študovanej oblasti (ak tento údaj nie je známy v čase výberu kontroly, môže sa preskočiť).

Na dosiahnutie dobrého rozdelenia diagnóz u kontrol sa výber robil rotáciou z piatich diagnostických kategórií.

Na dosiahnutie dobrého geografického pokrytia a spolupráce so zúčastnenými nemocnicami sa pravidelne kontaktovali nemocnice a sledovali sa možnosti kontrol. Frekvencia kontaktov bola zhruba korelovaná so skutočným počtom kontrol.

Každé odmietnutie účasti v štúdiu bolo zaznamenané. Výber kontrol pokračoval až dovtedy, kým sa nenaplnil požadovaný počet rozhovorov. Táto metóda bola založená na systematickej rotácii nemocníc a diagnóz pre kontroly, a teda vytvorila skupinu kontrol, ktorá sa podobala prípadom ohľadne veku, pohlavia a miesta bydliska a tiež minimalizovala možnosti vzniku systematickej chyby vo výbere kontrol.

## 2.4 METÓDA PRE DOTAZNÍKOVÚ ŠTÚDIU

Všetci účastníci boli informovaní o metódach štúdie a podpísali písomný súhlas s účasťou v štúdiu. Najprv sa podrobili riadenému rozhovoru tvárou v tvár, kde odpovedali na otázky uvedené v dvoch oddelených dotazníkoch: v hlavnom dotazníku a výživovom dotazníku, ktorý je popísaný v časti o výžive. Hlavný dotazník sa zaoberal históriou expozície slnečnému žiareniu počas života účastníka, charakterizáciou jeho kože a reakciou jeho kože na túto expozíciu. Ďalej boli otázky na demografické a socio-ekonomické údaje, osobnú a rodinnú zdravotnú anamnézu, fajčenie, pracovné expozície, stravovacie zvyklosti a pitný režim, ako aj podrobný popis histórie bývania, zameraný aj na identifikáciu zdrojov pitnej vody.

Organizačné pokyny pre vykonanie rozhovoru: Lokálny koordinátor projektu ASHRAM dal inštrukcie svojim terénnym pracovníkom, aby dohodli vhodný dátum na rozhovor s pacientom. Terénni pracovníci boli lekári verejného zdravotníctva, 8 v Maďarsku, 4 v Rumunsku a 9 na Slovensku. Absolvovali spoločný tréning počas workshopu organizovaného 3.-6. júla 2002 v Kluži, Rumunsko. Pre otázku o konzumácii vody (hlavný dotazník, časť D) sa paralelné miesta bydliska (keď niekto býval počas sledovaného obdobia na viacerých adresách) zaznamenávali na osobitnom liste. Terénni pracovníci robili rozhovory s prípadmi aj s kontrolami zmiešané, nie iba výlučne s prípadmi alebo kontrolami.

## 2.5. VÝŽIVOVÉ ŠTÚDIE

Do dnešných dní len limitovaný počet štúdií skúmal úlohu výživových faktorov a príjmu arzénu ako rizikových faktorov pre vznik rakoviny močového mechúra, kože a obličiek v oblastiach ako sú Maďarsko, Rumunsko a Slovensko. Príjem niektorých makronutrientov a mikronutrientov, celkový denný energetický príjem, príjem arzénu z potravy a z nápojov ako aj konzumácia vybraných druhov pokrmov bude hodnotená prostredníctvom frekvenčných výživových dotazníkov vytvorených pre túto štúdiu. Osobitná pozornosť sa bude venovať výživovému stavu respondentov a príjmu vybraných mikronutrientov. Niektoré štúdie poukázali na úlohu zinku, metionínu, vitamínov skupiny B a folátov pri ovplyvňovaní toxických účinkov arzénu (National Research Council, 1999) a ich úlohu na zvyšovanie rizika vzniku chorôb, ktoré arzén spôsobuje (Engel and Receveur, 1993; Levender, 1977, Nationale Research Council, 1999; Hsueh et al., 1995).

Pre štúdiu boli vybrané dve metódy na posúdenie výživy:

1. Na stanovenie príjmu väčšiny výživových faktorov sa použijú výživové frekvenčné dotazníky.
2. Príjem selénu sa odhadne prostredníctvom vyšetrení krvi.

### 2.5.1 PRINCÍP A TVORBA VÝŽIVOVÝCH FREKVENČNÝCH DOTAZNÍKOV

Výživový frekvenčný dotazník bol použitý na stanovenie príjmu tekutín a stravy v populáciách vybraných oblastí Maďarska, Rumunska a Slovenska. Bol vytvorený originálny dotazník na zber údajov jednotným spôsobom v krajinách, ktoré prešli podobnými zmenami v štruktúre výživových zvyklostí počas prechodného obdobia. Od roku 1989 sa vo Východnej Európe (potravinový) systém začal meniť z centralizovaného na viac trhov orientovanú ekonomiku (Szostak a Sekula, 1991; Petrovici a Ritson, 2000; Babinská a Béderová, 2002). Štruktúra výživy sa zmenila a začala sa viac podobať štruktúre výživy obyvateľstva Západnej Európy a to predovšetkým vo zvýšenej konzumácii tukov, cukrov a alkoholu (Petrovici a Ritson, 2000; Szostak a Sekula, 1991; FAO, 1998).

Dotazník vychádzal z overeného a reprodukovateľného nástroja (Franceschi et al., 1993, 1995, Decarli A, et al., 1996), ktorý sa použil v mnohých multicentrických štúdiách typu prípad – kontrola v Taliansku (Franceschi et al., 2000; Negri et al., 2000; Bidoli et al., 2001, 2003, 2005). Údaje o lokálnej štruktúre stravovania (Babinská et al., 2002 Sociálna Štatistika, 2002; Mihailescu et al., 1981; Biro, 1992) poskytli užitočné poznatky k tomu, aby sa frekvenčné výživové dotazníky mohli použiť v študovanej populácii. Dotazník bol vytvorený s cieľom zistiť bežný spôsob stravovacích zvyklostí respondentov, vrátane celkového energetického príjmu ako aj príjmu vybraných makronutrientov a mikronutrientov. Odhadne sa tiež expozícia respondenta arzénu orálnym príjmom z potravy.

### 2.5.2 HODNOTENIE SPOTREBY POTRAVÍN PROSTREDNÍCTVOM VÝŽIVOVÝCH FREKVENČNÝCH DOTAZNÍKOV

Na získavanie údajov dotazníkom sa podieľalo dvadsaťjeden školených dotazovateľov.

Výživový frekvenčný dotazník je rozdelený do dvoch hlavných častí, prvá časť sa zameriava na obdobie pred rokom 1989 (**predchádzajúce stravovacie zvyklosti**) a druhá časť je zameraná na obdobie dvoch rokov pred prejavom sa nádorového ochorenia (**aktuálne stravovacie zvyklosti**).

Prvá časť dotazníka obsahuje 112 druhov pokrmov, ich skupín alebo receptov zatriedených do siedmich podskupín:

- (1) čaj, káva, mlieko;
- (2) chlieb, cereálie, predjedlá;
- (3) hlavné jedlá;
- (4) zelenina;
- (5) ovocie;

- (6) sladkosti a ostatné jedlá;
- (7) alkoholické a nealkoholické nápoje.

Druhá časť zahŕňa 35 rôznych pokrmov, ich skupín alebo receptov ich prípravy s cieľom zhodnotiť aktuálne stravovacie zvyklosti. Dotazník sa viac podobá menu jedálnych lístkov ako nákupnému zoznamu.

Pre väčšinu pokrmov alebo skupín pokrmov bola veľkosť porcie určovaná ako bežná porcia alebo obvyklá porcia (ako tanier polievky alebo jeden pomaranč). Dotazovateľ sa pýtal na priemernú frekvenciu konzumovania rôznych pokrmov a skupín pokrmov, ako aj na konkrétne recepty prípravy. Vytvorená bola definovaná škála deviatich kategórií pre frekvenciu od možnosti „nikdy“ až po „viac ako trikrát denne“. Zaznamenávali sa aj rozdiely vo frekvencii konzumácie niektorých pokrmov z hľadiska ich sezónnej dostupnosti a to formou otázok, v ktorom ročnom období je daný pokrm konzumovaný v najväčšej miere (napr. pomaranče v zime, hrozno v lete).

Na stanovenie výživového stavu respondentov sa použije vyhodnotenie výživových frekvenčných dotazníkov a Body Mass Index (BMI = hmotnosť v kg/ výška v m<sup>2</sup>).

Na stanovenie príjmu arzénu sa využijú údaje z výživových frekvenčných dotazníkov o orálnom príjme arzénu prostredníctvom potravy a prostredníctvom údajov o ich konzumovanom množstve. Údaje o obsahu arzénu v jednotlivých druhoch pokrmov boli získané z existujúcich údajov stanovených z monitoringu Oddelenia hodnotenia kontaminantov v potravinách Ministerstva pôdohospodárstva (Křížová et al., 2001, 2002, 2004a 2004b; Šalgovičová et al., 2002 a, 2002 b, 2002 c; Svetlíková et al., 2002). Tieto údaje budú zakomponované s pôvodnými zozbieranými dátami o obsahu arzénu limitovaného počtu niektorých pokrmov Slovenska. Vyšetřilo sa sedem pokrmov a arzén bol stanovený metódou hmotnostnej spektrometrie s indukčne viazanou plazmou (ICPMS). Týchto sedem pokrmov bolo zahrnutých aj vo výživových frekvenčných dotazníkoch: chlieb, ryža, mlieko, bravčové a kuracie mäso a hlávková kapusta. Tieto sú často konzumované v skúmanej populácii, ale nemajú výrazný obsah arzénu.

Hodnotenie príjmu tekutín prostredníctvom výživových frekvenčných dotazníkov: príjem tekutín bude vyhodnotený u každého respondenta berúc do úvahy frekvenciu konzumácie, veľkosť porcie v daných otázkach dotazníka, týkajúcich sa predchádzajúcich aj súčasných stravovacích zvyklostí. Tieto budú spočítané u každého respondenta tak, aby sa určil celkový príjem tekutín v mililitroch.

Týmito tekutinami sú:

1. čaj;
2. bylinkový čaj, harmančekový, mäťový, citrónový;
3. káva;
4. bezkofeinová káva;
5. mlieko s kávou, kapučíno;
6. kurací, husací alebo morčací vývar;
7. mäsovo-zeleninová polievka, guláš;
8. zeleninová polievka s fazuľou, hrachom, hubami, paradajkami;
9. ovocná polievka jablková, egrešová, čerešňová;
10. nápoje so sirupom;
11. sódová voda, pripravená doma;
12. voda z vodovodu;
13. Coca-cola, Pepsi-cola, a ostatné perlivé nápoje;
14. nesladené perlivé nápoje;
15. komerčne vyrábané ovocné šťavy;
16. minerálna voda.

### **2.5.3. ŠTÚDIA NA OVERENIE OPAKOVATEĽNOSTI A VIEROHODNOSTI ÚDAJOV ZÍSKANÝCH VÝŽIVOVÝMI FREKVENČNÝMI DOTAZNÍKMI**

S cieľom vytvoriť dôveryhodnú metódu na hodnotenie výživového príjmu skúmanej populácie sme vytvorili štúdiu na testovanie opakovateľnosti a vierohodnosti zvoleného nástroja.

Štúdie sa zúčastnilo 90 dobrovoľníkov prostredníctvom poradní zdravia RÚVZ: v Banskej Bystrici, v Nových Zámkoch a v Nitre, ktorí boli reprezentatívnou vzorkou skúmanej populácie štúdie ASHRAM.

Prvý výživový frekvenčný dotazník bol vyplnený na začiatku štúdie (jar 2004). Tí istí dobrovoľníci boli opakovane požiadaní o vyplnenie toho istého dotazníka o šesť mesiacov neskôr (jeseň 2004). V nasledujúcich mesiacoch po vyplnení prvého dotazníka boli dobrovoľníci telefonicky kontaktovaní jedenkrát do mesiaca (10 krát) a boli požiadaní o poskytnutie údajov o tom, čo konzumovali v priebehu posledných 24 hodín (24 hodinový retrospektívny jedálniček).

Pod-štúdia bola zameraná na získanie presných údajov o objeme konzumovaných nápojov (poháre, šálky, fľaše) bežne konzumovaných dobrovoľníkmi v domácom prostredí ako voda, iné nápoje, káva, čaj, polievky a pod. zmeraním objemu vody, ktorý bežne používajú, keď pripravujú nápoje, resp. servírujú polievku.

Tieto údaje budú použité na úplné a individuálne stanovenie celkového príjmu tekutín.

Údaje do 24 hodinového jedálnička boli získavané 7 odborníkmi z oblasti výživy. Všetky údaje o konzumovaných pokrmoch a nápojoch z 24-hodinového retrospektívneho jedálnička boli zaznamenané v papierovej podobe, ako aj v elektronickej podobe v počítačovom programe *Alimenta* (Výskumný ústav potravinársky, 2004). Tento program umožňuje z konzumovaných jedál zistiť množstvo jednotlivých prijatých zložiek výživy vychádzajúc zo Slovenskej spotrebnej výživovej databázy (Výskumný ústav potravinársky, 2002).

### **2.5.4. BIOMARKER VÝŽIVOVÉHO STAVU – OBSAH SELÉNU V PLNEJ KRVI**

V našej štúdií sme vyšetrovali obsah selénu v plnej krvi a to z dôvodu, že realizácia separácie plazmy od červených krviniek príliš komplikovala výkon ostatných povinností personálu nemocníc. Koncentrácia selénu v plnej krvi bola mieraná na sektorovom hmotnostnom spektrometri ICP SF MS na princípe oktopólového reakčného systému (Element Thermo Electron, Finnigan MAT, Bremen, Germany), použitím izotopu <sup>78</sup>Se s vysokým rozlíšením ( $\delta m/m = 11\ 000$ ).

Vzorky boli pripravené riedením so zmesou ammonia-Triton X-EDTA-ethanol (2%-0.0005%-0.0005%-4%) s prídavkom As na 10 µg/l pre internú štandardizáciu.

## **2.6 ANALÝZA ARZÉNU VO VODE A V MOČI**

### **2.6.1 POPIS METÓDY NA STANOVENIE AS VO VODE**

Na stanovenie celkového arzénu vo vzorkách vôd použil Partner 6 metódu atómovej absorpčnej spektrometrie technikou generovania hydridov (HG-AAS). Táto technika bola vybraná kvôli urýchleniu analýzy a eliminácii rušivých vplyvov pozadia. Generovanie hydridov spočíva v redukcii As (III) tetrahydroboritanom sodným (0.6%, w/v), v kyslom prostredí (HCl, 5M), pričom hydrid sa následne uvoľní z roztoku do plynnej fázy. Roztok tetrahydroboritanu sodného sa stabilizuje pridaním hydroxidu sodného 0.5%, w/v. Hydrid sa následne vedie do vyhrievanej kremennej cely, kde nastáva disociácia na vodík a atomárny arzén, ktorý sa analyzuje metódou atómovej absorpcie. Hlavnou prednosťou hydridovej techniky je separácia analytu od matrice, čo vedie k vysokej citlivosti a obmedzeniu rušivých vplyvov pri atomizácii. Stanovenie celkového arzénu vyžaduje, aby sa všetky prítomné anorganické zlúčeniny arzénu nachádzali v oxidačnom stupni As(III). Vo vode prítomné formy arzeničnanov As(V) sa kvantitatívne redukujú na As(III) pôsobením jodidu draselného 5% a kyseliny

askorbovej 5% ako redukčného činidla počas 45 minút pri laboratórnej teplote. V prípade, že sa krok tzv. pre-redukcie s jodidom draselným vynechá a tvorba hydridov nastáva z oxidačného stupňa As(V), analytická odozva vzniknutého hydridu dosahuje okolo 20-30% hodnoty získanej v prípade, ak sa tvorba hydridov realizuje z oxidačného stupňa As(III). Použitá prístrojová technika: Atómový absorpčný spektrometer, VARIAN 110, s PC, vybavený jednotkou na tvorbu pár, VGA 77. Pracovné podmienky: vlnová dĺžka 193,7 nm, prúd lampy – 10 mA. Šírka štrbiny – 0.5 nm, prietok vzduchu – 3.50 l/min, prietok acetylénu – 1.50 l/min.

Všetky analýzy vôd sme podrobili prísnemu QC postupu. Každú piatu vzorku sme analyzovali v duplikátnom stanovení (vrátane kompletnej prípravy vzorky). Po každej 10 vzorke sme v duplikátnom stanovení analyzovali blank, jeden kalibračný roztok a minimálne jeden certifikovaný štandardný referenčný materiál (NIST 1640). Okrem toho sa používal aj interný referenčný materiál, a to v laboratóriu KFUG, kde bola nájdená hodnota As  $48.1 \pm 0.5 \mu\text{g As/l}$  ( $n=3$ ). Získané hodnoty CRM sme zahrnuli do kontrolných regulačných diagramov. KFUG zorganizovalo aj štvorkolovú medzilaboratórnu skúšku Robin. Podrobnosti o metódach a výsledkoch tejto skúšky sú uvedené v QA/QC časti tejto správy.

### **Poznámky k metodikám: Metabolity anorganického arzénu v moči**

Podrobnosti chemickej analýzy metabolitov arzénu v moči sú uvedené v WP3. Koncentráciu arzénu v moči sme prepočítavali na priemernú hustotu moču - hodnota 1.017 g/ml na vyrovnanie rozdielov pri riedení moču.

Prepočítaná koncentrácia = (priemerná hustota – 1) / (hustota vzorky – 1)

Prepočet na hustotu moču sme uprednostnili pred prepočtom na kreatinín hlavne preto, že vylučovanie kreatinínu je ovplyvnené množstvom svalovej hmoty, a tým aj pohlavím, výživovými podmienkami, a pod. (Suwazono et al., 2005). Napríklad muži vylúčia viac kreatinínu ako ženy, a preto prepočet na kreatinín by znižoval obsah arzénu pri tej istej expozícii.

## **2.6.2 TROJMOCNÝ ORGANICKY VIAZANÝ ARZÉN**

Nasledujúca časť vysvetľuje tvrdenia "Ak je možné spoľahlivo analyzovať MA(III), potom MA(III) predstavuje tú formu arzénu, ktorú má význam analyzovať v súvislosti s predpokladanou vysokou toxicitou arzénu?"

V tejto časti sa tiež popisujú metódy analytickej chémie používané na zodpovedanie uvedenej otázky.

### **2.6.2.1 Teoretický prehľad poznatkov o toxicite MA(III) a vysvetlenie podštúdie v rámci riešenia ASHRAM**

Je všeobecne známe, že dôsledkom chronickej expozície anorganickému arzénu sú nepriaznivé zdravotné účinky ako nárast rizika rakoviny kože, pľúc, obličiek, močového mechúra, hyperkeratóz, zmeny pigmentácie, diabetes, účinky na obehový systém, neurologický systém, ako aj na pečeň a obličky (NRC 2001). Anorganický arzén sa v tele metyluje v alternatívnych redukčných a oxidačných procesoch, predovšetkým na monometylarzeničnan MMA(V) a dimetylarzeničnan DMA(V). Keďže tieto metylované formy vykazujú v porovnaní s prijatým anorganickým arzénom nízku toxicitu, metylačný proces sa v tele považuje za detoxikačný proces (Bucher et al., 1981). Niekoľko štúdií ale spochybnilo tento záver, nakoľko ukázali, že trojmocné prechodné metabolity kyselina metylarzenitá MA(III) a dimetylarzenitá DMA(III) sú viac geno- (Mass et al., 2001; Ahmad et al., 2002), a cytotoxické (Petrick et al., 2000) a sú silnejšie proteínové inhibitory (Lin et al., 1999; Petrick et al., 2001; Styblo et al., 2000) ako As(III). V každom prípade, aj tak nie je známe, v akom rozsahu sa tieto metabolity uvoľňujú v tele a akou mierou tým prispievajú k toxickému účinku arzénu. Napriek tomu, MA(III) a zvlášť DMA(III) sa ukázali ako nestabilné (Gong et al., 2001), (vo vzorkách moču obohatených MA(III) >90% sa oxidovalo do 5 mesiacov, ak boli uchovávané pri  $-20^{\circ}\text{C}$ ) a okrem toho boli aj zachytené v moči jedincov chronicky exponovaných anorganickému arzénu z pitnej vody (Le et al.,

2000; Le et al., 2001; Mandal et al., 2001; Aposhian et al., 2000; Mandal et al., 2004; Valenzuela et al., 2005) a u pacientov liečených s oxidom arzenitým proti promyelocytickej leukémii (Wang et al., 2004). Niektoré štúdie práve tvrdia, že koncentrácia MA(III) mohla byť podhodnotená v dôsledku dlhodobého uchovávaní počas niekoľkých mesiacov.

V štúdií ASHRAM sme

- syntetizovali joddimetylarzáň a dijódmetylárzáň ako štandardné zlúčeniny a vyvinuli metódy na stanovenie MA(III) a DMA(III) v moči,
- vyskúmali už popísaný postup na prípravu vzorky používaný v prípade, keď bol zachytený trojmocný organicky viazaný arzén,
- vyšetrili kyselinu metylarzenitú (III) v 1500 vzorkách moču,
- vyšetrili vzorky moču pacientov liečených oxidom arzenitým.

### 2.6.2.2. Syntéza MA(III), DMA(III) a vývoj metód

Obidve zlúčeniny sme pripravili ako jodidy, ktoré sa následne hydrolyzovali na zodpovedajúce kyseliny.

$\text{CH}_3\text{AsI}_2$ : Túto zlúčeninu sme pripravili z kyseliny metylarzeničnej(V) redukcíou jodidom draselným v kyseline chlorovodíkovej s  $\text{SO}_2$ . Vzniknutý produkt sme vysušili pomocou oxidu fosforečnatého. Na vyčistenie pevnej látky sme použili extrakciu s bezvodým dietyléterom. Po ochladení nasýteného roztoku pod  $-15^\circ\text{C}$  sa vykryštalizovali žlté ihličky. Bod topenia vzniknutého dijódmetylárzánu bol  $29-30^\circ\text{C}$ . Na stanovenie čistoty chemikálie sme použili techniku  $^1\text{H-NMR}$  v  $\text{CDCl}_3$  alebo  $\text{D}_2\text{O}$ .

NMR v  $\text{D}_2\text{O}$  poukazuje jeden signál pri  $d=1.20$  (lit.  $d=1.24$ ) a NMR v  $\text{CDCl}_3$  dáva dva signály, jeden pri  $d=3.1$  l (lit.  $d=3.10$ ) a jeden pri  $d=1.58$  (lit.  $d=1.54$ ) pre  $\text{H}_2\text{O}$ .

$(\text{CH}_3)_2\text{AsI}$ : Túto zlúčeninu sme syntetizovali z kyseliny dimetylárzeničnej(V) a jodidu draselného redukcíou s  $\text{SO}_2$ . Vzniknutý žltý olej sme izolovali destiláciou pri zníženom tlaku (t.v.  $156^\circ\text{C}$ ).  $^1\text{H-NMR}$  sme merali v  $\text{D}_2\text{O}$  a  $\text{CDCl}_3$ . Už popísanú metódu na stanovenie arzenitanov, kyseliny dimetylárzeničnej(V), kyseliny metylarzeničnej(V) a arzeničnanov sme upravili na analýzu kyseliny metylarzenitej v chromatografickom móde. Delenie piatich najtoxickejších zlúčenín arzenu sa za optimalizovaných podmienok (20 mM fosforečnan amónny pufer pH 5.5% MeOH) uskutočnilo počas 10 min. Detekčný limit bol  $1 \mu\text{g As/l}$  bez tvorby hydridov. Ak sme pridali krok tvorby hydridov, detekčný limit sa zlepšil o jeden rád.

#### **Stabilita kyseliny metylarzenitej (III) vo vodnom roztoku**

Sledovali sme stabilitu kyseliny metylarzenitej(III) o koncentrácii  $100 \mu\text{g As/l}$  vo vode počas piatich týždňov. Výsledky pozorovania poukazujú na to, že uchovávanie pri teplote  $4^\circ\text{C}$  v chladničke nespôsobuje oxidáciu MA(III) na MA(V). Vyvinutou metódou je možné stanoviť MA(III), ktorej detekčný limit je  $0.1 \mu\text{g As/l}$ . V dôsledku retenčného správania a nestability DMA(III) bol detekčný limit pri tejto zlúčenine  $5 \mu\text{g As/l}$ . Detekčný limit spolu s popísanou nestabilitou neumožnili stanoviť kyselinu dimetylárzenitú(III) v moči, ktoré boli zmrazené na teplotu  $-20^\circ\text{C}$  počas niekoľkých mesiacov.

### 2.6.2.3 Postupy spracovania vzoriek v prípade detekcie organicky viazaného trojmocného As.

Z literárnych poznatkov sa zistilo, že sa často pozorovala prítomnosť trojmocných organoarzenitých zlúčenín v prípade, ak bola niekoľko hodín pred odoberaním moču podaná kyselina 2,3-dimercapto-1-propansulfónová (DMPS). Pred analýzou atómovou absorpčnou spektrometriou technikou tvorby hydridov (HG-AAS) alebo fluorescenčnou spektrometriou s technikou tvorby hydridov (HG-AFS) sme vzorky niekedy okyslili s HCl alebo dokonca zahriali. Na potvrdenie možnej tvorby týchto zlúčenín sme vykonali systematickú štúdiu celého tohto procesu.

V prvom teste roztok obsahujúci  $100 \mu\text{g As/l}$  ako MA sme zohrievali pri teplotách ( $80^\circ\text{C}$ ,  $90^\circ\text{C}$ , alebo  $100^\circ\text{C}$ ) v prítomnosti 1M HCl. Po ochladení sme vzorky okamžite podrobili chromatografickej analýze s dôrazom špeciálne na MA(III). Výsledky poukazujú na to, že HCl pri zvolených teplotách



nespôsobuje redukciu MA na MA(III). V druhom prípade sme pridali HCl a DMPS k 100 µg As/l roztoku MA a zohrievali znova. V roztoku zohrievanom na cca 90°C ~5% sme zachytili MA(III). V ďalších experimentoch sme MA roztok o koncentrácii 100 µg/l pridali do vzorky moču a zohrievali ho na rôzne teploty (60°C, 70°C, alebo 80°C). Pri všetkých troch teplotách sme zaznamenali tvorbu MA(III) do 5%. Je veľmi zaujímavé, že už ohrievanie MA v moči spôsobuje tvorbu MA(III). Hoci neexistuje dôkaz, ale môžeme sa domnievať, že thiol v moči (alebo iné redukčné činidlá) by mohol spôsobovať redukciu päťmocného MA. Keď sme pridali DPMS k moču, ktorý obsahoval MA, tvorba MA(III) sa prejavila výraznejšie (tvorba kyseliny metylarzenitej (III) do 10%). Z týchto pokusov je zjavné, že sa nedá vylúčiť možnosť tvorby MA(III) a DMA(III) pri spracovaní vzoriek popísanom v predchádzajúcich publikáciách. Navyše, je nutné zdôrazniť, že vo väčšine uvedených publikácií sa použil iba jeden typ podmienok chromatografického stanovenia, najčastejšie s nedostatočným chromatografickým rozlíšením. Toto zistenie potvrdili aj výsledky nedávnej práce, kde ako hlavná zlúčenina As sa našla DMA(III) v moči z oblasti Mexika, kde je vysoký obsah arzenu v pitnej vode. Na analýzu sa použila technika tvorby hydridov pri definovanom pH s následnou chromatografickou separáciou a AAS detekciou.

#### **2.6.2.4 Kyselina metylarzenitá(III) a dimetylarzenitá(III) vo vzorkách moču sledovanej oblasti**

Na sledovanie expozície arzenu ako aj účinnosti metylačného procesu sme v štyroch oblastiach Maďarska a dvoch oblastiach Slovenska a Rumunska zozbierali 1511 vzoriek moču. Podľa práce Gong et al., (2001) sa MA(III) v moči úplne zoxидуje pri izbovej teplote za tri dni, pri teplote -20°C alebo 4°C 30% nastala oxidácia za 1 deň. MA(III) pridaná ku vzorke moču a uchovaná 30 dní pri teplote 4°C sa zoxidovala na 98%, kým pri teplote -20°C nastala oxidácia len u 60% MA(III). Podľa tohto autorského tímu aj DMA(III) sa úplne zredukuje po 17 hodinách pri teplote -20°C. Podobné výsledky v stabilite popisuje aj kolektív autorov Del Razo et al., (2001) aj keď uvádzajú významný rozdiel v stabilite trojmocného arzenu v moči v dôsledku troch rôznych darcov moču. Vzorky moču podľa odporúčenia tejto práce sme hneď po odbere zmrazili na teplotu -20°C, transportovali a uchovávali zmrazené až do vykonania analýzy. Dokonca aj počas chromatografickej analýzy sme vzorky chladili na teplotu 4°C. Je dôležité podotknúť, že vzorky neboli ani chemicky konzervované a ani neboli použité žiadne chemikálie na úpravu vzorky pred analýzou.

Hoci vyvinutý postup nie je schopný udržať úplnosť špecie, očakávalo sa nájdenie MA(III) v niektorých vzorkách. Iba v 8 vzorkách (0.5%) z 1511 sa našli stopové množstvá MA(III), pričom najvyššie bolo 0.4 µg As/l. Týchto osem vzoriek predstavuje nevýznamný počet vzhľadom k ostatným stanoveným zlúčeninám arzenu. Koncentrácia arzeničnanov v týchto vzorkách bola veľmi nízka (< 5 µg/l do 0.9 µg/l), čo svedčí o tom, že oxidácii vzduchom bolo úspešne zabránené.

#### **2.6.2.5 Vzorky moču od pacientov, ktorí podstúpili liečbu oxidom arzenitým**

Keďže sme vo vzorkách moču odobraných počas projektu ASHRAM nedetekovali zlúčeniny trojmocného arzenu, absenciu týchto vysoko toxických zlúčenín sme pripísali pravdepodobne skôr nižším koncentráciám arzenu. Na prekonanie tohto problému sme analyzovali vzorky moču od pacientov, ktorí podstúpili liečbu oxidom arzenitým. V týchto vzorkách sme očakávali skôr vyššie koncentrácie zlúčenín trojmocného arzenu. V prvej sérii pokusov sme zbierali vzorky moču 25-ročnej pacientky počas 6 týždňov liečby akútnej promyelocytickej leukémie (APL). Pacientka dostala 0.15 mg oxidu arzenitého na kg váhy za deň. Vzorky moču sme zbierali ráno a vždy ihneď po intravenóznom podaní As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Po zozbieraní sme vzorky až do doby analýzy zmrazili na -20°C. Najvyššie koncentrácie arzenu, ktoré sme zachytili v moči počas vyšetřovania arzenu, boli: 1.2 mg As/l (medián 0.28; n=47) As(III), 2.52 mg As/l (medián 0.50 n=46) DMA, 2.65 mg As/l (medián 0.54; n=46) MA a 0.11 mg As/l (medián 0.028; n=46) As(V). Hoci bol celý experiment zameraný na zlúčeniny trojmocného arzenu, MA(III) sme neboli schopní zachytiť. Dôvodom absencie zlúčenín trojmocného arzenu mohlo byť nevhodné uskladnenie vzoriek (-20°C). V dôsledku toho sme sa rozhodli vyšetřiť vzorky moču štyroch pacientov vystavených vysokým dávkam anorganického arzenu z dôvodu liečby oxidom arzenitým. Aby sme vylúčili konverziu medzi jednotlivými špeciemi, po zozbieraní vzoriek moču sme ich hneď zmrazili tekutým dusíkom (-180°C). Vzorky sme odobrali pacientom s ochorením plazmocytóm. V deň vzorkovania absolvoval pacient D tri týždne terapie, pacienti A, B, C päť týždňov terapie. Všetci

pacienti boli starší ako 50 rokov. Ošetrovanie pozostávalo z dvoch intravenózných injekčných dávok  $As_2O_3$  (20-30 mg As) týždenne v závislosti od hmotnosti a telesnej kondície. Navyše, pacientom bol podaný injekčne 1g vitamínu C. Vzorku moču sme odobrali pred ošetrovaním a po ošetrovaní. Vzorky sme hneď zmrazili v kvapalnom dusíku do doby analýzy (~ 3 dni). Tesne pred analýzou sme vzorky rozmrazili na laboratórnu teplotu, zriedili, filtrovali cez nylonový filter 0.22  $\mu m$  a analyzovali.

## 2.7 EXPOZÍCIA ARZÉNU Z PITNEJ VODY

Popis metód hodnotenia expozície arzénu v tejto časti je rozdelený do troch oblastí: v prvej je popísaný celkový prístup, v druhej zdroje údajov o arzéne a v tretej metóda pre odhad expozície arzénu u prípadov a kontrol.

### 2.7.1 CELKOVÝ PRÍSTUP K HODNOTENIU EXPOZÍCIE

Jedným z cieľov štúdie ASHRAM bolo kvantifikovať riziko pre tri druhy rakoviny (močového mechúra, obličiek a kože) vo vzťahu ku kumulatívnej expozícii arzénu. Po zhodnotení všetkých možných ciest a spôsobov expozície arzénu boli pre túto študovanú populáciu vybraté tri cesty ako najdôležitejšie: (i) expozícia z vodných zdrojov; (ii) pracovná expozícia a (iii) expozícia zo zložiek potravy. Pôvodne sme predpokladali, že expozícia z vodných zdrojov bude významne najdôležitejšou zložkou celkovej expozície. Ďalej tiež úloha rekonštruovať minulé expozície pre každého účastníka štúdie bola veľmi zložitá, a v predchádzajúcich štúdiách o arzéne a rakovine nebola úspešne dokončená. A po tretie, vzhľadom na časový rozvrh projektu sme nepovažovali za možné zhodnotiť riziko rakoviny založené na dobrých odhadoch expozície zo všetkých možných zdrojov, a dokonca ani nie zo všetkých troch typov expozície, ktoré boli identifikované ako dôležité pre túto populáciu. Vzhľadom na všetky tieto uvedené dôvody, rekonštrukciu expozície arzénu sme zamerali na expozíciu z pitnej vody. Preto je táto metóda popísaná oveľa detailnejšie ako metódy použité na analýzu pracovnej a výživovej expozície.

Jedným z hlavných problémov v epidemiologických štúdiách, ktoré skúmajú vzťah medzi kontaminantmi pitnej vody a ochoreniami, je správny odhad konzumácie pitnej vody z kohútika pre každého jednotlivca (Shimokura et al., 1998). Počas nedávneho workshopu bola identifikovaná potreba primárneho výskumu, ktorý by popísal vylepšenú metódu pre meranie konzumácie vody pre epidemiologické štúdie. (Arbuckle et al., 2002). Tento problém je ešte zložitejší, keď je štúdia retrospektívna, napr. ako štúdia prípad-kontrola, kde patrí aj ASHRAM, keď sa musí určiť história konzumácie (a teda expozícia) pitnej vody z kohútika na individuálnej úrovni (Fletcher et al., 2004).

S analýzou histórie expozície arzénu sú spojené dva hlavné problémy: zmena individuálnej dávky arzénu spojená so zmenou dodávky vody (Colt et al., 2002), a zmena dávky arzénu spojená s individuálnou zmenou konzumácie množstva vody (Shimokura et al., 1998). V nedávnej minulosti nastali významné zmeny v expozícii arzénu v niektorých častiach študovanej oblasti projektu ASHRAM, a pre niektoré subpopulácie zmeny stále prebiehajú. V ďalších okresoch bola zase expozícia zredukovaná rôznymi opatreniami. Projekt ASHRAM teda musel zobrať do úvahy tieto zmeny expozície v čase.

V študovanej oblasti ASHRAM využívajú ľudia rôzne zdroje vody vrátane verejných distribučných systémov a súkromných studní. Zmeny v dodávke vody sú teda veľmi zložené, jedným z navrhovaných prístupov je zozbieranie vzoriek vody zo všetkých vodných zdrojov používaných študovanými subjektami počas ich celého života (Colt et al., 2002). Toto je však rozsiahla úloha a jej očakávaný úspech je veľmi nízky. Napr. jedna zo súčasných štúdií zistila, že vzorky sa dajú úspešne získať iba zo 47 % studní používaných v minulosti (Colt et al., 2002). Ďalším prístupom by mohlo byť použitie hydrogeologických informácií na odhad priestorovej variability v koncentráciách arzénu v jednotlivých povodiach. Napr. v United States Geological Survey (USGS – Geologická survey USA) boli publikované série máp popisujúcich distribúciu arzénu v podzemnej vode (Ayotte et al., 1999). Od tohto času je vidieť zvýšený záujem na použitie týchto informácií pre analýzy cost-benefit v súvislosti s opatreniami na úpravu pitnej vody a predikciou zdravotných rizík vo vzťahu k arzénu pre rôzne regióny USA (Ryker 2001). V projekte ASHRAM bola preskúmaná táto možnosť, avšak bolo rozhodnuté, že nie je možné

pripraviť charakterizáciu takých veľkých oblastí ako napr. Veľká maďarská planina v časovom rozmedzí projektu.

Metodológia pre túto štúdiu teda pozostávala z kombinácie subjektívnych údajov o konzumácii pitnej vody (dotazník) s meranými koncentráciami arzénu v príslušnom systéme dodávky vody (buď ako súčasť štúdie, alebo rutinné historické údaje). Tento prístup bol použitý na rekonštrukciu histórie individuálnej expozície pre každého účastníka štúdie ASHRAM.

Pracovná expozícia arzénu je spojená z viacerými priemyselnými a poľnohospodárskymi činnosťami. V projekte ASHRAM sa použili validované metódy pre analýzu pracovných expozícií. Jedna časť hlavného dotazníka bola zameraná na pracovnú expozíciu všeobecne, ako možnú príčinu rakoviny močového mechúra a iných rakovín, a tiež ako možné zdroje arzénu v pracovnej expozícii.

## **2.7.2 ZDROJE ÚDAJOV O ARZÉNE**

Arzén vo vode bol odhadovaný na základe údajov zo zdrojov: (1) merania vo vode; (2) historické údaje; (3) expozícia arzénu cez potraviny. Naším zámerom je k týmto pridať (4) prácu. Tieto časti budú teraz postupne popísané.

### ***(1) Merania arzénu vo vode***

Na určenie obsahu arzénu boli zozbierané vzorky z piatich vodných zdrojov: súčasné bydlisko; bydlisko kde účastník býval najdlhšie, prvé bydlisko, súčasné pracovisko, pracovisko kde účastník štúdie pracoval najdlhšie. V nasledujúcich analýzach sú prezentované iba výsledky z meraní v miestach bydliska. Metodika zberu vzoriek vody bola schválená výskumným tímom (detailné protokoly sú k dispozícii na požiadanie). Na odbery boli vyškolení technici, ktorí určili všetky vybrané miesta bydliska a vykonali odbery. Všetky vzorky vody boli analyzované v jednom laboratóriu v Kluzi-Napoca s použitím AAS metódy, a pod kontrolou chemikov na univerzite v Grazi, Rakúsko a RUVZ Banská Bystrica, SR. Výsledky medzilaboratórneho porovnania ukázali dobrú zhodu. V laboratóriách dvoch z autorov (WG - Rakúsko a MV - Švédsko) bolo zopakovaných 10 % analýz, zhoda bola v rámci 5 %.

### ***(2) Historické údaje o arzéne***

V Maďarsku a na Slovensku sa koncentrácie arzénu vo vode menili niekoľkokrát, ako následok opatrení na zníženie expozície. Ak by sme tieto fakty ignorovali, vznikli by chyby v odhade príjmu arzénu v minulosti. V Rumunsku neboli uskutočnené žiadne opatrenia, takže v tomto prípade sa historické koncentrácie neurčovali. Maďarskí a slovenskí riešitelia projektu vytvorili databázu historických koncentrácií arzénu pre všetky miesta bydliska, kde bývali účastníci štúdie ASHRAM. Všetky miesta bydliska mali priradenú hodnotu koncentrácie arzénu podľa meraní príslušných štátnych inštitúcií, a to pre každý rok od roku 1980 v Maďarsku a od roku 1989 na Slovensku. Tieto historické údaje boli zaradené do hlavnej databázy projektu ASHRAM.

Tieto údaje boli použité pre zodpovedajúce časové obdobia na priradenie hodnôt koncentrácií k vodným zdrojom pre tie miesta bydliska, kde nebolo možné získať vzorky vody, a tiež pre miesta bydliska, kde boli v minulosti vyššie koncentrácie arzénu vo vode. Tento prístup je ukázaný v tabuľke č.4 pre odhadované koncentrácie podľa rokov pre niektoré maďarské mestá v študovanej oblasti. Tieto údaje boli potom kombinované s nameranými údajmi podľa nasledujúceho princípu: ak bola odobratá vzorka vody v projekte ASHRAM zo systému zásobovania vody v sledovanom meste, tak bola aj použitá v databáze a to do času, keď boli v minulosti robené opatrenia a predtým boli merané vyššie koncentrácie (napr. do roku 1995 v Bekeši, pre predchádzajúce roky boli použité archívne údaje).

Tabuľka č. 4

### Časť historických údajov o koncentrácii arzénu vo vode pre skupinu miest v Maďarsku

Sídlo	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002
ABÁDSZALÓK	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
ÁGASEGYHÁZA	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
AKASZTÓ	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
ALATTYÁN	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
APÁTFALVA	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
APOSTAG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
ÁRPÁDHALOM	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
BÁCSALMÁS	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64
BÁCSBOKOD	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
BÁCSBORSÓD	42	42	42	42	42	42	42	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
BÁCSZÓLOS	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41
BAJA	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
BALLÓSZÖG	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
BALOTASZÁLLÁS	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	46	46	46	46	46	46	46	30	30	30	30	30	30
BÁTYA	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
BÉKÉS	220	220	220	220	71	71	71	71	71	25	25	25	25	25	25	17	17	17	17	17	17	17	17
BÉKÉSCSABA	100	100	100	66	66	66	66	89	89	30	30	30	20	20	17	17	17	17	17	17	17	17	17
BÉKÉSSZENTANDRÁS	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
BEREKFÜRDO	60	60	60	60	60	60	60	60	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
BESENYSZÖG	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
BÓCSA	80	80	80	80	80	80	80	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
BORDÁNY	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
BOROTA	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
BUCSA	198	198	198	198	198	198	198	53	53	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
BUGAC	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22

V tejto časti sú uvedené niektoré ďalšie podrobnosti o procese rekonštruovania historických údajov o arzéne vo vode v Maďarsku a na Slovensku.

V Maďarsku boli k dispozícii detailné údaje o koncentráciách arzénu meraných rôznymi laboratóriami (hlavne Národným ústavom ŽP a zdravia, ktorý sa v minulosti volal Národný ústav VZ, NÚVZ), na ktorých boli založené odhady historických hodnôt. Tieto detailné údaje boli z nasledujúcich zdrojov:

- údaje z originálnych záznamov meracích zariadení používaných NÚVZ v 80-tych rokoch boli vložené do počítačovej databázy;
- údaje z papierových záznamov regionálneho ÚVZ v Békeši boli tiež vložené do databázy;
- správa zo štúdie Dr. Csanádyho o histórii analýzy expozície arzénu z pitnej vody, rôzne typy intervencií a ich výsledky obsahujúce údaje o koncentráciách arzénu pred a po uplatnení opatrení v 70 -tich obciach;
- celá databáza národnej štúdie o obsahu arzénu vo vode z kohútika, štúdia bola vykonaná v rokoch 1997-99;
- údaje z meraní v poslednom období z viacerých obcí, kde sa menili zdroje pitnej vody.

Bol vytvorený zoznam obcí, ktoré boli uvedené v dotazníkoch účastníkov štúdie buď ako miesto bydliska alebo ako miesto pracoviska, a k nim tabuľka zodpovedajúcich koncentrácií v sledovanej obci. Pre každú obec bol použitý osobitný zošit v programe MS Excel, do neho boli zapísané všetky dostupné koncentrácie arzénu (spolu s dátumom merania). K jednotlivým rokom a obciam boli priradené jednotlivé koncentrácie podľa úsudku expertov, ktorí mali k dispozícii horeuvedené údaje. Týmto spôsobom bola vytvorená tabuľka koncentrácií arzénu v pitnej vode z verejných vodovodov pre každú obec a každý rok. Tabuľku kontrolovali a skomentovali štyri regionálne úrady verejného zdravotníctva, na základe ktorých boli v tabuľke urobené niektoré zmeny. Potom bola schválená konečná verzia, ktorá je najlepším možným odhadom historických koncentrácií arzénu v pitnej vode z verejných vodovodov.

Na Slovensku boli najprv vyhodnotené metódy merania, ktoré sa v minulosti používali na získanie údajov o As vo vode. Na základe tohto hodnotenia pre merania používané v ŠZÚ a SSVaK, ZSVaK bolo rozhodnuté, že od roku 1989 sú k dispozícii kvalitné údaje a teda môžu byť použité na analýzu expozície. Bola vytvorená databáza historických koncentrácií arzénu vo verejných vodovodoch, kde boli zobrazené do úvahy merania horeuvedených inštitúcií (1500 výsledkov). Databáza obsahuje historickú rekonštrukciu pre roky 1989 až 2004, osobitne pre každé miesto bydliska účastníkov štúdie (330 obcí). Špeciálne boli zhodnotené tie systémy zásobovania vodou, kde sa vykonali opatrenia v dôsledku zmeny limitu arzénu v pitnej vode na 10 µg/l.

## 2.7.3 INDIKÁTORY EXPOZÍCIE ARZÉNU

Boli študované tieto 3 indikátory expozície arzénu:

- A. súčasná expozícia
- B. celoživotná expozícia
- C. najvyššia expozícia

### **A. Súčasná expozícia**

Súčasná expozícia je založená na meraniach arzénu vo vode, tento indikátor je relevantný najmä pre analýzy vzťahu medzi expozíciou As z vody a biomarkermi As v moči. Pre súčasnú expozíciu sme definovali dve premenné:

(i) Súčasná koncentrácia arzénu. Je to koncentrácia As v pitnej vode v poslednom mieste bydliska a udáva sa v mikrogramoch/liter.

(ii) Súčasná dávka arzénu. Je to súčasná koncentrácia arzénu vynásobená denným príjmom lokálnej pitnej vody, udáva sa v mikrogramoch/deň. Zodpovedajúci odhad celkového príjmu vody bol použitý z dotazníka frekvencie potravín.

### **B. Celoživotná expozícia**

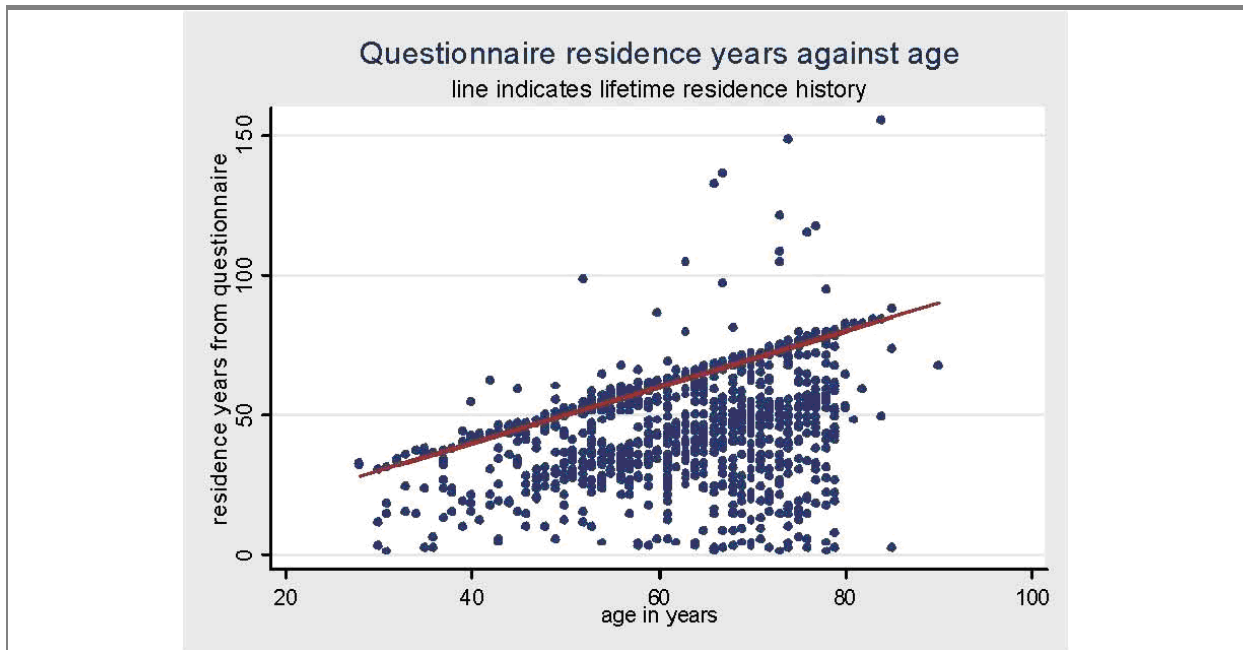
Kumulatívna expozícia kombinuje merania vo vode s historickými údajmi a obidva údaje aplikuje podľa znalosti údajov o histórii bývania účastníka štúdie. V čase písania tejto správy sa brala do úvahy len história bývania. Jednoduchý odhad kumulatívneho arzénu veľmi závisí od proporcie chýbajúcich údajov, a preto bola namiesto toho vypočítaná celoživotná priemerná dávka. Pre kumulatívnu expozíciu sme definovali tri premenné: (i) celoživotná priemerná koncentrácia arzénu, (ii) celoživotná priemerná dávka arzénu, a (iii) kumulatívna dávka arzénu.

(i) Celoživotná priemerná koncentrácia arzénu. Je to priemer koncentrácií arzénu vo vode počas života účastníka štúdie, zoberúc do úvahy všetky miesta bydliska a historické a súčasné merania koncentrácie arzénu vo vode. Udáva sa v mikrogramoch/liter.

Pre niektorých účastníkov štúdie neboli k dispozícii úplné údaje o histórii bývania a teda odhad kumulatívnej koncentrácie arzénu by bol nepresný. V prípade, že koncentrácie arzénu boli v dávnejšej minulosti vyššie, ako v období pokrytom historickými údajmi, tento odhad by bol podhodnotený. Pre niektorých účastníkov štúdie sa prekrývali obdobia súčasného bývania (v jednom čase býval na viacerých miestach bydliska). Tento problém sa kontroloval v období čistenia údajov, ale bol uzavretý tak, že niektorí účastníci naozaj mohli bývať počas daného obdobia na dvoch miestach. Prekrytia sa špeciálne vyhodnotili, aby bolo možné urobiť čo najpresnejší možný odhad koncentrácie arzénu vo vode. Ak boli tieto prekrytia v tom istom meste / obci, koncentrácia nebola upravovaná. Prekrytia vo viacerých mestách boli identifikované u 6 účastníkov štúdie. Pre nich bolo koncentrácia vypočítaná z priemeru pozorovanej / imputovanej hodnoty koncentrácie arzénu pre obidve miesta bydliska a tento priemer vážený na príslušný počet rokov strávený v dvoch bydliskách bol potom použitý v kumulatívnom odhade celoživotnej expozície. Pre ďalšie miesta bydliska, niektorí účastníci (N=358) mali súčet období bývania vo svojich bydliskách vyšší ako vek. Vo väčšine prípadov to bol malý rozdiel – jeho 90%-ný percentil bol 3 roky. Zvyšní 32 účastníci mali tento rozdiel medzi 4-74 rokmi, s mediánom 15 rokov.

Graf č. 1

Počet rokov pre ktoré účastníci uviedli informácie o histórii bývania vo vzťahu k veku



Väčšina pozorovaní padne pod priamku  $y=x$ , čo znamená, že väčšina účastníkov má súčet období bývania nižší ako vek, ako už bolo diskutované vyššie.

Tabuľka č. 5 ukazuje sumárne štatistiky pre dĺžku bývania v rokoch, podľa počtov miest bydliska uvedených v dotazníku.

Tabuľka č. 5

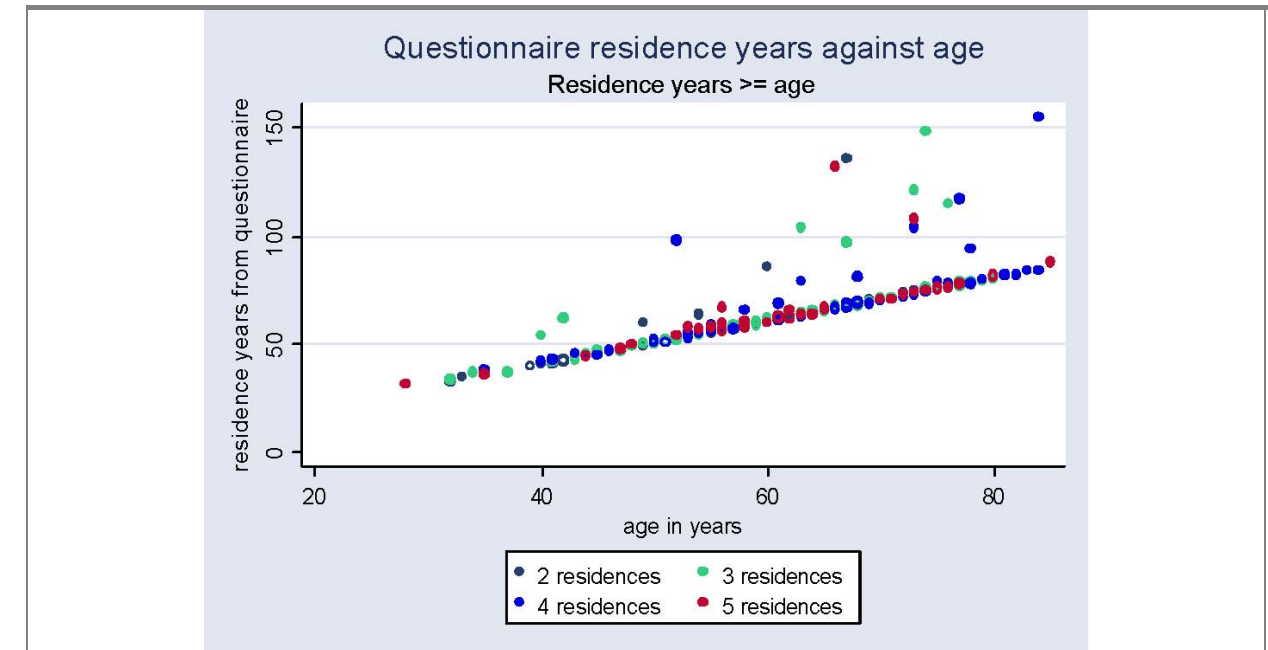
Počet miest bydliska uvedený účastníkmi a priemerná dĺžka bývania v rokoch

Počet miest bydliska	N	Min	Dĺžka bývania v rokoch Priemer (SD)	Max
1	170	15	58.7 (15.7)	80
2	419	1	51.9 (19.6)	136
3	417	1	49.9 (20.5)	148
4	255	1	49.1 (21.5)	155
5	158	2	48.7 (18.9)	132
6	30	26	50.4 (13.5)	72
7	12	20	41.9 (13.6)	76
8	11	20	45.1 (14.0)	65
9	1	47	47	47
<b>Celá štúdia</b>	<b>1473</b>	<b>1</b>	<b>51.1</b>	<b>155</b>

Účastníci, ktorí bývali na dvoch až piatich miestach bydliska majú najväčšiu dĺžku bývania; graf č. 2 ukazuje dĺžku bývania oproti veku pre tých účastníkov, ktorí uviedli 2-5 miest bydliska a sumárna dĺžka bývania sa zhoduje s vekom alebo preyšuje vek.

Graf č. 2

Účastníci, ktorí uviedli vyššiu dĺžku bývania ako vek v rokoch



Tabuľka č. 6

Proporcia z dĺžky života, pre ktorú boli k dispozícii informácie o mieste bydliska, a pre ktorú bolo možné odhadovať historickú expozíciu arzénu

Región	Sumárne štatistiky pre proporciu dĺžky bývania z dĺžky života podľa dotazníka					
	počet účastníkov	minimum	10%-ný percentil	50%-ný percentil	90%-ný percentil	maximum
Bacs	261	0	0.6	1	1	1.5
Bekes	55	0.2	0.6	1	1.5	2
Csongrad	102	0	0.6	1	1	2
Jasz-Nagykun-Szolnok	110	0.1	0.5	1	1	1.1
Bihar	164	0	0.3	0.9	1	2
Arad	296	0	0.2	0.7	1	1
Banská Bystrica	224	0	0.5	1	1	1
Nitra	261	0.1	0.5	1	1	1.7
<b>Celkom</b>	<b>1473</b>	<b>0</b>	<b>0.4</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
Región	Sumárne štatistiky pre proporciu dĺžky bývania z dĺžky života podľa dotazníka					
	počet účastníkov	minimum	10%-ný percentil	50%-ný percentil	90%-ný percentil	maximum
Bacs	164	0	0.4	0.9	1	1
Bekes	30	0.2	0.5	0.8	1	1
Csongrad	72	0	0.5	1	1	1
Jasz-Nagykun-Szolnok	80	0.1	0.4	0.9	1	1
Bihar	135	0	0.2	0.7	1	1
Arad	273	0	0.2	0.6	1	1
Banská Bystrica	177	0	0.5	0.8	1	1
Nitra	184	0.1	0.5	0.9	1	1
<b>Celkom</b>	<b>1115</b>	<b>0</b>	<b>0.4</b>	<b>0.7</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

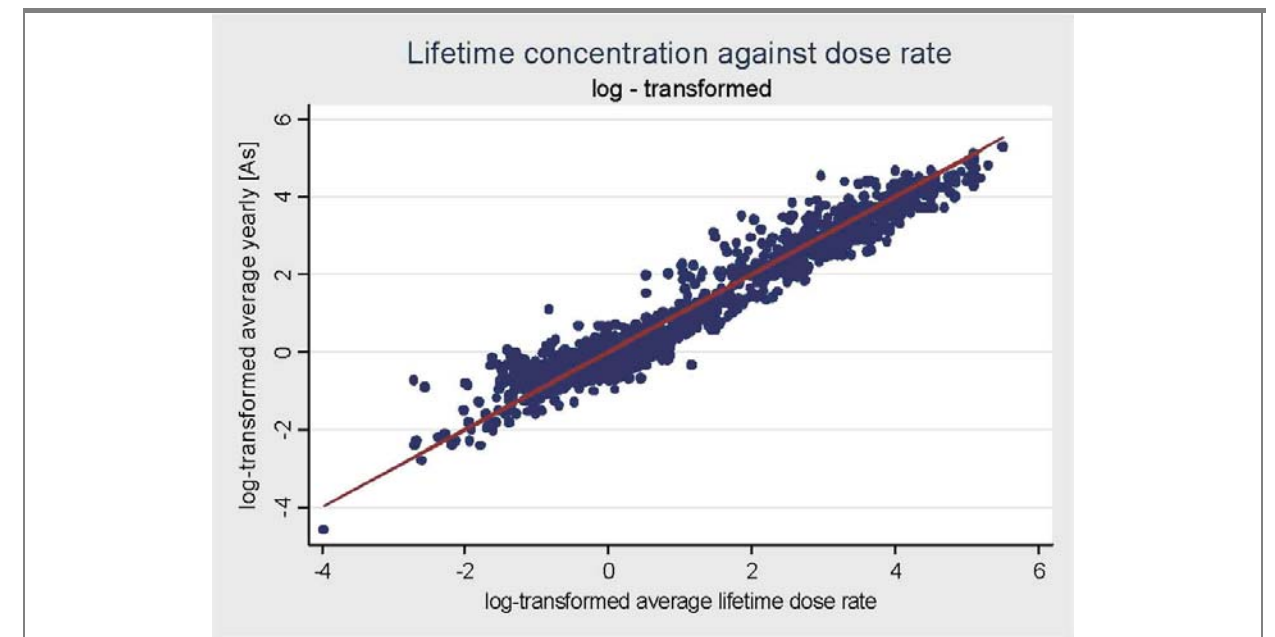
Tabuľka č. 6 ukazuje rozdelenie podielu jednotlivých dĺžok bývania na celkovej dĺžke života podľa údajov z dotazníka podľa sledovaných regiónov (podieľ väčšie ako 1 znamenajú prekrytie bývania diskutované vyššie). Prvá časť tabuľky uvádza aj prekrytia, v druhej sú vylúčené.

(ii) Celoživotná priemerná dávka arzénu. Bola vypočítaná z priemernej celožitovnej koncentrácie vynásobením množstvom príjmu „lokálnej dennej vody“ pre každého účastníka. Jednotkou je mikrogram/deň. V tomto prípade bol z dotazníka frekvencie potravín použitý celkový denný príjem vody v minulosti (pred rokom 1989).

Medzi celožitovnou koncentráciou a celožitovnou dennou dávkou bol zistený veľmi silný vzťah (korelácia 0.97) a preto bola ako proxy pre celožitovnú expozíciu v prvých analýzach použitá celožitovná koncentrácia. Graf č. 3 ukazuje vzťah medzi celožitovnou koncentráciou a celožitovnou dennou dávkou.

Graf č. 3

Porovnanie celožitovnej priemernej koncentrácie arzénu a celožitovnej dennej dávky



(ii) Kumulatívna dávka arzénu. Najprv bolo vypočítané „celkové množstvo príjmu lokálnej dennej vody v minulosti“, vynásobením príjmu „lokálnej dennej vody“ (odhad spojený s priemerným dňom) 365,25 (aby sme dostali príjem za 1 rok) a potom vekom (v rokoch). Toto množstvo je odhadom príjmu celkového množstva vody počas celého života pre každého účastníka. Keďže boli k dispozícii dva odhady „lokálnej dennej vody“ (pred 1989 a po 1989), prvý odhad bol použitý pre odhad celkového denného príjmu vody v minulosti. Kumulatívna dávka arzénu bola vypočítaná vynásobením „celkového množstva príjmu lokálnej dennej vody v minulosti“ a celožitovnej koncentrácie. Jednotkou je gram.

### **C. Najvyššia expozícia.**

Najvyššia expozícia je definovaná na základe najvyššej expozície arzénu v jednom roku života účastníka štúdie. Môžu byť určené dve miery:

(i) Najvyššia koncentrácia arzénu, definovaná ako najvyššia koncentrácia arzénu vo vode v jednom roku života účastníka štúdie. Meria sa v mikrogramoch/liter.

(ii) Najvyššia denná dávka arzénu, definovaná ako najvyššia koncentrácia vynásobená „celkovým množstvom príjmu lokálnej dennej vody v minulosti“. Meria sa v mikrogramoch/deň.

Prehľad indikátorov expozície je uvedený v tabuľke č. 7 na nasledujúcej strane.



**Sumár indikátorov expozície arzénu (indikátory vyznačené boldom boli použité v odhade rizika rakoviny)**

	Bez zohľadnenia objemu vody		So zohľadnením objemu vody	
	Definícia	Obdobie kalkulácie	Definícia	Obdobie kalkulácie
<b>Súčasná</b>	súčasná koncentrácia As ( $\mu\text{g/l}$ ) = koncentrácia As z posledného bydliska	z konkrétnych meraní alebo historických údajov	súčasná dávka As ( $\mu\text{g}/\text{deň}$ ) = súčasná koncentrácia As x súčasný príjem vody z výživového dotazníka	výsledky zo súčasných meraní, môžu byť aj údaje z historickej databázy
<b>Celoživotná</b>	<b>celoživotná priemerná koncentrácia As (<math>\mu\text{g/l}</math>)</b> = priemerná celožitovná koncentrácia As počas celého života zohľadňujúca všetky bydliská a kombinácia historických databáz	celkové obdobie podľa všetkých bydlisk	priemerná celožitovná dávka As ( $\mu\text{g}/\text{deň}$ ) = celožitovná koncentrácia x objem vody za deň podľa údajov z výživového dotazníka pred rokom 1989  <b>kumulatívna dávka As (g)</b> = priemerná životná koncentrácia As x celkový príjem vody podľa údajov pred r. 1989 (denný príjem x 365,25 x roky života)	všetky zaznamenané bydliská  celoživotné (vek v rokoch)
<b>Najvyššia</b>	najvyššia koncentrácia As ( $\mu\text{g/l}$ ) = najvyššia koncentrácia As vo vode v niektorom roku života	najvyššia zistená – z meraní, alebo historických údajov	<b>najvyššia denná dávka (<math>\mu\text{g}/\text{deň}</math>)</b> = najvyššia koncentrácia x celkový príjem vody	najvyššia zistená – môže byť z meraní, alebo historických databáz

## 2.8 PREHĽAD CELKOVÝCH KONCENTRÁCIÍ ARZÉNU VO VYBRANÝCH POTRAVINÁCH NA SLOVENSKU

Počas štúdie ASHRAM bol obsah arzénu v pokrmoch stanovovaný prostredníctvom dotazníkovej metódy zameranej na frekvenciu konzumácie jednotlivých pokrmov. Za účelom skontrolovať výsledky dostupné zo slovenskej databázy živín a iných kovov v potravinách bol uskutočnený malý prieskum niekoľkých pokrmov.

Hlavným cieľom tejto štúdie bolo overenie kvality údajov zo slovenskej databázy, nakoľko veľa zo zoznamu hodnôt koncentrácií arzénu bolo zaradených v databáze s hodnotami ktoré boli pod úrovňou detekčného limitu použitej metódy stanovenia. Pretože na začiatku projektu sa pokrmy nepovažovali za dôležitý zdroj expozície, bola iba malá časť zo zoznamu pokrmov silne asociovaných s pravdepodobnou expozíciou arzénu vyšetrená počas štúdie ASHRAM v Slovenskej populácii, u ktorej sa pôvodne predpokladala expozícia hlavne z vody.

Hlavným výberovým kritériom na zaradenie pokrmu na analýzu obsahu As bol predpoklad, že môžu byť zdrojom expozície As na základe údajov z literatúry, ktoré udávali relatívne vysoký obsah As v niektorých pokrmoch a hlavne na základe vysokej konzumácie niektorých bežných pokrmov v populácii, ktoré pri vysokej konzumácii môžu viesť k potenciálne významnému príjmu As a to aj napriek jeho nízkym koncentráciám As v danej potravine.

Na základe týchto záverov a výsledkov predchádzajúcich výskumov obsahu As v pokrmoch na Slovensku bolo vybraných 7 komodít určených na vyšetrenie vzoriek: tmavý chlieb, biela ryža, polotučné mlieko, bravčové a kuracie mäso, šúpané a nešúpané zemiaky a kapusta. Vzorky sa odoberali v dvoch regiónoch: Banská Bystrica a Nitra.

Od roku 1989 sa spôsob predaja pokrmov v týchto regiónoch značne zmenil so vznikom nových supermarketov. V každom regióne sa vzorky odoberali v jednom veľkom meste, v dvoch menších mestách a v niekoľkých dedinách ako je uvedené v nasledujúcej tabuľke. Pri interpretácii treba vziať do úvahy typické znaky v konzumácii potravín v jednotlivých regiónoch, veľkoobchody a distribúciu slovenskej populácie. Bol vytvorený protokol odberu vzoriek popisujúci proces selektovania a transportu vzoriek.

25. novembra 2004 rovnaké vzorky 7 potravín boli odobraté v Banskej Bystrici (v malom a veľkom obchode), v Nitre (v malom a veľkom obchode), v Brezne (v malom obchode), v Žiari nad Hronom (v malom obchode), v Hliníku nad Hronom (v malom obchode), vo Valaskej (v malom obchode), v Leviciach (vo veľkom obchode), v Nových Zámkoch (v malom obchode), v Kozárovciach (v malom obchode) a v Tvrdošovciach (v malom obchode) a odoslané na analýzy do laboratórií Partner 3, Graz University, Rakúsko.

Mokrú vzorky (mlieko, bravčové a kuracie mäso, zemiaky a kapusta) boli lyofilizované. Úbytok tekutín bol zaznamenávaný s cieľom vypočítať celý zvyšok tekutého základu. Následne boli vzorky mleté v Retsch ZM 1000 ultracentrifugačnom mlecem zariadení s titánovým rotorom a titánovým sitom (0,25 mm). Alikvotná časť týchto vzoriek (~0.5 g) bola zmiešaná s HNO<sub>3</sub> v kremíkovej nádobe v mikrovlnnej pomocnej autokláve. Teplota bola zvýšená za 45 minút na 250 °C a následne bola táto teplota udržiavaná po dobu 45 minút. Tento proces digestie zabezpečil, že obsah reziduálneho uhlíka vo vzorkách bol blízky nule, čo je veľmi dôležité pre analýzu stopových množstiev koncentrácií As. Po procese digestie boli vzorky kvantitatívne prenesené do 50 ml polypropylénových skúmaviek s pridaním 20 ml Milli-Q water (18.2 MΩ\*cm).

Celkové koncentrácie arzénu v týchto vzorkách boli stanovené prístrojom ICPMS Agilent vybaveným oktopólovým reakčným systémom. Na odstránenie možných interferencií bol použitý m/z 75 He ako reakčný plyn. Na kalibráciu bol použitý štandardný roztok As s pridaním kyseliny. Na QA/QC vhodný SRMS (NIST pšeničný glutén, paradajkové listy) boli spracované rovnakým spôsobom ako vzorky.

V prvej sérii testov bola jedna vzorka rozdielneho druhu pokrmu náhodne vybraná a analyzovaná na homogenitu. Výsledky sú uvedené v tabuľke č. 8. Všetky výsledky sú vyjadrené na pôvodnú formu (mokrú).

**Tabuľka č. 8 Homogenita koncentrácií arzénu vo vzorkách jednej potraviny**

Názov vzorky	[ug As/kg]	Názov vzorky	[ug As/kg]	Názov vzorky	[ug As/kg]
Chlieb 6.1	10.2	Ryža 6.2	183	Mlieko 6.3	0.6
Chlieb 6.1_2	9.5	Ryža 6.2_2	188	Mlieko 6.3_2	0.6
Chlieb 6.1_3	8.2	Ryža 6.2_3	188	Mlieko 6.3_3	0.6
Chlieb 6.1_4	8.0	Ryža 6.2_4	190	Mlieko 6.3_4	0.9
Chlieb 6.1_5	8.9	Ryža 6.2_5	188	Mlieko 6.3_5	0.6
Priemer	9	Priemer	187	Priemer	0.7
SD	1	SD	3	SD	0.1

Názov vzorky	[ug As/kg]	Názov vzorky	[ug As/kg]	Názov vzorky	[ug As/kg]
Bravčovina 6.4	2.6	Kuracina 6.5	38.4	Kapusta 6.7_1	1.0
Bravčovina 6.4_2	1.4	Kuracina 6.5_2	41.1	Kapusta 6.7_2	1.5
Bravčovina 6.4_3	1.4	Kuracina 6.5_3	42.6	Kapusta 6.7_3	1.0
Bravčovina 6.4_4	1.3	Kuracina 6.5_4	38.2	Kapusta 6.7_4	1.2
Bravčovina 6.4_5	2.3	Kuracina 6.5_5	38.4	Kapusta 6.7_5	1.0
Priemer	1.8	Priemer	40	Priemer	1.1
SD	0.6	SD	2	SD	0.2

Názov vzorky	[ug As/kg]		
Zemiaky 6.6	97.9		
Zemiaky 6.6_2	113		
Zemiaky 6.6_3	100		
Zemiaky 6.6_4	110		
Zemiaky 6.6_5	208		
Priemer	126		
SD	46		

Heterogenita koncentrácií arzénu medzi vzorkami jednej potraviny/pokrmu bola značná. U vyšších koncentrácií As ako napr. u ryže to bolo menej ako 2 %, ale vzrástla s poklesom celkovej koncentrácie As. Výnimkou bola vzorka zo zemiakov, ktorá ukázala výraznú heterogenitu (~37%) hoci celková koncentrácia As bola vysoká (~100 µg/kg). Vzorky zemiakov v tomto experimente neboli ošúpané. Tieto nálezy sa pravdepodobne dajú vysvetliť prítomnosťou adherujúcich častíc pôdy. Pomerne vysoká koncentrácia As rovnako indikuje kontamináciu šupky zemiakov. Z tohto dôvodu boli zemiaky po ošúpaní opätovne analyzované na obsah celkového As. Výsledky sú uvedené v tabuľke č. 9.

**Tabuľka č. 9 Homogenita celkových koncentrácií As v ošúpaných zemiakoch**

Názov vzorky	[ug As/kg]
Zemiaky 6.6	1.9
Zemiaky 6.6_opakovaná 2	2.2
Zemiaky 6.6_opakovaná 3	1.9
Zemiaky 6.6_opakovaná 4	3.0
Zemiaky 6.6_opakovaná 5	7.0
Priemer	3.2
SD	2.2

Tak, ako sa predpokladalo, celková koncentrácia As bola oveľa nižšia oproti zemiakom so šupkou. Tieto nálezy sú významné, a je treba ich zohľadniť pri interpretácii koncentrácií arzénu v moči pri nízkej expozícii As z pitnej vody. Veľa ľudí konzumuje zemiaky so šupkou a značné množstvo As môže zvýšiť koncentráciu As v moči, pokiaľ je As súčasťou adherujúcej pôdy biologicky dostupný.

## 2.9 EXPOZÍCIA SLNEČNÉMU ŽIARENIU A INÉ OVPLYVŇUJÚCE FAKTORY

V dotazníku boli riadeným rozhovorom zisťované aj informácie o potenciálne ovplyvňujúcich faktoroch, ktoré by mohli mať vplyv na vzťah medzi expozíciou arzénu a vznikom rakoviny.

Študovali sme tri indikátory expozície slnečnému žiareniu, najvyššia expozícia (UV-PE) bola definovaná ako najvyšší počet hodín expozície hornej časti tela slnečnému žiareniu, kumulatívna celoživotná expozícia (UV-CLTE) ako priemer počtu hodín expozície slnečnému žiareniu počas života, citlivosť pleti na spálenie (UV-sens) ako index založený na intenzite kožnej reakcie na expozíciu slnečnému žiareniu (frekvencia spálenia) a farba pleti (UV-compl) ako subjektívne posúdenie farby pleti.

Otázky na fajčenie a pasívne fajčenie boli použité zo štandardných dotazníkov IARC použitých v štúdiu rakoviny močového mechúra z pracovnej expozície. Ostatné časti dotazníka sa zaoberali lekárskou anamnézou vrátane zápalov obličiek a užívania liekov, počtom rokov vzdelania, subjektívnymi údajmi o národnosti, a tiež údajmi o veku a pohlaví.

## 2.10 ŠTATISTICKÉ METÓDY

### 2.10.1 MANAŽMENT ÚDAJOV

Údaje boli spracované pomocou softvéru Auto Data, ktorý umožnil vkladanie údajov z dotazníka pomocou rýchleho skenera do databázy.

### 2.10.2 ANALÝZA FAKTOROV OVPLYVŇUJÚCICH METABOLIZMUS

Expozícia ani údaje o metabolitoch neboli normálne rozdelené. Preto sme na testovanie jednoduchých vzťahov medzi premennými použili Spearmanov test korelácie poradia. Údaje o metabolizme boli spojené premenné s veľkou šikmostou doprava. Na normalizáciu rozdelenia a stabilizáciu variancií regresorov v modeloch bola aplikovaná logaritmickej transformácia. Za základné údaje o metabolizme sme považovali %MMA v moči, %DMA v moči a testovanie štatistickej významnosti vzťahu medzi premennými. Relatívne množstvá DMA a MMA v moči boli vyjadrené ako percento celkového arzénu v moči (%DMA).

Na testovanie vzťahov medzi premennými bola použitá aj mnohonásobná lineárna regresia s transformovanými premennými, aby bolo splnené kritérium normálne rozdelených reziduálov.

### 2.10.3 ANALÝZY VÝŽIVOVÝCH LÁTOK

Z dennej frekvencie konzumácie každej potraviny alebo hotového jedla (otázky) a obsahu výživových látok pre referenčnú veľkosť porcie každej potraviny bude vypočítaný priemerný denný príjem výživových látok a zodpovedajúca štandardná odchýlka. Starostlivé prezretie údajov ukáže, či nie sú v databáze prítomné nepriaznivé hodnoty príjmu výživových látok.

Bude vyhodnotené, či na tieto množstvá majú vplyv niektoré ďalšie charakteristiky účastníkov štúdie. Údaje budú štandardizované na celkový príjem energie, centrum, vek, pohlavie a interval medzi dvomi interview.

#### ***Príjem tekutín***

Celkový príjem tekutín bude vypočítaný pre každého účastníka v ml/deň, budú vytvorené kategórie podľa príjmu tekutín. Tiež bude vypočítané OR (Odds ratio) pre vplyv rôznych hladín príjmu tekutín alebo kategórií príjmu tekutín pre prípady a kontroly.

## **Opakovateľnosť a validácia dotazníka frekvencie potravín**

Opakovateľnosť tohto dotazníka bude vyhodnotená pomocou Pearsonovho korelačného koeficientu vypočítaného pre príjem výživových látok z prvého a druhého dotazníka.

Na analýzu opakovateľnosti bude vyhodnotených 112 otázok týkajúcich sa frekvencie konzumácie potravín a hotových jedál, kde budú vypočítané korelačné koeficienty medzi hodnotami v prvom a druhom kole zodpovedania dotazníka. Tiež sa môžu brať do úvahy rôzne agregácie položiek potravín na zvýšenie opakovateľnosti tam, kde sa očakáva nesprávna interpretácia účastníkmi štúdie.

## **2.10.4 ANALÝZY PRÍPADOV A KONTROL**

### **Výber modelov**

Do použitých modelov logistickej regresie boli pridané indikátory expozície slnečnému žiareniu, vek, pohlavie, počet rokov vzdelania ako aproximácia socio-ekonomického stavu a jednotlivé indikátory expozície arzénu. Na indikátory expozície arzénu bola použitá logaritmická transformácia pre stabilizáciu variácie v modeloch. Tiež boli vytvorené modely pre jednotlivé typy rakovín. Najprv boli použité jednoduché modely s jednou premennou, ktorou bola logaritmicky transformovaná najvyššia denná dávka popísaná vyššie a tiež logaritmicky transformovaná celoživotná priemerná denná dávka; tieto modely boli štandardizované na klastrovanie podľa regiónov použitím analýzy konštantných účinkov. Potom boli vytvorené mnohonásobné modely pre obidva indikátory expozície a množinu a priori ovplyvňujúcich faktorov, ktorá bola iná pre každý typ rakoviny. Pre bazocelulárny karcinóm kože a priori konfoundery boli expozícia slnečnému žiareniu, vek a pohlavie; pre rakovinu obličiek to boli infekcia obličiek v anamnéze (binárna premenná), vek a pohlavie a pre rakovinu močového mechúra to boli expozícia fajčeniu cigariet (meraná ako spojité premenná, celkový počet vyfajčených balíčok-rokov cigariet počas celého života), vek a pohlavie.

### **Modely náhodných vs konštantných účinkov.**

Korelačné koeficienty medzi triedami pre všetky logaritmicky transformované premenné expozície arzénu podľa krajín boli blízko 0.6 (tabuľka č. 10). To znamená, že veľká proporcia (~60%) variability existuje v dôsledku účinku krajiny (bydliska), a teda musí byť použitá štandardizácia pre krajinu. V tomto prípade sú vhodné modely konštantného účinku, pretože štatistické rozdelenie hodnôt týchto premenných pre účastníkov v rámci krajiny bolo približne rovnaké. A navyše tieto štatistické rozdelenia sa líšia podľa regiónov v rámci krajín, takže bola tiež použitá štandardizácia na klastrovanie podľa regiónov. Štandardizácia podľa krajín teda použitá nebola, lebo región je aproximáciou aj pre krajinu.

Všetky mnohonásobné modely popísané vyššie boli teda založené na logistickej regresii s konštantným účinkom s regiónom ako jednotkou expozície na úrovni 2.

<b>Tabuľka č. 10 Korelačné koeficienty medzi triedami pre logaritmicky transformované indikátory expozície arzénu podľa regiónov a krajín</b>		
<b>Premenná klastrovania</b>	<b>Korelačný koeficient medzi triedami pre logaritmicky transformovanú najvyššiu dennú dávku (asymptotická SE- štandardná chyba)</b>	<b>Korelačný koeficient medzi triedami pre logaritmicky transformovanú priemernú celoživotnú dennú dávku (asymptotická SE- štandardná chyba)</b>
<b>Krajina</b>	0.60 (0.24)	0.59 (0.24)
<b>Región</b>	0.57 (0.14)	0.56 (0.15)

### **Úloha výživových látok**

Táto štúdia môže ukázať podstatu vzťahov medzi príjmom výživových látok, príjmom arzénu a rakovinou kože, obličiek a močového mechúra. Z orálneho príjmu jedla a nápojov sa odhadne individuálna expozícia arzénu, a následne sa vypočíta odds ratio medzi prípadmi a kontrolami pre orálny príjem arzénu, pre rôzne úrovne expozície arzénu.

Tiež bude vypočítané odds ratio medzi prípadmi a kontrolami pre rôzne úrovne príjmu vybraných makronutrientov a mikronutrientov.

Príjem výživových látok študovanej populácie sa bude porovnávať s doporučenými výživovými dávkami pre populáciu Slovenskej republiky (RDA, 1997).

Pre analýzu vplyvu príjmu individuálnych potravín a skupín potravín na riziko rakoviny, FFQ sa zoskupí do 19 skupín: (1) mlieko, (2) káva a čaj, (3) chlieb a cereálne jedlá, (4) polievky, (5) vajcia, (6) hydina, (7) červené mäso, (8) spracované mäso, (9) ryby, (10) syr, (11) surová zelenina, (12) varená zelenina, (13) zemiaky, (14) strukoviny, (15) citrusové ovocie, (16) iné ovocie, (17) koláče, (18) cukor a sladkosti, (19) umelé sladidlá. Suma týždennej frekvencie príjmu potravín alebo jedál zaradených do tej istej skupiny bude priradená do rôznych úrovní konzumácie na základe celej študovanej populácie (prípady a kontroly). Bude vypočítané odds ratio.

# 3. VÝSLEDKY

## 3.1 ŠTUDOVANÁ POPULÁCIA

Zber údajov o prípadoch a kontrolách trval 20 mesiacov, od januára 2003 do septembra 2004. Do štúdie bolo pozvaných 1836 pacientov, 1566 alebo 85.3% súhlasilo s účasťou v štúdiu (tabuľka č. 11). Neskôr 71 z nich nemalo histologické potvrdenie diagnózy, a ďalších 7 bolo vyradených pre iné dôvody, a teda na analýzy zostalo 1488 pozorovaní.

Tabuľka č. 11 Zber študovanej populácie

Počet pacientov	Maďarsko	Rumunsko	Slovensko	Celkom
pozvaných do štúdie	626	480	730	1836
súhlasiacich	571	480	515	1566
vylúčených pre histológiu	38	13	20	71
vylúčených pre iné dôvody (úmrtie, presťahovanie)	2	0	5	7
zaradených do databázy pre analýzy	531	467	490	1488

Na štúdiu sa spolu zúčastnilo 1488 respondentov, z ktorých 948 boli prípadmi rakoviny (625 kože, 214 močového mechúra, 109 obličiek) a 540 boli nemocničnými kontrolami. Rozdelenie prípadov rakoviny a kontrol v troch krajinách je uvedené v tabuľke č. 12.

Tabuľka č. 12 Prípady a kontroly zúčastnené na štúdiu ASHRAM

	Maďarsko		Rumunsko		Slovensko		Celkom	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Rakovina kože spolu	177	28.3	218	34.9	230	36.8	625	100.0
Bazocelulárny ca kože	160	30.2	158	29.9	211	39.9	529	100.0
Ostatné ca kože	17	17.7	60	62.5	19	19.8	96	100.0
Rakovina močového mechúra	72	33.6	69	32.2	73	34.1	214	100.0
Rakovina obličiek	33	30.3	24	22.0	52	47.7	109	100.0
Kontroly	249	46.1	156	28.9	135	25.0	540	100.0
Celkom	531		467		490		1488	100.0

## 3.2 MERANIA ARZÉNU VO VODE

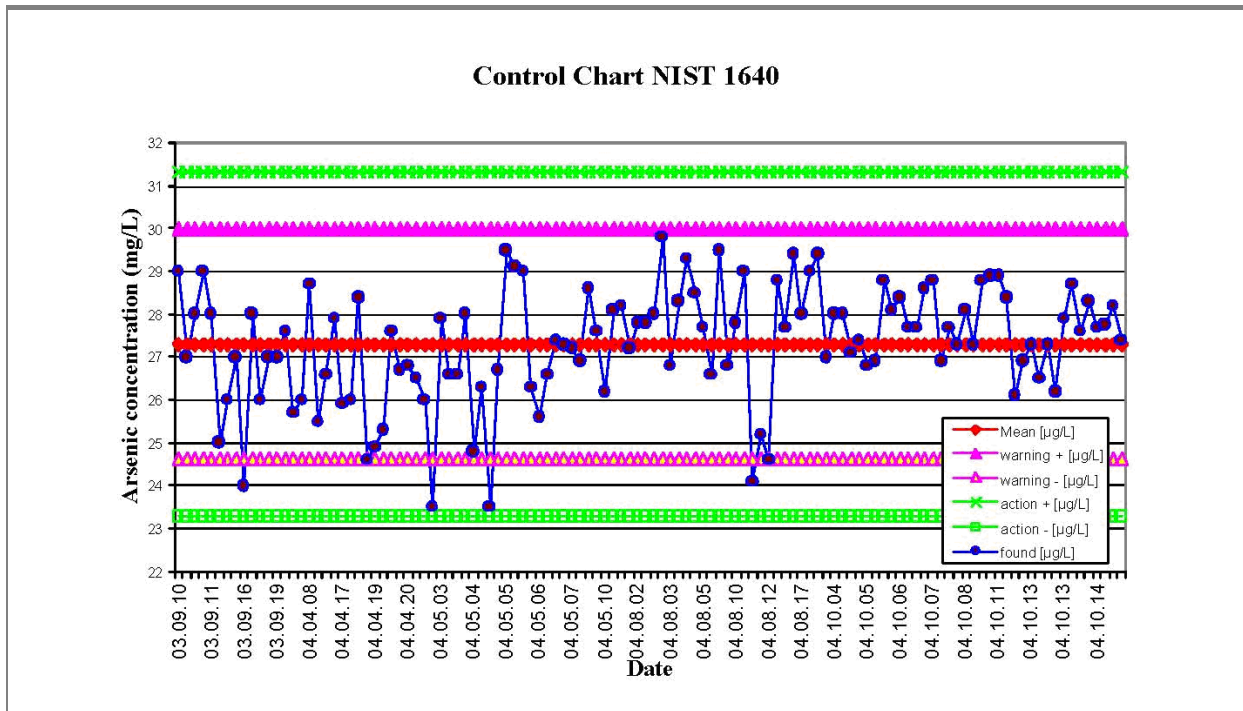
### 3.2.1 KONCENTRÁCIE ARZÉNU VO VZORKÁCH VODY

Spolu bolo analyzovaných 1461 vzoriek vody, s nasledujúcim rozdelením: 521 z Maďarska, 456 z Rumunska a 484 zo Slovenska. Výsledky analýz boli hlásené na LSHTM a KFUG do 4 týždňov od príjmu dávky vzoriek vo formáte súboru pre Microsoft Excel. Tento súbor obsahoval výsledky a grafy kontroly kvality pre analyzovanú dávku, a tiež ďalšie údaje: dátum a čas analýzy, meno laboratórneho pracovníka a zmeny štandardnej procedúry.

Graf kontroly kvality pre vzorky vody, kde bol použitý NIST 1640 certifikovaný štandardný referenčný materiál, je uvedený nižšie.

Graf č. 4

## Kontrola kvality pre vzorky vody



Vo všeobecnosti sú koncentrácie arzénu vo vode používanej v súčasnosti s mediánom 1 µg/l nízke. Okolo 10% vzoriek malo koncentrácie vyššie ako doporučená hodnota SZO 10 µg/l. Najvyššie koncentrácie boli zistené v Maďarsku, medián koncentrácie arzénu vo vode bol 19 krát vyšší ako v Rumunsku a 17 krát vyšší ako na Slovensku (tabuľky č. 13, 14 a 15).

Tabuľka č. 13 Koncentrácie arzénu vo vode v Maďarsku

	Maďarsko	Bacs	Békes	Csongrad	Jasz-Nagykun-Szolnok
<b>Mean</b>	<b>14.7</b>	10.9	17.4	23.5	14.2
<b>Median</b>	<b>13.3</b>	7.7	17.0	19.0	15.7
<b>10th perc.</b>	<b>1.0</b>	0.9	7.0	6.4	0.8
<b>90th perc.</b>	<b>30.1</b>	26.2	27.0	39.0	26.0
<b>N</b>	<b>521</b>	257	54	100	110

Tabuľka č. 14 Koncentrácie arzénu vo vode v Rumunsku

	Rumunsko	Bihor	Arad
<b>Mean</b>	<b>3.8</b>	2.3	4.7
<b>Median</b>	<b>0.7</b>	0.5	0.7
<b>10th perc.</b>	<b>0.4</b>	0.4	0.4
<b>90th perc.</b>	<b>5.8</b>	4.0	5.9
<b>N</b>	<b>456</b>	163	293



Tabuľka č. 15

Koncentrácie arzénu vo vode na Slovensku

	Slovensko	Banská Bystrica	Nitra
Mean	<b>1.9</b>	2.0	1.9
Median	<b>0.8</b>	0.7	0.9
10th perc.	<b>0.5</b>	0.5	0.6
90th perc.	<b>2.4</b>	2.4	3.1
N	<b>484</b>	221	263

### 3.3 MERANIA ARZÉNU V MOČI

#### 3.3.1 KONCENTRÁCIE ARZÉNU VO VZORKÁCH MOČU

Vo všeobecnosti, koncentrácie arzénu v moči (celkové metabolity arzénu, celkový As) boli v štúdiu ASHRAM nízke – vo väčšine prípadov nižšie ako 30 µg/l (štandardizované na mernú hmotnosť 1.017 g/ml). Najvyššia expozícia, podľa odhadov koncentrácie arzénu v moči, bola zistená v Maďarsku, kde bol medián koncentrácií 3.5 krát vyšší ako na Slovensku a 5.5 krát vyšší ako v Rumunsku (tabuľky č. 16, 17 a 18).

Tabuľka č. 16

Koncentrácie anorganického arzénu a jeho metabolitov v moči v Maďarsku

		Maďarsko	Bacs	Békés	Csongrad	Jasz-Nagykun-Szolnok
<b>DMA adj.</b> [µg/l]	Mean	<b>14.9</b>	13.5	18.2	21.4	10.7
	Median	<b>10.9</b>	10.2	12.5	17.4	7.8
	10th perc.	<b>3.2</b>	2.8	5.9	5.4	2.8
	90th perc.	<b>32.3</b>	29.0	41.5	42.5	19.9
	N	<b>512</b>	254	54	98	106
<b>MA(V) adj.</b> [µg/l]	Mean	<b>3.8</b>	3.3	4.5	5.6	2.8
	Median	<b>2.3</b>	2.0	3.1	3.7	1.9
	10th perc..	<b>0.7</b>	0.5	1.3	1.5	0.7
	90th perc	<b>8.0</b>	7.3	9.1	12.7	5.0
	N	<b>512</b>	254	54	98	106
<b>iAs adj.</b> [µg/l]	Mean	<b>2.2</b>	1.7	2.3	4.2	1.5
	Median	<b>1.3</b>	1.1	1.4	2.8	1.1
	10th perc	<b>0.2</b>	0.1	0.5	0.7	0.2
	90th perc.	<b>4.8</b>	4.3	5.5	7.3	2.9
	N	<b>512</b>	254	54	98	106
<b>Sum As adj.</b> [µg/l]	Mean	<b>20.9</b>	18.5	25.1	31.3	14.9
	Median	<b>15.3</b>	13.9	17.4	24.9	11.2
	10th perc	<b>4.6</b>	3.9	8.6	8.8	4.0
	90th perc.	<b>45.6</b>	38.7	50.4	57.0	28.5
	N	<b>512</b>	254	54	98	106

Tabuľka č. 17

## Koncentrácie anorganického arzénu a jeho metabolitov v moči v Rumunsku

		Rumunsko	Bihor	Arad
<b>DMA adj. [<math>\mu\text{g}/\text{l}</math>]</b>	Mean	<b>4.7</b>	4.5	4.7
	Median	<b>2.0</b>	2.3	1.9
	10th perc.	<b>0.9</b>	0.8	1.0
	90th perc.	<b>8.3</b>	8.3	7.7
	N	<b>460</b>	163	297
<b>MA(V) adj. [<math>\mu\text{g}/\text{l}</math>]</b>	Mean	<b>0.9</b>	0.8	1.0
	Median	<b>0.4</b>	0.4	0.4
	10th perc.	<b>0.0</b>	0.0	0.0
	90th perc.	<b>1.8</b>	1.8	1.6
	N	<b>460</b>	163	297
<b>iAs adj. [<math>\mu\text{g}/\text{l}</math>]</b>	Mean	<b>0.5</b>	0.4	0.6
	Median	<b>0.2</b>	0.2	0.2
	10th perc.	<b>0.0</b>	0.0	0.0
	90th perc.	<b>1.0</b>	1.1	1.0
	N	<b>460</b>	163	297
<b>Sum As adj. [<math>\mu\text{g}/\text{l}</math>]</b>	Mean	<b>6.1</b>	5.7	6.3
	Median	<b>2.7</b>	3.0	2.6
	10th perc.	<b>1.1</b>	1.0	1.2
	90th perc.	<b>10.9</b>	11.4	10.9
	N	<b>460</b>	163	297

Tabuľka č. 18

## Koncentrácie anorganického arzénu a jeho metabolitov v moči na Slovensku

		Slovensko	Banská Bystrica	Nitra
<b>DMA adj. [<math>\mu\text{g}/\text{l}</math>]</b>	Mean	<b>5.0</b>	4.9	5.0
	Median	<b>3.4</b>	3.1	3.5
	10th perc.	<b>1.6</b>	1.4	1.6
	90th perc.	<b>9.0</b>	8.8	9.1
	N	<b>484</b>	223	261
<b>MA(V) adj. [<math>\mu\text{g}/\text{l}</math>]</b>	Mean	<b>0.9</b>	0.9	0.9
	Median	<b>0.6</b>	0.6	0.6
	10th perc.	<b>0.2</b>	0.1	0.2
	90th perc.	<b>1.8</b>	1.9	1.6
	N	<b>484</b>	223	261
<b>iAs adj. [<math>\mu\text{g}/\text{l}</math>]</b>	Mean	<b>0.4</b>	0.4	0.4
	Median	<b>0.2</b>	0.2	0.3
	10th perc.	<b>0.0</b>	0.0	0.0
	90th perc.	<b>0.9</b>	0.9	0.8
	N	<b>484</b>	223	261
<b>Sum As adj. [<math>\mu\text{g}/\text{l}</math>]</b>	Mean	<b>6.2</b>	6.1	6.3
	Median	<b>4.4</b>	4.3	4.6
	10th perc.	<b>1.9</b>	1.6	2.2
	90th perc.	<b>11.8</b>	11.5	11.8
	N	<b>484</b>	223	261

### 3.3.2 VÝSLEDKY ANALÝZ TRIVALENTNÝCH ORGANICKÝCH ZLÚČENÍN ARZÉNU

Tabuľka č. 19 Koncentrácie metabolitov arzénu u pacientov liečených  $As_2O_3$

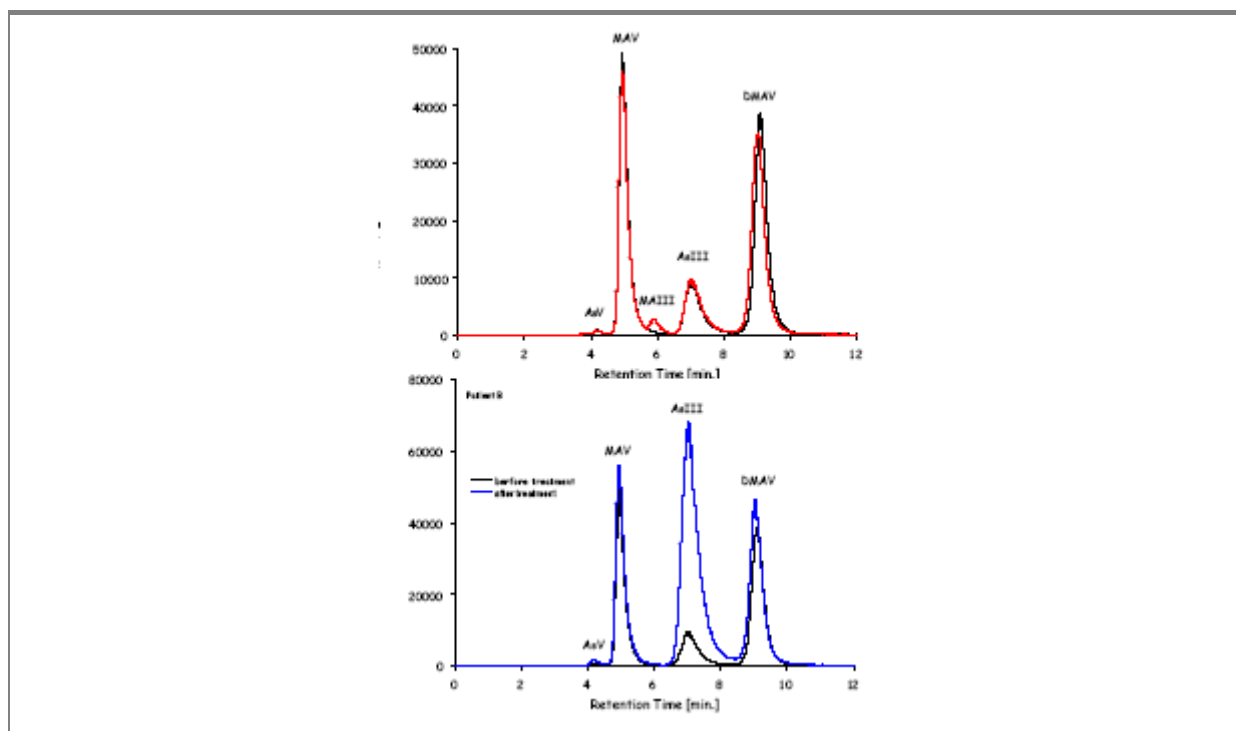
	Koncentrácia mg As/l							
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
As(III)	2.7	11	1.2	8.9	0.36	2.1	0.073	1.9
DMA	1.6	1.7	3.4	3.8	2.3	4.9	1.1	1.6
MA	0.41	0.35	3.0	3.1	1.6	3.3	0.21	0.33
As(V)	n.d.	0.36	0.034	0.12	0.028	0.048	n.d.	0.063
Sum	4.7	13.2	7.6	15.9	4.3	10.4	1.4	3.9

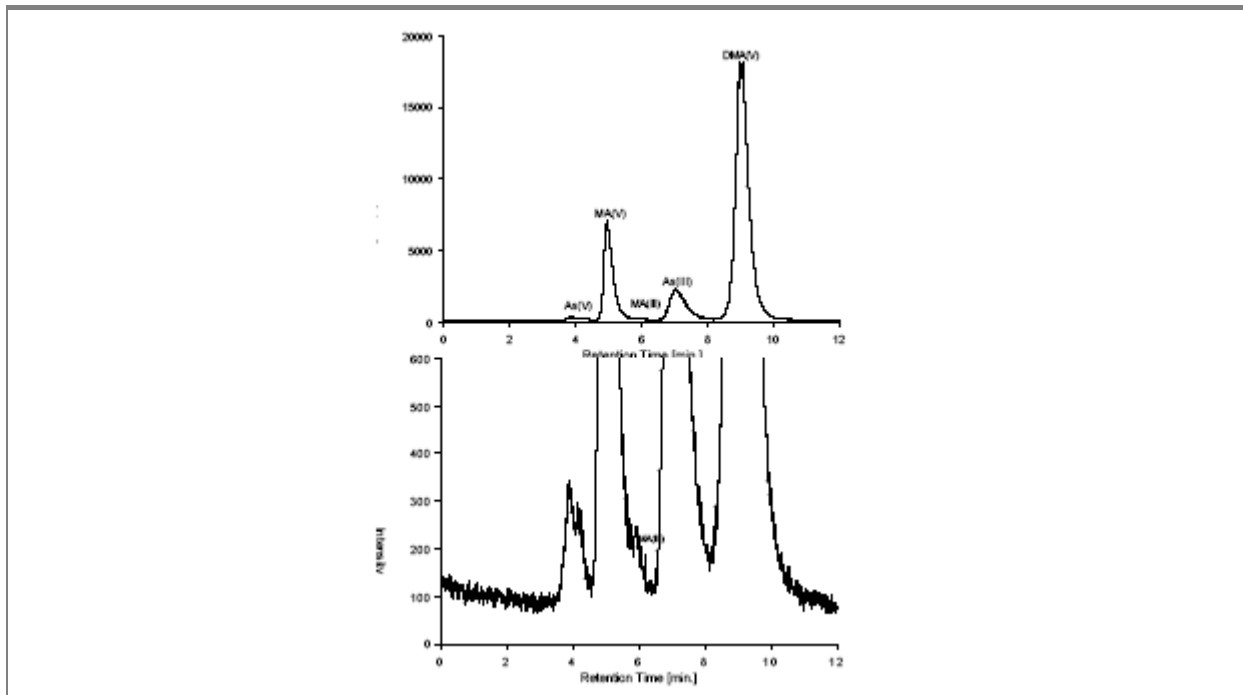
  

	Koncentrácia %							
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
As(III)	57	82	16	56	8	21	5	48
DMA	34	13	45	24	54	47	79	42
MA	9	3	39	20	37	32	15	8
As(V)	0	3	0	1	1	0	0	2

Vo všetkých vzorkách moču v tomto pokuse boli namerané nízke koncentrácie As(V), čo znamená že skladovanie v tekutom dusíku bolo úspešné. V týchto vzorkách moču nebola nameraná typická skladba koncentrácií t.j. 60-70% DMA, 10-20% MA a 10-30% anorganického arzénu (Vahter 2002), okrem pacienta D, ktorý podstúpil iba 3 týždne terapie. Všetci ostatní pacienti mali zvýšené koncentrácie As(III) alebo MA.

Graf č. 5 Vzorka moču pacienta B s prídavkom 10  $\mu$ g As/l ako MA(III)





Chromatografia bola optimalizovaná za účelom zistenia možných stôp MA(III) po analýze vysokých koncentrácií As(III) (graf č. 5).

MA(III) sa dal zistiť iba v moči pacienta A ako stopové koncentrácie (graf č.6). Koncentrácie boli veľmi nízke, takže nebolo možné ich správne kvantifikovať. Koncentrácie MA(III) sa dajú len odhadnúť, že sú menej ako 0.5% sumy zlúčenín hydridotvorného arzenu. Vo všetkých ostatných vzorkách moču MA(III) a DMA(III) boli pod detekčným limitom.

Koncentrácie MA(III) boli oveľa nižšie ako v publikovaných údajoch (napr. Valenzuela et al 2005). Koncentrácie arzenu vo vzorkách moču liečených pacientov sú porovnateľné, prípadne vyššie ako publikované koncentrácie arzenu v moči u ľudí exponovaných arzenu v pitnej vode v Rumunsku, vnútornej Mongolsku, Mexiku a Bangladéši. Napriek tomu sme neboli schopní namerať významné množstvá trivalentných organických zlúčenín, aj keď boli vzorky okamžite po odbere uložené v tekutom dusíku. Keďže laboratórne metódy použité v tejto štúdii boli na vynikajúcej úrovni ohľadne detekčných limitov a na chromatografickú detekciu boli použité dva nezávislé chromatografické systémy (na rozdiel od publikovaných údajov), museli sme urobiť tieto závery:

1. trivalentné organické zlúčeniny arzenu nie sú významnými metabolitmi v ľudskom moči
2. nestabilita MA(III) a zvlášť DMA(III) znamená ich nevhodnosť použitia ako markerov expozície arzenu v ľudskom moči
3. vylučovanie trivalentných organických zlúčenín arzenu má u ľudí veľkú variabilitu
4. publikované výsledky trivalentných organických zlúčenín sú diskutabilné

### 3.3.3 KATIÓNOVÉ ZLÚČENINY ARZÉNU A ARZÉNOČUKOR VO VZORKÁCH MOČU

Hoci hlavnou cestou vstupu arzenu do organizmu je voda, niektoré potraviny, ako napr. huby (Slejkovec et al., 1997), ryby (Sörös et al., 2005), mušle (Schmeisser et al., 2004), a morské živočíchy (Edmonds & Francesconi, 2003), môžu významne prispieť k tvorbe hydridotvorných foriem arzenu

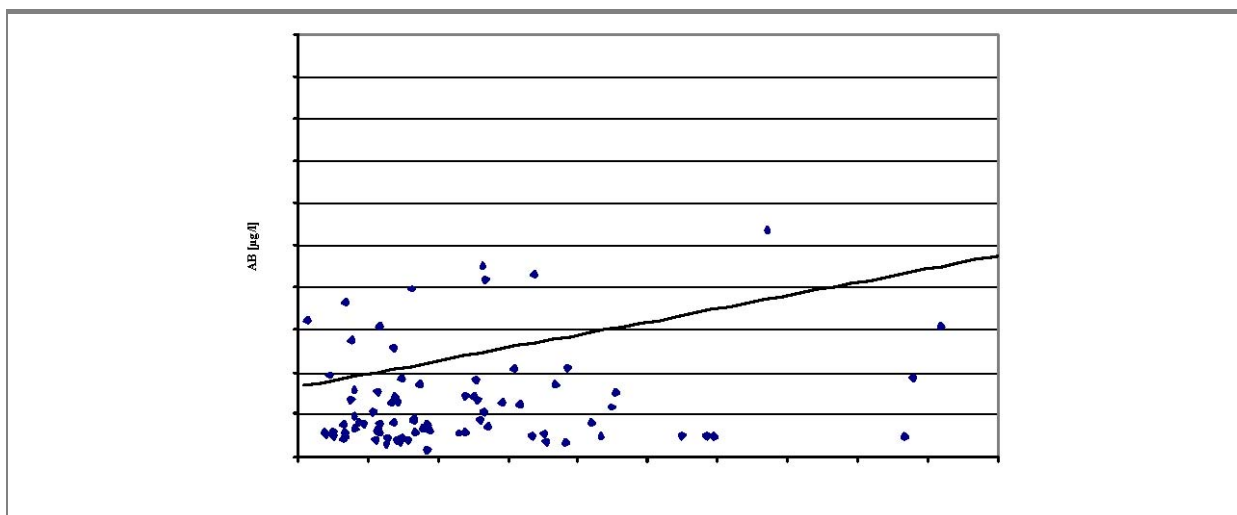
[As(III), DMA, MA, As(V)] vylučovaných v ľudskom moči. Preto sme v súbore 202 vzoriek močov analyzovali kationové zlúčeniny arzenu arzenobetain, trimetylarzán oxid, arzenocholín, tetrametylarzéniový kation a glycerol arzenocukor.

Zlúčeniny sa delili na kationovo-výmennej kolóne Zorbax LC-SCX s pyridínovým pufrom o pH 2.3 (upraveným kyselinou mravčou) ako mobilnou fázou. Po rozdelení na chromatografickej kolóne sa zlúčeniny stanovili pomocou ICP MS.

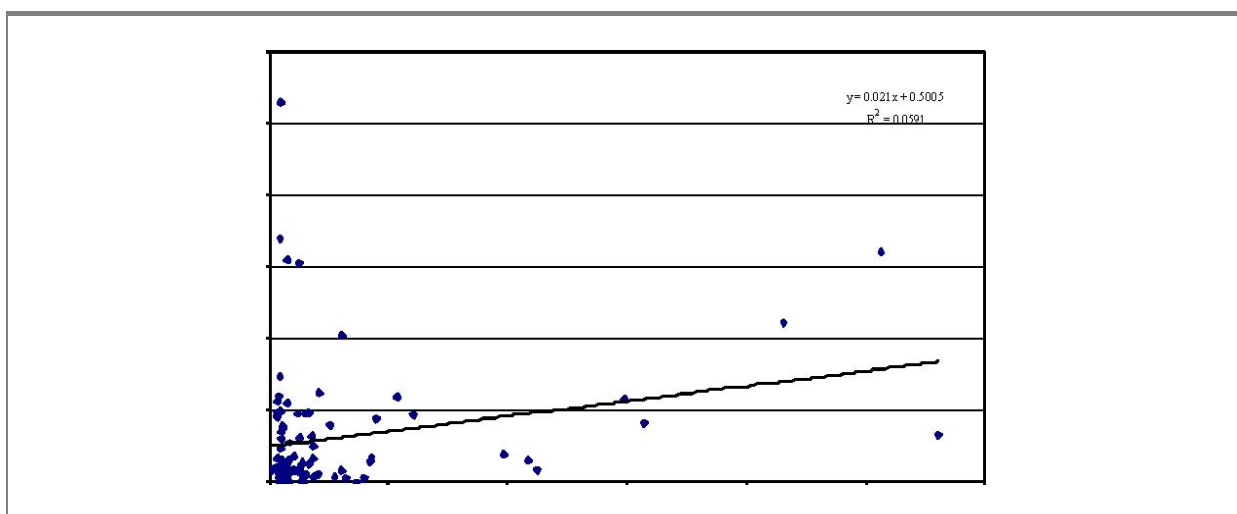
Hodnoty trimetylarzán oxidu a arzenocholínu boli stanovené pod limitom detekcie 0.5 µg As/l, tetrametylarzéniový kation bol detekovateľný len v jednej vzorke moču s koncentráciou 1.8 µg As/l, kde bol zistený aj najvyšší obsah arzenobetainu (59 µg As/l). Arzenobetain bol nameraný nad limitom detekcie 0.55 µg As/l v 89 prípadoch z 202 vzoriek (44%). Stredná hodnota arzenobetainu bola 5.5 µg As/l, hodnota mediánu bola 1.9 µg As/l.

Hydridotvorné špecie arzenu As(III), DMA, MA, As(V) nekorešponovali s koncentráciou arzenobetainu (grafy č. 7 a 8).

**Graf č. 7** Korelácia DMA oproti AB



**Graf č. 8** Korelácia AB oproti anorganickému arzenu



Z týchto výsledkov môžeme vysloviť záver, že vysoké koncentrácie arzénu v moči (vyše 10 µg As/l) nepochádzajú z konzumácie morských živočíchov, ale v dôsledku dodávky vody s vysokým obsahom arzénu.

Pri nízkych koncentráciách pochádza významná časť arzénu v moči z potravín, pretože pomer arzénu v pitnej vode voči arzénu v moči nie je 1:1.

### Arzénocukry

Arzénocukry sa v ASHRAM projekte analyzovali vo všetkých vzorkách metódou, ktorá bola vyvinutá počas štúdie (Schmeisser et al., Anal Chem. 2004). Arzénocukor nebol prítomný ani v jednej vzorke moču.

## 3.4 QA/QC PROGRAM

### 1. Kolo Robin skúšky, apríl 2002

Vzorky vôd: Vodovodná voda bola obohatená prídavkom arzénu na dvoch rozdielnych koncentračných úrovniach: 8.0 µg As/l (voda na hladine 1) a 60.0 µg As/l (voda na hladine 2). Vzorky sa analyzovali v laboratóriách SHI (Slovensko), EHC (Rumunsko), KI-IMM (Švédsko), NCPH (Maďarsko) a KFUG (Rakúsko).

Tabuľka č. 20 1. Kolo Robin: získané koncentrácie arzénu v dvoch rozdielnych vzorkách vôd

Krajina	Voda hladina 1	Voda hladina 2
EHC Rumunsko	2.53	21.53
KFUG Rakúsko	8.5 ± 0.02	61.5 ± 0.4
SHI Slovensko	7.62	39.6
KI-IMM Švédsko	8.0 ± 0.05	56 ± 2.3
NCPH Maďarsko	6.9	70

Celkový priemer získaných koncentrácií bol pre jednotlivé úrovne  $6.7 \pm 2.4$  µg As/l a  $49.7 \pm 19.3$  µg As/l. Podľa Dixonovho a Grubbsovho testovania odľahlých hodnôt je prijateľná len vzorka vody na hladine 1. Výsledky vo vode na hladine 1 z laboratórií EHC v Rumunsku a NCPH v Maďarsku boli vyhodnotené ako odľahlé hodnoty. Po vylúčení odľahlých hodnôt a prepočítaní strednej hodnoty a smerodajnej odchýlky pre vodu na hladine 1 výsledok  $8.0 \pm 0.41$  µg As/l sa veľmi dobre zhoduje s hodnotou testovacej vzorky 8.0 µg As/l. Výsledky vo vode na hladine 2 získané z EHC, SHI, a NCPH boli vyhodnotené ako odľahlé hodnoty.

Vzorky moču: moč na hladine 1 bol neobohatený moč. Hodnotu  $1.3 \pm 0.2$  µg As/l ako DMA bolo schopné stanoviť iba laboratórium KFUG. Všetky ostatné laboratóriá stanovili hodnotu DMA pod limitom detekcie metód (0.5 a 0.1 µg/L), a neboli schopné DMA zachytiť. Moč na hladine 2 bol obohatený prídavkom arzénu 4.8 µg As/l ako As(III), 4.8 µg As/l ako As(V), 8.0 µg As/l ako MA a 32.0 µg As/l ako DMA. Vzorky boli analyzované v laboratóriách SHI (Slovensko), KI-IMM (Švédsko) a KFUG (Rakúsko).

Tabuľka č. 21 1. Kolo Robin: získané koncentrácie arzénu v dvoch rozdielnych vzorkách moču

Krajina	Vzorka	Anorganický As	DMA [µg/L]	MA [µg/L]
KFUG Rakúsko	Moč hladina 1	N.D.	1.39 ± 0.2	N.D.
	Moč hladina 2	9.4 ± 0.9	35.2 ± 1.4	8.6 ± 1.1
SHI Slovensko	Moč hladina 1	N.D.	N.D.	N.D.
	Moč hladina 2	8.9	30.4	9
KI-IMM Švédsko	Moč hladina 1	N.D.	N.D.	N.D.
	Moč hladina 2	11 ± 0.4	30 ± 1.8	8.4 ± 0.9

Hore uvedené výsledky špecií arzénu neobohatenej vzorky moču neobsahujú hodnoty pre laboratória zo Slovenska a Švédska. Koncentrácie špecií arzénu vo vzorke moču na hladine 2 sa nachádzali v intervale prijateľných hodnôt z laboratórií na Slovensku, Švédsku a Rakúsku.

## 2. Kolo Robin skúšky, júl 2002

Vzorky vôd: Vodovodná voda bola obohatená prídavkom arzénu na dvoch rozdielnych koncentračných úrovniach: 12.0 µg As/l (voda na hladine 1) a 44.0 µg As/l (voda na hladine 2). Vzorky sa analyzovali v laboratóriách SHI (Slovensko), EHC (Rumunsko), KI-IMM (Švédsko), NCPH (Maďarsko), a KFUG (Rakúsko).

Tabuľka č. 22 2. Kolo Robin: získané koncentrácie arzénu v dvoch rozdielnych vzorkách vôd

Krajina	Voda hladina 1	Voda hladina 2
EHC Rumunsko	12.3 ± 1.1	43.9 ± 4.3
KFUG Rakúsko	11.6 ± 0.2	43.0 ± 0.4
SHI Slovensko	13.5	50.1
KI-IMM Švédsko	12.0 ± 0.6	44.0 ± 1.5
NCPH Maďarsko	11.1 ± 0.65	42.8 ± 0.58

Celkový priemer získaných koncentrácií bol pre jednotlivé vzorky 12.1 ± 0.9 µg As/l a 44.8 ± 3.0 µg As/l. Vo vode na hladine 1 dosiahli všetky laboratória výsledky v intervale ± 1 SD (smerodajná odchýlka). Nevyskytli sa žiadne odľahlé hodnoty. Ak sa do výpočtu medzilaboratórneho priemeru vzali všetky hodnoty vzorky, potom hodnota vody na hladine 2 zo Slovenska (včítane odľahlých) prekračovala interval ± 1 SD. Po vylúčení odľahlých hodnôt dosiahol medzilaboratórny priemer hodnotu 43.4 µg As/l (správna hodnota 44 µg/l).

Vzorky moču: Moč na hladine 1 bola obohatená prídavkom arzénu: 2.0 µg As/l ako As(V), 2.0 µg As/l ako As(III), 3.0 µg As/l ako MA, a 3.0 µg As/l ako DMA. Moč na hladine 2 bol obohatený prídavkom arzénu 5.0 µg As/l ako As(V), 6.0 µg As/l ako As(III), 10.0 µg As/l ako MA, a 36.0 µg As/l ako DMA. Vzorky sa analyzovali v laboratóriách SHI (Slovensko), KI-IMM (Švédsko), a KFUG (Rakúsko).

Tabuľka č. 23 2. Kolo Robin: získané koncentrácie arzénu v dvoch rozdielnych vzorkách moču

Krajina	Vzorka	Anorganický As	DMA [µg/l]	MA [µg/l]
KFUG Rakúsko	Moč hladina 1	4.6 ± 0.1	5.9 ± 0.1	3.9 ± 0.1
	Moč hladina 2	11.1 ± 0.3	39.2 ± 0.3	10.9 ± 0.1
SHI Slovensko	Moč hladina 1	5.4 ± 0.6	5.0 ± 0.7	4.1 ± 0.3
	Moč hladina 2	8.9 ± 0.5	1.7 ± 0.5	8.4 ± 0.3
KI-IMM Švédsko	Moč hladina 1	N.D.	N.D.	N.D.
	Moč hladina 2	13 ± 0.5	42.0 ± 1.2	10.0 ± 0.1

Výsledky moču na hladine 1 sú dostupné len z laboratórií KFUG a SHI. Švédsko výsledky pre špecie arzénu nezaslalo. Zistené hodnoty DMA boli vyššie ako pridané množstvo do moču. Rozdiel medzi pridanou a zistenou hodnotou DMA musí zodpovedať natívnemu obsahu DMA v moči, do ktorého bol prídavok v rámci Robin testu uskutočnený. Aj výsledky vo vzorke moču na hladine 2 zistené v laboratóriách v Švédsku a Rakúsku boli vyššie ako pridané množstvá arzénu. Výsledky z laboratória na Slovensku boli odľahlé pre všetky špecie arzénu na hladine 2. Ostatné dve laboratória dosiahli hodnoty, ktoré zodpovedali pridaným množstvám As do moču.

## 3. Kolo Robin skúšky, marec 2003

Vzorky vôd: Vodovodná voda bola obohatená prídavkom arzénu na dvoch rozdielnych koncentračných úrovniach: 16.0 µg As/l (voda na hladine 1) a 56.0 µg As/l (voda na hladine 2). Vzorky sa analyzovali v laboratóriách v SHI (Slovensko), EHC (Rumunsko), KI-IMM (Švédsko), NCPH (Maďarsko), a KFUG (Rakúsko).

Tabuľka č. 24

## 3. Kolo Robin: získané koncentrácie arzénu v dvoch rozdielnych vzorkách vôd

Krajina	Voda hladina 1	Voda hladina 2
<b>EHC Rumunsko</b>	11.19 ± 0.42	62.9 ± 2.312
<b>KFUG Rakúsko</b>	15.89 ± 0.4	54.9 ± 0.7
<b>SHI Slovensko</b>	15.69 ± 0.09	55.9 ± 0.56
<b>KI-IMM Švédsko</b>	13.09 ± 1.4	9 ± 1.4
<b>NCPH Maďarsko</b>	15.9 ± 0.42	57.69 ± 1.58

Celkový priemer získaných koncentrácií bol pre jednotlivé vzorky  $14.1 \pm 2.0 \mu\text{g As/l}$  a  $56.7 \pm 3.9 \mu\text{g As/l}$ . Dixonov a Grubbsov test nevylúčil žiadnu odľahlú hodnotu. Celkový priemer však nie je v intervale povolenej odchýlky 10%. Vo vzorke vody na hladine 2 bola hodnota z laboratória EHC vyhodnotená na hladine významnosti 95% ako odľahlá. Po jej vylúčení a prepočítaní sa celkový priemer  $55.1 \pm 1.9 \mu\text{g As/l}$  dobre zhodoval s koncentráciou arzénu  $56 \mu\text{g As/l}$  v testovacej vzorke.

Vzorky moču: Moč na hladine 1 bol obohatený prídavkom arzénu  $5.0 \mu\text{g As/l}$  ako As(III) a  $8.0 \mu\text{g As/l}$  ako DMA. Moč na hladine 2 bol obohatený prídavkom arzénu  $10.0 \mu\text{g As/l}$  ako As(III),  $12.0 \mu\text{g As/l}$  ako MA a  $30.0 \mu\text{g As/l}$  ako DMA. Vzorky sa analyzovali v laboratóriách SHI (Slovensko), KI-IMM (Švédsko) a KFUG (Rakúsko).

Tabuľka č. 25

## 3. Kolo Robin: získané koncentrácie arzénu v dvoch rozdielnych vzorkách moču

Krajina	Vzorka	Anorganický As	DMA [ $\mu\text{g/l}$ ]	MA [ $\mu\text{g/l}$ ]
<b>KFUG Rakúsko</b>	Moč hladina 1	5.2 ± 0.2	9.5 ± 0.4	0.11 ± 0.01
	Moč hladina 2	15.0 ± 0.3	29.9 ± 0.7	12.1 ± 0.2
<b>SHI Slovensko</b>	Moč hladina 1	6.6 ± 0.14	N.D.	Nedodané
	Moč hladina 2	35.7	24.1	10.5
<b>KI-IMM Švédsko</b>	Moč hladina 1	8 ± 1	8 ± 1	Nedodané
	Moč hladina 2	16 ± 3	28 ± 1	13 ± 3

V dôsledku technických problémov laboratórium SHI nedodalo správne hodnoty. Výsledky stanovené v laboratóriu v Švédsku a Rakúsku ležia v intervale prijateľných hodnôt aj napriek tomu, že získaný anorganický arzén bol vo vzorke moču na hladine 1 trochu vyššie. Na stretnutí PI v Falmouth bola dohodnutá zmena metódy SHI na separáciu metódou HPLC a detekciu pomocou HG AAS kvôli skvalitneniu výsledkov.

**4. Kolo Robin skúšky, október 2003**

Vzorky vôd: Vodovodná voda bola obohatená prídavkom arzénu na dvoch rozdielnych koncentračných úrovniach:  $21.0 \mu\text{g As/l}$  (voda na hladine 1) a  $84.0 \mu\text{g As/l}$  (voda na hladine 2). Vzorky sa analyzovali v laboratóriách v SHI (Slovensko), EHC (Rumunsko), KI-IMM (Švédsko), NCPH (Maďarsko), a KFUG (Rakúsko).

Tabuľka č. 26

## 4. Kolo Robin: získané koncentrácie arzénu v dvoch rozdielnych vzorkách vôd

Krajina	Voda hladina 1	Voda hladina 2
<b>EHC Rumunsko</b>	20.9 ± 0.731	90.9 ± 2.485
<b>KFUG Rakúsko</b>	21.4 ± 0.8	82.8 ± 2.9
<b>SHI Slovensko</b>	22.1 ± 0.76	84.4 ± 3.59
<b>KI-IMM Švédsko</b>	22.0 ± 0.6	90.0 ± 1.3
<b>NCPH Maďarsko</b>	21.3	85.2

Celkový priemer získaných koncentrácií bol pre jednotlivé vzorky  $21.5 \pm 0.5 \mu\text{g As/l}$  a  $86.7 \pm 3.7 \mu\text{g As/l}$ . Dixonov a Grubbsov test nevylúčil žiadnu odľahlú hodnotu ani na hladine 1 ani na hladine 2. Takisto celkový priemer dosiahnutých koncentrácií sa zhoduje s pridaným množstvom arzénu do vody.



Vzorky moču: Po stretnutí PI v Poiana Brasov bolo dohodnuté, že špecie arzénu budú vo všetkých vzorkách moču analyzované v laboratóriu KFUG, a to preto, lebo v prvej sérii vzoriek sa našli nízke koncentrácie arzénu.

Moč na hladine 1 bol obohatený prídavkom arzénu 5.0 µg As/l ako As(III) a 8.0 µg As/l ako DMA. Moč na hladine 2 bol obohatený prídavkom arzénu 10.0 µg As/l ako As(III), 12.0 µg As/l ako MA a 30.0 µg As/l ako DMA. Vzorky sa analyzovali v laboratóriách SHI (Slovensko), KI-IMM (Švédsko), a KFUG (Rakúsko). Metódy používané v laboratóriách KI-IMM a SHI nie sú postačujúce pre meranie takých nízkych koncentrácií. Na zabezpečenie kontroly kvality budú vzorky s vyššími koncentraciami špecií arzénu po analýze v KFUG (séria ~10%), analyzované aj v KI-IMM a SHI. Preto vzorky moču boli tentokrát obohatené vyššími koncentraciami arzénu. Moč na hladine 1 bol obohatený prídavkom arzénu 12.0 µg As/l ako As(V), 14.0 µg As/l ako As(III), 32.0 µg As/l ako MA, a 40.0 µg As/l ako DMA. Moč na hladine 2 bol obohatený prídavkom arzénu 18.0 µg As/l ako As(V), 20.0 µg As/l ako As(III), 40.0 µg As/l ako MA, a 70.0 µg As/l ako DMA. Vzorky sa analyzovali v laboratóriách SHI (Slovensko), KI-IMM (Švédsko), a KFUG (Rakúsko).

**Tabuľka č. 27 4. Kolo Rabin: získané koncentrácie arzénu v dvoch rozdielnych vzorkách moču**

Krajina	Vzorka	Anorganický As	DMA [µg/l]	MA [µg/l]
KFUG Rakúsko	Moč hladina 1	25.6 ± 1.5	39.5 ± 0.5	31.3 ± 0.6
	Moč hladina 2	35.6 ± 2.0	65.7 ± 0.6	37.2 ± 2.9
SHI Slovensko	Moč hladina 1	28.8	43.4 ± 5.8	28.0 ± 2.6
	Moč hladina 2	38	77.5 ± 3.4	38.5 ± 3.8
KI-IMM Švédsko	Moč hladina 1	22	34 ± 2	33 ± 2
	Moč hladina 2	33	56 ± 3	41 ± 4

Hodnoty anorganického arzénu získané z laboratórií KFUG a SHI vo vzorke moču na hladine 1 nezodpovedajú pridanému množstvu arzénu. Hodnota získaná v KI-IMM bola o 15% nižšia. V prípade DMA bola situácia podobná. Hodnoty KI-IMM boli opäť o 15% nižšie ako pridané množstvá arzénu. Hodnoty MA zodpovedali akceptovateľnému rozsahu. Podobná situácia nastala aj v prípade vzorky moču na hladine 2.

### 3.5 VZŤAH MEDZI ARZÉNOM VO VODE A V MOČI

#### **Koncentrácie arzénu vo vode a v moči a ich použitie v analýze expozície**

Pri hodnotení vzťahu medzi expozíciou arzénu a rizikom rakoviny bola celoživotná expozícia arzénu založená na koncentraciách v pitnej vode. Odhady expozície arzénu založené na koncentraciách arzénu vo vode boli kontrolované na kvalitu porovnaním koncentrácií arzénu vo vode používanej v súčasnosti s koncentraciami arzénu v moči, ktorá sa považuje za dobrý indikátor súčasnej expozície. Počas v tele po expozícii anorganickému arzénu je 3-4 dni (NRC 1999).

#### **Vzťah moč-voda**

Zistili sme štatisticky významnú koreláciu medzi arzénom v moči a arzénom vo vode používanej v súčasnosti (lineárna regresia:  $\ln SumAs = 0.9561 + 0.4262 \times \sqrt{curr\ water\ conc}$ ;  $R^2 = 0.48$ ,  $p < 0.001$ ). Priesečník osi y (kde je teoreticky koncentrácia vo vode 0 µg/l) bol 2.60 µg/l, čo naznačuje expozíciu z iných zdrojov, napr. potravinami. Túto hypotézu tiež podporovali vysoké koncentrácie arzénu v moči v porovnaní s vodou; pomer medzi mediánom arzénu v moči a mediánom arzénu vo vode bol 5.3. Obyčajne je tento pomer 1-2.

## 3.6 ROZDIELY V METABOLIZME ARZÉNU MEDZI ĽUĎMI

### *Metabolity anorganického arzénu v moči*

Celkovo, okolo 7% arzénu v moči bol anorganický arzén, 16% MA, a 77% DMA. V porovnaní s publikovanými výsledkami o populáciách exponovaných arzénom cestou pitnej vody (Vahter 2002), táto štúdia ukazuje nižšie percento anorganického arzénu a vyšší podiel DMA, čo bolo najmä z dôvodu príjmu DMA cestou potravín (viď nižšie).

### *Úrovne expozície*

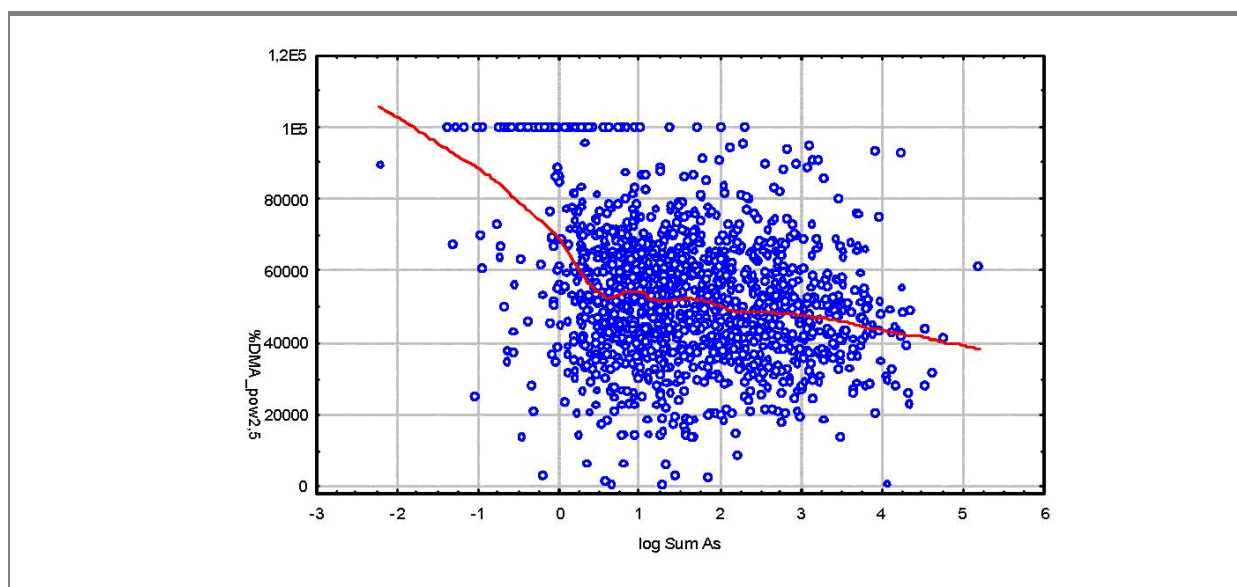
Rozdelenie pomerov metabolitov arzénu v moči bolo v jasnom vzťahu k úrovni expozície. %DMA štatisticky významne klesalo s dávkou. Je veľmi dobre známe, že akútna otrava arzénom znižuje pomer metylácie z dôvodu inhibície alebo saturácie enzýmov zapojených v metabolizme arzénu (reduktázy a metyltransferázy; GST?) (Csanaky et al., 2003). Niekoľko publikácií tiež ukázalo, že ľudia exponovaní vysokým koncentráciám arzénu v pitnej vode mali znížené percento DMA v moči a MA sa mierne zvyšovalo s rastúcou expozíciou (Hopenhayn-Rich et al., 1996; Del Razo et al., 1997; Goering et al., 1999). Avšak v týchto štúdiách boli oveľa vyššie koncentrácie ako v našej štúdii. V tejto štúdii sme zistili skupinu hodnôt so 100% DMA pri najnižších koncentráciách arzénu, pokles %DMA bol okolo 2 µg/l. Dôvodom môže byť vplyv príjmu DMA cestou potravín. Priesečník medzi sumárnym As zobrazeným oproti súčasným koncentráciám As vo vode bol 2.6 µg/l, čo naznačuje významný podiel arzénu z potravy pri nízkych úrovniach expozície. Predchádzajúce štúdie ukázali, že existuje expozícia DMA z potravy alebo arzénocukrom z potravy, ktoré sa metabolizujú na DMA v tele (Francesconi et al., 2002), čo by mohlo vysvetliť zvýšené percentá DMA pri nízkych rozsahoch koncentrácie.

Detekčné limity pre zlúčeniny arzénu pri použití HPLC-HG-ICPMS boli 0.1 µg As/l pre As(III), DMA a MA a 0.5 µg As/l pre arzenát. Keď predpokladáme DMA koncentrácie 0.5 µg As vo vzorke moču a normálne rozdelenie zlúčenín arzénu v moči 60-70% DMA, 10-20% MA a 10-30% anorganického arzénu, získali by sme nesprávnu predstavu o metylácii. DMA je v tejto koncentrácii nad detekčným limitom, ale ostatné zlúčeniny arzénu (As(III), MA(V) a As(V) by boli pod detekčným limitom použitej metódy. Toto by vždy viedlo k výsledku 100% DMA, čo sa dá vidieť iba pri niekoľko málo vzorkách.

Z dôvodu vplyvu potravín a analytickej presnosti pre percentá DMA pri nízkych koncentráciách sme sa rozhodli vyhodnotiť ďalšie faktory, ktoré majú vplyv na štruktúru metabolitov pri koncentráciách nad 2 µg/l, lebo pri týchto koncentráciách sme zistili menší vplyv potravín.

Graf č. 9

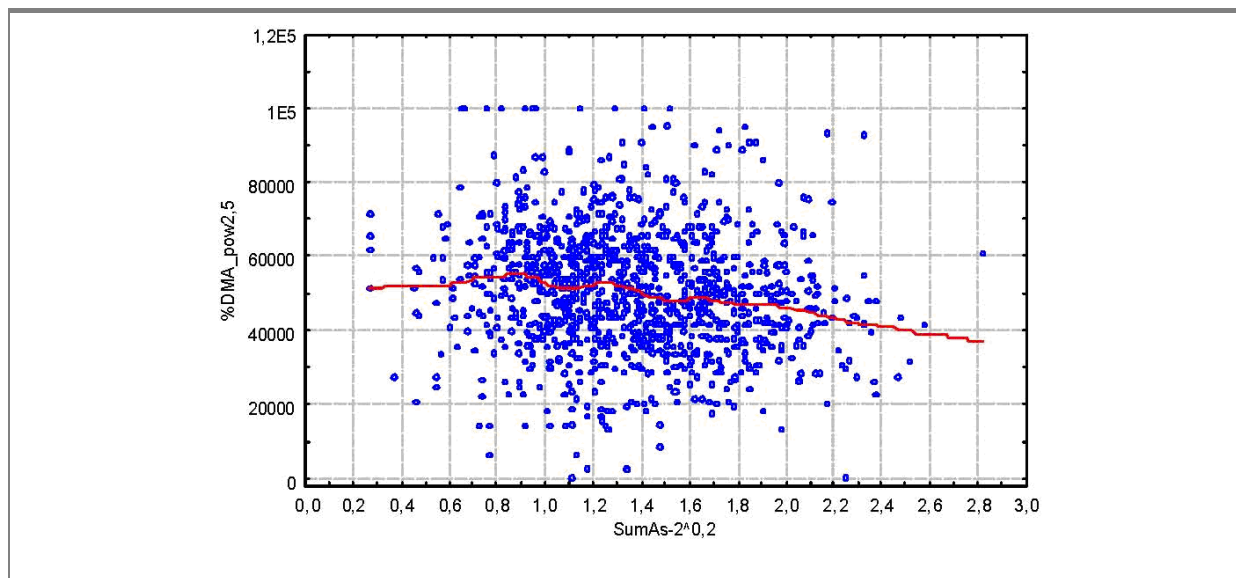
Vzťah medzi celkovým As a % DMA vo všetkých 1456 vzorkách



Preto sme použili všetky vzorky s koncentraciami celkového As nad 2 µg/l na ďalšie analýzy. Veľkosť súboru zostala 1168. Grafy č.9 a 10 ukazujú Lowessovu zhodu (lokálny regresný model, ktorý hľadá vzťah pre každý bod a body okolo na popis celkového vzťahu medzi premennými x a y) medzi celkovým As a %DMA pred a po vynechaní vzoriek s koncentraciami celkového As pod 2 µg/l.

Graf č. 10

Vzťah medzi celkovým As po odčítaní 2 µg/l a %DMA vo všetkých 1456 vzorkách



### ***Faktory ovplyvňujúce metabolizmus***

Údaje o expozícii a metabolitoch neboli normálne rozdelené. Preto sme použili Spearmanov test korelácie na testovanie jednorozmerných vzťahov medzi premennými. Relatívne množstvo DMA v moči, vyjadrené ako percento celkového arzenu v moči (%DMA) bolo korelované s geografickou oblasťou, rakovinou kože a močového mechúra, BMI a celkovým množstvom As v moči. Hraničné korelácie boli zistené medzi %DMA a selénom ( $p=0.09$ ) a polymorfizmom na exon 7 MTHFR géne ( $p=0.09$ ). Relatívne množstvo MMA (%MA) bolo korelované s krajinou, rakovinou kože, pohlavím, vekom, selénom a celkovým množstvom As v moči. Hraničné korelácie boli zistené medzi % anorganického As a polymorfizmom na exon 7 MTHFR géne ( $p=0.07$ ) a GSTO1 géne ( $p=0.09$ ).

Ďalej bola na testovanie vzťahov medzi premennými použitá mnohonásobná lineárna regresia s transformovanými premennými, aby boli splnené kritériá normálne rozdelených reziduálov. Výsledky modelovania pomocou mnohonásobnej lineárnej regresie sú prezentované v tabuľkách č.28, 29 a 30. Bolo identifikovaných 6 rôznych faktorov, ktoré majú vplyv na štruktúru metabolitov: pohlavie, diagnóza, BMI, vek, celkový As a selén. Výsledky tejto štúdie ukazujú na významný rozdiel medzi mužmi a ženami. V súlade s predchádzajúcimi štúdiami mali muži vyššie % anorganického As a %MA a nižšie %DMA ako ženy (Hopenhayn-Rich et al., 1996; Concha et al., 1998a). V protiklade s predchádzajúcimi štúdiami prípady rakoviny mali v tejto štúdii nižšie % anorganického As a %MA a vyššie %DMA, ako kontroly. Dalo by sa to vysvetliť zmenou zdroja vody po diagnostikovaní, pretože expozícia jasne ovplyvňovala štruktúru metabolitov arzenu v moči. Viacero predchádzajúcich štúdií zistilo, že stav výživy môže ovplyvniť metabolizmus aj toxicitu arzenu. Pri experimentoch na zvieratách mala redukovaná kapacita metylácie vyvolaná napr. nízkym príjmom proteínov, cholínu alebo metionínu za následok zníženú metyláciu arzenu a značný nárast tkanivovej retencie (Vahter a Marafante 1987). A navyše niekoľko štúdií ukázalo, že ľudia so zlou výživou sú viac citliví na toxicitu arzenu ako ostatní (Chen, C. J. et al., 1988; Hsueh et al., 1995; Guha Mazumder et al., 1998; Milton et al., 2004; Mitra et al., 2004). Aj keď BMI v tejto štúdii (priemer=26) nepoukazovalo na zlú výživu, so zvyšujúcim sa BMI bol zaznamenaný nárast %DMA a pokles %MA a % anorganického As. Neboli pozorované žiadne veľké zmeny metabolitov arzenu s vekom – iba mierny pokles % anorganického As s narastajúcim vekom, naznačujúci malý nárast efektivity metylácie s rastúcim vekom.

Tabuľka č. 28

Výsledky modelovania pre % anorganického As (adj.  $R^2=0.05$ ). Premenné ovplyvňujúce % anorganického As sú diagnóza, pohlavie, vek a BMI

BMI=26 (priemer) Vek=47 (10 percentil)			BMI=26 (priemer) Vek=65 (priemer)			BMI=26 (priemer) Vek=76 (90 percentil)		
% a. As	Muži	Ženy	% a.As	Muži	Ženy	% a.As	Muži	Ženy
Kontroly	11.0	9.1	Kontroly	9.7	8.0	Kontroly	9.0	7.5
M.mechúr	8.6	7.1	M.mechúr	7,6	6.3	M.mechúr	7.0	5.8
Koža	10.2	8.4	Koža	8.9	7.4	Koža	8.3	6.9
Obličky	7.8	6.4	Obličky	6.9	5.7	Obličky	6.4	5.3

Vek=65 (priemer) BMI=22 (10 percentile)			Vek=65 (priemer) BMI=26 (priemer)			Vek=65 (priemer) BMI=33 (90 percentile)		
% a.As	Muži	Ženy	% a.As	Muži	Ženy	% a.As	Muži	Ženy
Kontroly	10.1	8.4	Kontroly	9.7	8,0	Kontroly	9.1	7.5
M.mechúr	7.9	6.5	M.mechúr	7.6	6,3	M.mechúr	7.1	5.8
Koža	9.4	7.7	Koža	8.9	7,4	Koža	8.4	6.9
Obličky	7.1	5.9	Obličky	6.9	5.7	Obličky	6.4	5.3

Tabuľka č. 29

Výsledky modelovania pre % MA (adj.  $R^2=0.05$ ). Premenné ovplyvňujúce % MA sú diagnóza, pohlavie, BMI a celkový As.

Celkový As-2=12 (priemer) BMI=22 (10th percentile)			Celkový As-2=12 (priemer) BMI=26 (priemer)			Celkový As-2=12 (priemer) BMI=33 (90th percentile)		
%MA	Muži	Ženy	%MA	Muži	Ženy	%MA	Muži	Ženy
Kontroly	18.7	17.1	Kontroly	17.7	16.2	Kontroly	16.1	14.6
M.mechúr	16.9	15.4	M.mechúr	15.9	14.4	M.mechúr	14.3	12.8
Koža	17.5	16.0	Koža	16.6	15.1	Koža	14.9	13.5
Obličky	18.5	17.0	Obličky	17.6	16.1	Obličky	15.9	14.4

BMI=26 (priemer) Celk. As-2=1 (10th percentile)			BMI=26 (priemer) Celk. As-2=12 (priemer)			BMI=26 (priemer) Celk. As-2=30 (90th percentile)		
%MA	Muži	Ženy	%MA	Muži	Ženy	%MA	Muži	Ženy
Kontroly	17.4	15.9	Kontroly	17.7	16.2	Kontroly	18.2	16.7
M.mechúr	15.6	14.1	M.mechúr	15.9	14.4	M.mechúr	16.5	15.0
Koža	16.2	14.8	Koža	16.6	15.1	Koža	17.1	15.6
Obličky	17.2	15.7	Obličky	17.6	16.1	Obličky	18.1	16.6

Tabuľka č. 30

Výsledky modelovania pre % DMA (adj.  $R^2=0.06$ ). Premenné ovplyvňujúce % DMA sú diagnóza, pohlavie, BMI, celkový As a Selén.

Celkový As-2=12 (priemer) BMI=22 (10th percentile) Se=100 (priemer)			Celkový As-2=12 (priemer) BMI=26 (priemer) Se=100 (priemer)			celkovýAs-2=12 (priemer) BMI=33 (90th percentile) Se=100 (priemer)		
%DMA	Muži	Ženy	%DMA	Muži	Ženy	%DMA	Muži	Ženy
Kontroly	72.0	75.1	Kontroly	73.3	76.4	Kontroly	75.7	78.6
M.mechúr	75.6	78.5	M.mechúr	76.9	79.8	M.mechúr	79.1	81.9
Koža	73.9	76.9	Koža	75.2	78.2	Koža	77.5	80.3
Obličky	74.7	77.6	Obličky	76.0	78.9	Obličky	78.2	80.5

BMI=26 (priemer) Celkový As-2=1 (10th percentile) Se=100 (priemer)			BMI=26 (priemer) Celkový As-2=12 (priemer) Se=100 (priemer)			BMI=26 (priemer) Celkový As-2=30 (90th percentile) Se=100 (priemer)		
%DMA	Muži	Ženy	%DMA	Muži	Ženy	%DMA	Muži	Ženy
Kontroly	74.0	77.0	Kontroly	73.3	76.4	Kontroly	72.3	75.4
M.mechúr	77.5	80.3	M.mechúr	76.9	79.8	M.mechúr	75.9	78.9
Koža	75.8	78.7	Koža	75.2	78.2	Koža	74.2	77.2
Obličky	76.6	79.5	Obličky	76.0	78.9	Obličky	75.0	78.0

BMI=26 (priemer) Se=76 (10th percentile) Celkový As-2=12 (priemer)			BMI=26 (priemer) Se=100 (priemer) Celkový As-2=12 (priemer)			BMI=26 (priemer) Se=129 (90th percentile) Celkový As-2=12 (priemer)		
%DMA	Muži	Ženy	%DMA	Muži	Ženy	%DMA	Muži	Ženy
Kontroly	74.1	77.1	Kontroly	73.3	76.4	Kontroly	72.5	75.6
M.mechúr	77.6	80.4	M.mechúr	76.9	79.8	M.mechúr	76.1	79.0
Koža	75.9	78.8	Koža	75.2	78.2	Koža	74.4	77.4
Obličky	76.7	79.5	Obličky	76.0	78.9	Obličky	75.2	78.1

V tejto štúdií boli preskúmané aj dva gény, o ktorých sa predpokladá, že sa podieľajú na metabolizme arzénu. Predpokladá sa, že glutation S-transferáza omega 1 (GSTO1) je reduktázou pre MA(V) a metyléntetrahydrofolát (MTHFR) ovplyvňuje remetyláciu homocysteínu závislú na folátoch na metionín. Mutácia génu GSTO1 pravdepodobne znižuje % anorganického As, ale %MA a %DMA neboli významne ovplyvnené. Mutácie na exon 4 aj 7 MTHFR géne naraz mali vplyv na nárast %MA (nárast skoro 20%) a zodpovedajúci pokles %DMA. Pri mutácii len jedného z exonov nebol pozorovaný žiaden rozdiel.

## 3.7 INDIKÁTORY EXPOZÍCIE ARZÉNU

### 3.7.1 EXPOZÍCIA ARZÉNU V MIESTE BYDLISKA

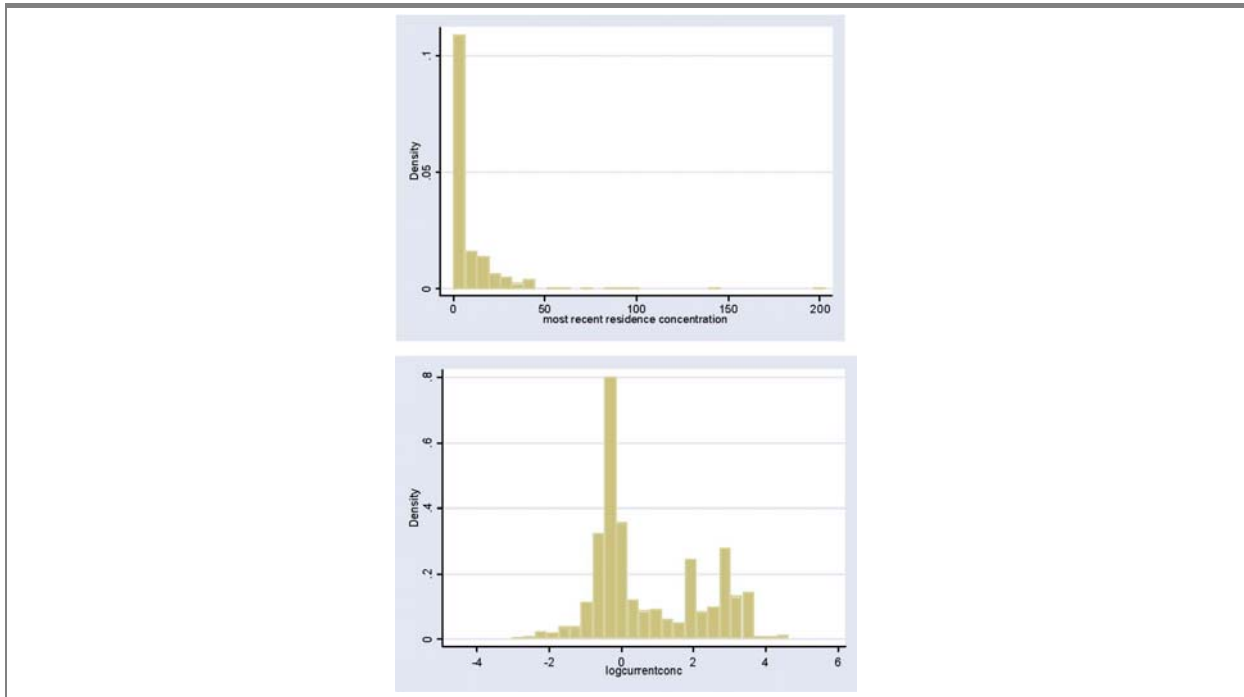
V tejto časti sú prezentované štyri z niekoľkých možných indikátorov pre expozíciu arzénu v pitnej vode (tabuľka č. 31 a grafy č. 11, 12, 13 a 14). Súčasná koncentrácia As má vzťah k súčasnému príjmu As a je to najlepší indikátor na štúdium vzťahov s koncentraciami As v moči, súčasný príjem As zodpovedá expozícii v predchádzajúcich hodinách a dňoch. Celoživotná priemerná koncentrácia As, kumulatívna dávka As a najvyššia denná dávka As reprezentujú veľkosť expozície vo vzťahu k rakovine, sú vhodné na štatistické analýzy rizika rakoviny.

**Tabuľka č. 31** Indikátory expozície arzénu z pitnej vody v mieste bydliska u účastníkov štúdie ASHRAM

Krajina	Počet	Sumárne štatistiky			
		Minimum	Maximum	Priemer (sd)	Medián
<b>Koncentrácia As v súčasnosti (mikrogramy/liter)</b>					
Maďarsko	524	0.10	143.0	14.61	13.26
Rumunsko	458	0.06	196.0	3.80	0.70
Slovensko	486	0.01	39.06	1.91	0.84
Spolu	1468	0.01	196.0	7.03	1.00
<b>Celoživotná priemerná koncentrácia As (mikrogramy/liter)</b>					
Maďarsko	528	0.11	167.29	26.83	18.03
Rumunsko	460	0.06	196.00	4.02	0.70
Slovensko	485	0.01	143.84	3.54	0.84
Spolu	1473	0.01	196.0	12.03	1.16
<b>Kumulatívna dávka As (gramy)</b>					
Maďarsko	517	0.02	47.22	7.35	4.69
Rumunsko	458	0.01	70.43	1.07	0.20
Slovensko	482	0.00	43.53	0.78	0.24
Spolu	1457	0.0004	7.04	0.32	0.036
<b>Najvyššia denná dávka As (mikrogramy/deň)</b>					
Maďarsko	524	0.20	242.14	43.78	27.35
Rumunsko	460	0.07	250.43	5.10	0.85
Slovensko	487	0.09	270.00	6.34	1.30
Spolu	1471	0.07	270.00	19.29	2.14

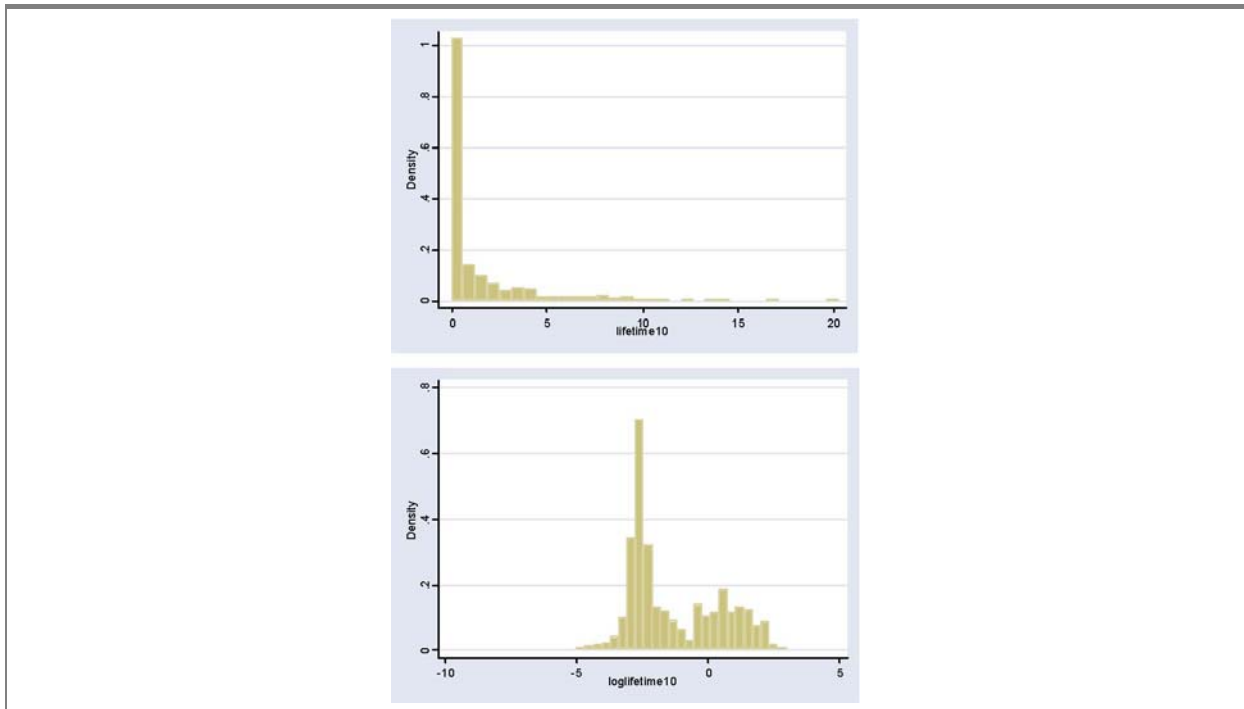
Graf č. 11

Rozdelenie súčasnej koncentrácie As (mikrogramy / liter). Horný obrázok – netransformované hodnoty, dolný obrázok – log-transformované hodnoty.



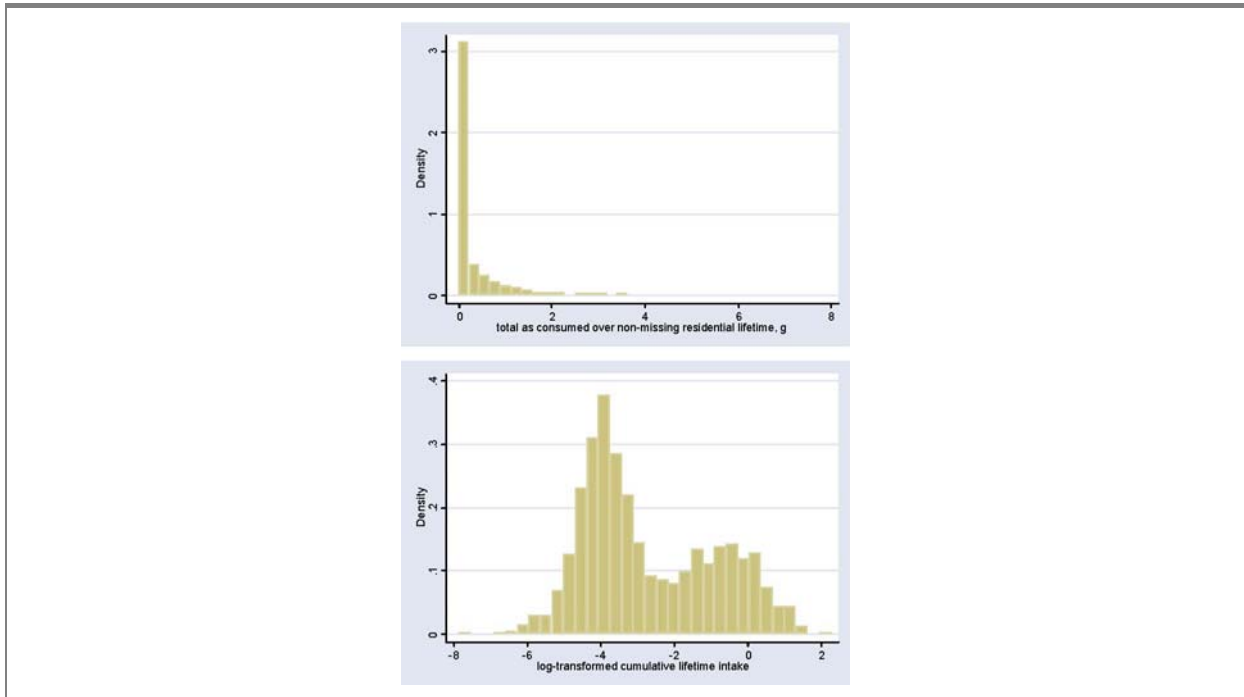
Graf č. 12

Rozdelenie celoživotnej priemernej koncentrácie As (10 mikrogramov/liter). Horný obrázok – netransformované hodnoty, dolný obrázok - log-transformované hodnoty.



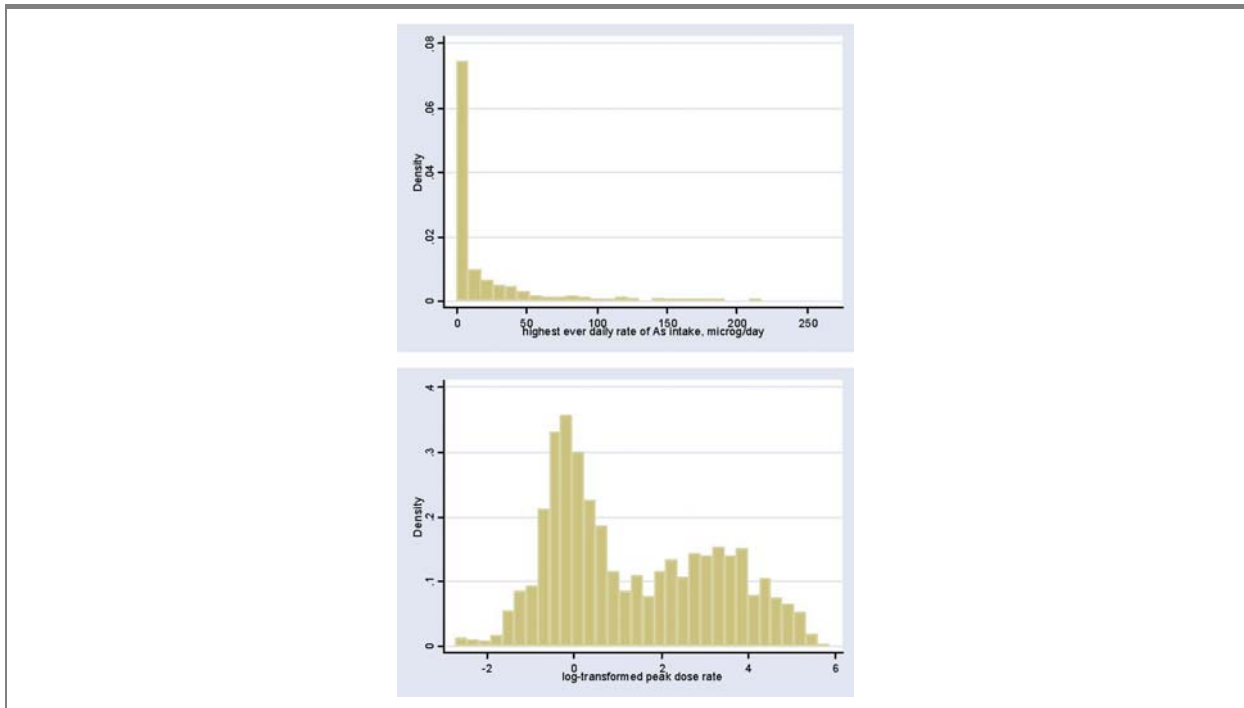
Graf č. 13

Rozdelenie kumulatívnej dávky As (gramy). Horný obrázok – netransformované hodnoty, dolný obrázok - log-transformované hodnoty.



Graf č. 14

Rozdelenie najvyšších dávky As (mikrogramy/deň). Horný obrázok – netransformované hodnoty, dolný obrázok - log-transformované hodnoty.



### 3.7.2 PRACOVNÁ EXPOZÍCIA ARZÉNU

Pre účastníkov štúdie ASHRAM bola vyhodnotená pracovná expozícia arzénu a iné rizikové faktory pre rakovinu kože, močového mechúra a obličiek metódou hodnotenia expertov na základe informácií z hlavného dotazníka. Zhoda expertov hodnotiacich expozíciu pre jednotlivé práce sa monitorovala počas workshopov v čase štúdie, a bola vyhodnotená ako adekvátne na poskytnutie porovnateľných informácií pre 3 študované krajiny. Vkladanie údajov o pracovnej expozícii sa oneskorilo z dôvodu potreby veľkých zdrojov na skompletizovanie a overovanie sledovaných indikátorov expozície z miesta bydliska. Preto prvé analýzy štúdie prípad-kontrola neobsahujú informácie o pracovnej expozícii.

### 3.7.3 EXPOZÍCIA ARZÉNU CESTOU POTRAVÍN

Celkové koncentrácie arzénu v potravinách zo Slovenska sú uvedené v nasledujúcich tabuľkách.

**Tabuľka č. 32**      **Obsah arzénu vo vybraných zložkách potravy**

	[ug As / kg]		[ug As / kg]		[ug As / kg]
Chlieb 1.1	3.7	Ryža 1.2	184	Mlieko 1.3	0.8
Chlieb 2.1	8.6	Ryža 2.2	48	Mlieko 2.3	0.5
Chlieb 3.1	9.7	Ryža 3.2	256	Mlieko 3.3	0.7
Chlieb 4.1	25.7	Ryža 4.2	130	Mlieko 4.3	0.5
Chlieb 5.1	29.1	Ryža 5.2	147	Mlieko 5.3	0.6
Chlieb 6.1	10.2	Ryža 6.2	183	Mlieko 6.3	0.6
Chlieb 7.1	8.5	Ryža 7.2	166	Mlieko 7.3	0.5
Chlieb 8.1	11.7	Ryža 8.2	199	Mlieko 8.3	0.6
Chlieb 9.1	6.6	Ryža 9.2	129	Mlieko 9.3	0.5
Chlieb 10.1	9.3	Ryža 10.2	179	Mlieko 10.3	0.7
Chlieb 11.1	8.6	Ryža 11.2	137	Mlieko 11.3	0.6
Chlieb 12.1	10.9	Ryža 12.2	141	Mlieko 12.3	0.4
Priemer	11.9	Priemer	158.3	Priemer	0.6
DEV	7.6	DEV	50.2	DEV	0.1

	[ug As / kg]		[ug As / kg]		[ug As / kg]
Bravčové 1.4	1.8	Kuracie 1.5	24.6	Kapusta 1.7	0.4
Bravčové 2.4	2.2	Kuracie 2.5	35.4	Kapusta 2.7	0.9
Bravčové 3.4	14.1	Kuracie 3.5	46.3	Kapusta 3.7	0.7
Bravčové 4.4	49.7	Kuracie 4.5	3.7	Kapusta 4.7	0.3
Bravčové 5.4	2.3	Kuracie 5.5	3.7	Kapusta 5.7	1.2
Bravčové 6.4	2.6	Kuracie 6.5	38.4	Kapusta 6.7	1
Bravčové 7.4	2.7	Kuracie 7.5	27.5	Kapusta 7.7	0.4
Bravčové 8.4	2.4	Kuracie 8.5	28.2	Kapusta 8.7	0.3
Bravčové 9.4	4.7	Kuracie 9.5	9.6	Kapusta 9.7	0.8
Bravčové 10.4	1.8	Kuracie 10.5	34.3	Kapusta 10.7	2.1
Bravčové 11.4	0.9	Kuracie 11.5	55.1	Kapusta 11.7	1.2
Bravčové 12.4	3.5	Kuracie 12.5	32.8	Kapusta 12.7	0.9
Priemer	7.4	Priemer	28.3	Priemer	0.9
DEV	13.8	DEV	16.0	DEV	0.5



	[ug As / kg]		[ug As / kg]
Zemiaky 1.6	24	Zemiaky šúpané 1.6	2.4
Zemiaky 2.6	16.3	Zemiaky šúpané 2.6	1.2
Zemiaky 3.6	48	Zemiaky šúpané 3.6	0.8
Zemiaky 4.6	27.3	Zemiaky šúpané 4.6	0.6
Zemiaky 5.6	26.5	Zemiaky šúpané 5.6	11.6
Zemiaky 6.6	97.9	Zemiaky šúpané 6.6	1.9
Zemiaky 7.6	21.4	Zemiaky šúpané 7.6	0.5
Zemiaky 8.6	30.8	Zemiaky šúpané 8.6	1.3
Zemiaky 9.6	32.9	Zemiaky šúpané 9.6	0.4
Zemiaky 10.6	27.6		
Zemiaky 11.6	8.1		
Zemiaky 12.6	35.7		
Mean	33.0	Mean	2.3
DEV	22.7	DEV	3.6

Podľa očakávania najvyššie celkové koncentrácie arzénu boli vo vzorkách ryže. Je veľmi dobre známe, že ryža akumuluje arzén (D'Amato et al., 2004; Heitkemper et al., 2001). Obsah zlúčenín arzénu v ryži môže byť veľmi variabilný. Heitkemper et al 2001 zistili, že anorganický arzén sa podieľa 11-91% na obsahu extrahovateľného arzénu a zvyšok je DMA. V štúdiu D'Amata et al., 2004 boli zistené podobné skutočnosti. Anorganický arzén dominoval, nasledovali DMA a malé množstvo MA. Ostatné skúmané potraviny obsahovali nízke koncentrácie arzénu, až na kuracie mäso. Tieto výsledky boli dosť prekvapivé. Možným vysvetlením je kŕmenie kurčiat krmivom obsahujúcim ryby. Preto sme analyzovali vzorky kuracieho mäsa na arzenobetain (AB), typický marker pre jedlá z rýb.

**Tabuľka č. 33 Arzenobetain vo vzorkách kuracieho mäsa.**

názov	AB [ug As / kg]	Celkový As [ug As / kg]	% AB z celkového As
<b>Kuracie 1.5</b>	25.2	24.6	103
<b>Kuracie 2.5</b>	35.4	35.4	99.8
<b>Kuracie 3.5</b>	42.7	46.3	92.1
<b>Kuracie 4.5</b>	<LOD	3.7	/
<b>Kuracie 5.5</b>	<LOD	3.7	/
<b>Kuracie 6.5</b>	33.1	38.4	86.3
<b>Kuracie 7.5</b>	25.8	27.5	93.8
<b>Kuracie 8.5</b>	26.0	28.2	92.2
<b>Kuracie 9.5</b>	4.8	9.6	49.7
<b>Kuracie 10.5</b>	29.2	34.3	85.2
<b>Kuracie 11.5</b>	59.9	55.1	109
<b>Kuracie 12.5</b>	33.3	32.8	102

Vo všetkých vzorkách kuracieho mäsa s celkovou koncentráciou nad 20 µg As/kg sa arzenobetain podieľal na viac ako 80% obsahu extrahovateľného arzénu. Tieto poznatky podporujú myšlienku, že pre kŕmenie kurčiat bolo použité krmivo obsahujúce ryby. Arzenobetain nevytvára hydrid a teda neprispieva k zlúčeninám arzénu, ktoré sa dajú zistiť vo vzorkách moču.

Arzén a jeho zlúčeniny vo vzorkách rýb z Maďarska: Ryby sa v Maďarsku konzumujú často. Nielen morské ryby akumuluje arzén a preto sme skúmali obsah arzénu a jeho zlúčenín vo vzorkách rýb zo študovanej oblasti štúdie ASHRAM, ako aj mimo študovanej oblasti (kontrolné vzorky). Zlúčeniny arzénu boli analyzované pomocou HPLC-ICPMS v metanolovom extrakte svalovej hmoty rýb.

Sumce (*Clarias gariepinus*) boli chované v geotermálnej vode, v ktorej bola priemerná koncentrácia celkového arzénu 161 µg As /l (kontaminované oblasti) a 15.1 µg As /l (kontrola); boli kŕmené umelým krmivom obsahujúcim 2880 µg As /kg celkového arzénu, väčšinou vo forme arzenobetainu. Aj v mäse sumcov sa akumulovaný celkový arzén (2370-5040 µg As/kg) nachádzal väčšinou vo forme arzenobetainu, čo by mohlo znamenať, že príjem arzénu u sumcov bol najmä potravou. Kapor (*Cyprinus carpio*) bol chovaný v povrchových jazerách s nízkym znečistením arzénom, celková

koncentrácia arzénu sa pohybovala v rozpätí 52.3-344 µg As /kg. Veľká časť tohto arzénu však nebola rozpustná v metanole, na rozdiel od vzoriek sumcov, kde sa dosiahla extrakcia veľkého množstva arzénu. Je veľmi pravdepodobné, že zlúčeniny arzénu vo vzorkách kapra sú zlúčeniny arzénu rozpustné v tukoch, o ktorých sa doteraz veľa nezistilo (Schmeisser et al., 2005). Formy arzénu vo vzorkách kapra sa značne líšili od foriem vo vzorkách sumca, najmä tým, že vo vzorkách kapra nebol nájdený žiaden arzenobetain. Väčšina vzoriek kapra v študovaných oblastiach obsahovala nízke koncentrácie As(III), As(V), MA, a DMA, žiadne iné zlúčeniny neboli detekované. Avšak všetky štyri vzorky z kontrolnej oblasti obsahovali väčšie množstvo arzenocukrov (arzenocukor fosfát). Táto forma arzénu dominovala u kaprov z kontrolnej oblasti, čo znamenalo okolo 80% z celkového arzénu. Ku kontrastu medzi týmito dvomi druhmi rýb žijúcimi v sladkej vode v obsahu celkového arzénu a vo formách arzénu patria aj zodpovedajúce toxikologické aspekty pre bezpečnosť potravín. Sumec, aj keď s vysokými koncentraciami celkového arzénu, neznamená žiadne účinky na zdravie ľudí, pretože skoro všetok arzén je vo forme neškodného arzenobetainu. Pre kapra sú koncentrácie celkového arzénu tak nízke, že aj keby všetok tento arzén bol v toxických formách, neznamenaloby to zdravotné riziko pre konzumentov týchto rýb.

### **Porovnanie príjmu arzénu z potravín v štúdiu ASHRAM a v iných štúdiách**

V tabuľke č. 34 je obsah arzénu v siedmich potravinách analyzovaných v tejto štúdiu porovnaný s obsahom arzénu v tých istých potravinách sledovaných v iných štúdiách: Slovenský monitorovací systém (Križová et al, 2001, 2002, 2004a 2004b, Šalgovičová et al., 2002a, 2002b, 2002c; Svetlíková et al., 2002), PHARE projekt, štúdia zdravotných účinkov znečistenia životného prostredia zo Slovenska z roku 1994 (Záverečná správa projektu PHARE, 1995) a štúdia spotrebného koša z USA (Schoof et al, 1999). Pre Slovenský monitorovací systém a projekt PHARE neboli k dispozícii kompletne informácie o zbere vzoriek a analytických metódach. Najvyššie koncentrácie arzénu boli namerané v ryži (158.3 µg/kg) a kuracom mäse (28.3 µg/kg), rovnako ako v ďalších štúdiách (Schoof, 1999; Tao et al., 1999; Dakeba et al., 1993), tieto dve potraviny sa dajú považovať za hlavných prispievateľov k príjmu arzénu. Zemiaky so šupkou majú vysoký obsah arzénu ako následok kontaktu s pôdou počas rastu, avšak šúpané zemiaky majú nízky obsah arzénu, ako publikovali Schoof a spolupracovníci (Schoof, 1999). Rôznorodosť koncentrácií arzénu v týchto údajoch sa dá priamo pripísať rôznym analytickým metódam, rôznym koncentraciám arzénu v pôde (geografická oblasť), na ktorej boli potraviny vypestované a tiež akumuláčnej kapacite potravín (Delgado-Andrade et al., 2003). Rozdiely vo výsledkoch môžu byť vďaka rozdielom v geografických oblastiach aj rozdielom v spôsobe zberu vzoriek a analytických metód.

**Tabuľka č. 34 Arzén v potravinách, porovnanie ASHRAM a iných zdrojov**

	<b>ASHRAM, projekt priemer(µg/kg)</b>	<b>Slovenský MS§ priemer(µg/kg)</b>	<b>PHARE projekt 1995&amp; priemer(µg/kg)</b>	<b>Schoof et al, 1999 # priemer(µg/kg)</b>
<b>Chlieb, tmavý</b>	11.9	20.31£	31£	-
<b>Kapusta</b>	0.9	7.92	- **	#
<b>Kuracie mäso</b>	28.3	10.47	17	86.4
<b>Mlieko, kravské</b>	0.6	10.16	26	2.6~ - 1.8^
<b>Bravčové mäso</b>	7.4	11.55	-*	13.5
<b>Zemiaky, so šupkou</b>	33.0	11.58	58	-
<b>Zemiaky, šúpané</b>	2.3	-	-	2.8
<b>Ryža</b>	158.3	34.43	35	303

§ Slovenský MS = monitorovací systém, Ministerstvo pôdohospodárstva SR 1993-2003 & projekt PHARE Štúdia zdravotných následkov znečistenia životného prostredia, SR, 1995

# Schoof et al, 1999: Štúdia spotrebného koša celkového As v potravinách.

£ Chlieb, nešpecifikovaný \*\* Čerstvá zelenina = 42 µg/kg #: Šalát = 1.4µg/kg a Špenát = 5.1µg/kg ~ Odtučnené mlieko ^ Plnotučné mlieko

\* Mäso, nešpecifikované = 42 µg/kg

## 3.8 VÝŽIVOVÉ ŠTÚDIE

Táto časť popisuje prácu, ktorá sa uskutočnila za účelom vytvoriť databázu údajov o príjme živín, ktoré pravdepodobne modifikujú účinok arzénu pri rozvoji rakoviny ako aj za účelom vývoja metodológie pre tvorbu takejto databázy. Prvá časť popisuje deskriptívne výsledky z FFQ (frekvenčných potravinových dotazníkov), druhá časť sa týka validácie a opakovateľnosti štúdií, tretia časť tvorby databázy údajov o príjme živín účastníkmi štúdie ASHRAM, štvrtá časť popisuje deskriptívne výsledky z analýz selénu.

### 3.8.1 VÝŽIVOVÝ STAV ÚČASŤNÍKOV ŠTÚDIE

V tabuľke č. 35 je prehľad priemerného body mass indexu (BMI) účastníkov tejto štúdie, vypočítaného podľa vzorca hmotnosť v kg/výška v m<sup>2</sup>. Hmotnosť a výška boli merané počas vyplňania dotazníkov pri rozhovore s účastníkmi štúdie, počas ktorého referovali o období 2 rokov pred diagnostikovaním nádorového ochorenia (prípady) alebo pred hospitalizáciou v nemocnici (kontroly). BMI je 26.79 (medián je 26.44 – údaj nie je v tabuľke), poukazuje, že naša populácia je nad hornou hranicou normy hmotnosti (BMI 18.5-24.9). V tabuľke č.36 boli respondenti rozdelení do troch skupín podľa BMI. Číslo podváhy definované BMI < 18.5 je veľmi nízke, iba 0.6%, kým nadváha/obezita definovaná BMI > 25 bola u účastníkov štúdie vysoká 63.1% z celkovej populácie. Muži boli zastúpení vo vyššom percente ako ženy: muži 64.2% a ženy 61.9%. Prípady reprezentovali mierne nižšie BMI (62.9) ako kontroly (63.5).

**Tabuľka č. 35** Priemer, SD, minimum, maximum BMI u všetkých účastníkov podľa pohlavia a podľa rozdelenia na prípady a kontroly

	N. (%)	BMI			
		Priemer	SD	Min	Max
<b>Spolu</b>	1462	26.79	4.22	17.30	42.91
<b>Muži</b>	798 (54.6)	26.78	3.93	17.75	10.90
<b>Ženy</b>	664 (45.4)	26.80	4.54	17.30	42.91
<b>Prípady</b>	931 (63.7)	26.68	4.06	17.30	42.91
<b>Kontroly</b>	531 (36.3)	26.98	4.48	17.58	41.59

# BMI = hmotnosť v kg/ výška v m<sup>2</sup>

**Tabuľka č. 36** Účastníci štúdie rozdelení do troch skupín podľa BMI, pohlavia a zaradenia medzi prípady alebo kontroly

BMI	Celkom		Muži		Ženy	
	N	%	N	%	N	%
<18.49	9	0.6	4	0.5	5	0.8
18.5 – 24.99	530	63.3	282	35.3	248	37.3
>25	923	63.1	512	64.2	411	61.9
<b>Celkom</b>	1462	100.0	798	100.0	664	100.0

Prípady	Celkom		Muži		Ženy	
	N	%	N	%	N	%
<18.49	4.0	4	2	0.4	2	0.5
18.5 – 24.99	341	36.6	184	35.1	157	38.7
>25	586	62.9	339	64.6	247	60.8
<b>Celkom</b>	931	100.0	525	100.0	406	100.0

Kontroly	Celkom		Muži		Ženy	
	N	%	N	%	N	%
<18.49	5	0.9	2	0.7	3	1.1
18.5 – 24.99	189	35.6	98	35.9	91	35.3
>25	337	63.5	173	63.4	164	63.6
<b>Celkom</b>	531	100.0	273	100.0	258	100.0

Tabuľka č. 37

## Účastníci štúdie rozdelení do troch skupín podľa BMI, pohlavia a krajiny pôvodu

	Maďarsko		Rumunsko		Slovensko	
	Muži N. (%)	Ženy N. (%)	Muži N. (%)	Ženy N. (%)	Muži N. (%)	Ženy N. (%)
<18.49	0 (0)	3 (1.3)	2 (0.8)	2 (0.9)	2 (0.7)	0 (0)
18.5 – 24.99	91 (32.3)	86 (36.4)	104 (42.8)	98 (45.2)	87 (31.9)	64 (30.3)
>25	191 (67.7)	147 (62.3)	137 (56.4)	117 (53.9)	184 (67.4)	147 (69.7)
<b>Celkom</b>	<b>282 (100)</b>	<b>236 (100)</b>	<b>243 (100)</b>	<b>217 (100)</b>	<b>273 (100)</b>	<b>211 (100)</b>

V tabuľke č. 37 boli účastníci rozdelení do skupín podľa BMI, pohlavia a krajiny pôvodu. Rumunsko reprezentovalo najvyššie percento účastníkov s normálnou hmotnosťou: muži 42.8% a ženy 45.2%. BMI je vyššie u Maďarskej a Slovenskej skupiny účastníkov, osobitne žien 62.3% v Maďarsku a 69.7% na Slovensku, v porovnaní s publikovanými údajmi 49.1%, resp. 51% (Medzinárodná riadiaca skupina pre obezitu, 2005). Percento účastníkov s nízkou hmotnosťou je veľmi nízke vo všetkých troch krajinách.

### 3.8.2 VÝSLEDKY Z TVORBY METÓD: OPAKOVATEĽNOSŤ A VALIDÁCIA

80 respondentov (89%) vyplnilo dva FFQs (frekvenčné potravinové dotazníky) a 10 retrospektívny 24 hodinový jedálniček. Miera vylúčených bola nízka: 10 účastníkov (11%) nebolo schopných vyplniť oba dotazníky (FFQs) a poskytnúť rozhovor. Priemerný interval medzi 2 dotazníkmi bol 6 mesiacov.

### 3.8.3 VYTVORENIE VÝŽIVOVEJ DATABÁZY

Výživová databáza je kľúčovým bodom v interpretácii výživových epidemiologických štúdií, nakoľko odporujúce si výsledky a rozdielne nálezy môžu byť v dôsledku nedostatku alebo nepresnosti týchto údajov (Willett et al., 1998). Výživová databáza pre štúdiu ASHRAM bude vytvorená za účelom analyzovania hodnotenia príjmu z potravy prostredníctvom FFQ. Dostupné údaje o jednotlivých živinách tvoriacich potraviny budú zbierané v troch zúčastnených krajinách. V súčasnosti sa Odporúčané výživové dávky (Výskumný ústav potravinársky, 2002) používajú na výpočet zloženia stravy v zmysle celkového energetického obsahu, makroživín, mikronutrientov pre predošlé a súčasné stravovanie. Dostupné živiny budú skontrolované a chýbajúce hodnoty budú pokryté využitím údajov z iných zdrojov (Salvini et al., 1996).

### 3.8.4 STANOVENIE SE V KRVI

Keďže sa ukázalo, že selén ovplyvňuje metabolizmus a toxicitu arzénu (NRC 1999), obsah selénu v krvi bol vyšetřovaný v študovanej populácii.

Koncentrácie selénu neindikovali nízky obsah selénu a boli mierne vyššie v študovanej populácii štúdie ASHRAM, ako v Českej populácii (Batáriová et al., 2005). Priemerná hodnota koncentrácie selénu v krvi bola 100 µg/l v porovnaní k 82 µg/l v Českej populácii. Bol zistený slabý, ale významný vzťah medzi hodnotami selénu v plnej krvi a arzénom v moči (lineárna regresia:  $Sum As^{0.2} = 1.07 + 0.003 \cdot Se; R^2 = 0.02; p < 0.001$ ). Toto môže indikovať koexpozíciu arzénu a selénu.

## 3.9 VÝSLEDKY ŠTÚDIÍ PRÍPAD - KONTROLA

V prvej časti publikujeme vplyv arzénu na riziko rakoviny z modelov, kde sa považuje index expozície As za lineárny faktor. Výsledky boli vypočítané s rozsiahlym štandardizovaním na možné ovplyvňujúce faktory. V druhej časti prezentujeme vplyv arzénu z modelov, kde sa metabolity arzénu považujú za modifikátorov účinku.

### 3.9.1 VPLYV ARZÉNU AKO LINEÁRNEHO FAKTORA NA RIZIKO RAKOVINY

Vplyv arzénu na riziko rakoviny sme analyzovali pre tri indikátory expozície: celoživotná priemerná koncentrácia As, kumulatívna dávka As, a maximálna denná dávka As. Každý z nich bol považovaný za lineárny faktor. Výsledky modelov logistickej regresie vždy uvažovali, že krajina má pevný vplyv. Vplyv arzénu na BCC, rakovinu močového mechúra a kože bol najprv vypočítaný z modelov obsahujúcich iba vek a pohlavie ("hrubé" OR), a potom z modelov obsahujúcich ďalšie kľúčové ovplyvňujúce faktory. Pre BCC, bol typ pokožky najsilnejším prediktorom rizika rakoviny v porovnaní s prediktormi ako trvanie expozície slnečným lúčom, alebo tendenciou spáliť sa po expozícii slnečným lúčom. Preto bol typ pokožky zvolený za faktor reprezentujúci UV expozíciu pre túto populáciu, a bol zaradený do modelov na výpočet vplyvu arzénu na BCC. Pri rakovine močového mechúra bol najsilnejším prediktorom rizika kvantitatívny odhad počtu cigariet vyfajčených počas života, keď sa porovnával s ostatnými premennými popisujúcimi fajčenie. Preto bol celkový počet cigariet (ako kategorická premenná s dvomi hodnotami) vybraný ako faktor reprezentujúci expozíciu fajčeniu v tejto populácii a bol zaradený do modelov na výpočet vplyvu arzénu na riziko rakoviny močového mechúra. Pri rakovine obličiek bola ako potenciálne ovplyvňujúci faktor do modelov vybraná infekcia obličiek v anamnéze. Výsledky jednoduchých a štandardizovaných modelov sú prezentované v tabuľkách č. 38, 39 a 40.

**Tabuľka č. 38** Výsledky analýz metódou logistickej regresie o vplyve expozície arzénu na riziko rakoviny bazálnych buniek kože (BBC) v štúdiu ASHRAM

	OR hrubé	95% CI	OR kontrolované	95% CI
<b>Celoživotná priemerná koncentrácia As (10 mikrogramov/liter)</b>	1.17	1.08 – 1.27	1.16	1.07 – 1.26
<b>Kumulatívna dávka (gramy)</b>	1.44	1.09 – 1.91	1.42	1.07 – 1.88
<b>Najvyššia denná dávka As (mikrogramy/deň)</b>	1.0052	1.0007 – 1.0097	1.0046	1.0001 – 1.0092

Všetky tri indikátory expozície majú vzťah k riziku a sú štatisticky významné v oboch modeloch – jednoduchom aj s kontrolou na vplyv iných faktorov. Kontrola na typ pokožky mierne znižuje pozorovaný účinok As. Pre rakovinu močového mechúra nebol zistený vzťah pri As expozícii ako celoživotnej priemernej koncentrácii As, avšak bol zistený pri kumulatívnej dávke As, aj keď sa zoberie do úvahy fajčenie ako ďalší ovplyvňujúci faktor.

**Tabuľka č. 39** Výsledky logistickej regresie o vplyve expozície arzénu na riziko rakoviny močového mechúra v štúdiu ASHRAM

	OR hrubé	95% CI	OR kontrolované	95% CI
<b>Celoživotná priemerná koncentrácia As (10 mikrogramov/liter)</b>	1.01	0.90 – 1.12	1.05	0.94 – 1.17
<b>Kumulatívna dávka (gramy)</b>	1.39	0.98 - 1.99	1.49	1.03 - 2.15
<b>Najvyššia denná dávka As (mikrogramy/deň)</b>	1.0089	0.9989 - 1.0114	1.0052	0.9989 - 1.0114

Riziko rakoviny obličiek vo vzťahu k expozícii As je podobné ako pre BCC a rakovinu močového mechúra, aj keď štatisticky významný vzťah sme zistili iba pre expozíciu aproximovanú najvyššou dennou dávkou As.

Tabuľka č. 40

Výsledky logistickej regresie o vplyve expozície arzénu na riziko rakoviny obličiek v štúdiu ASHRAM

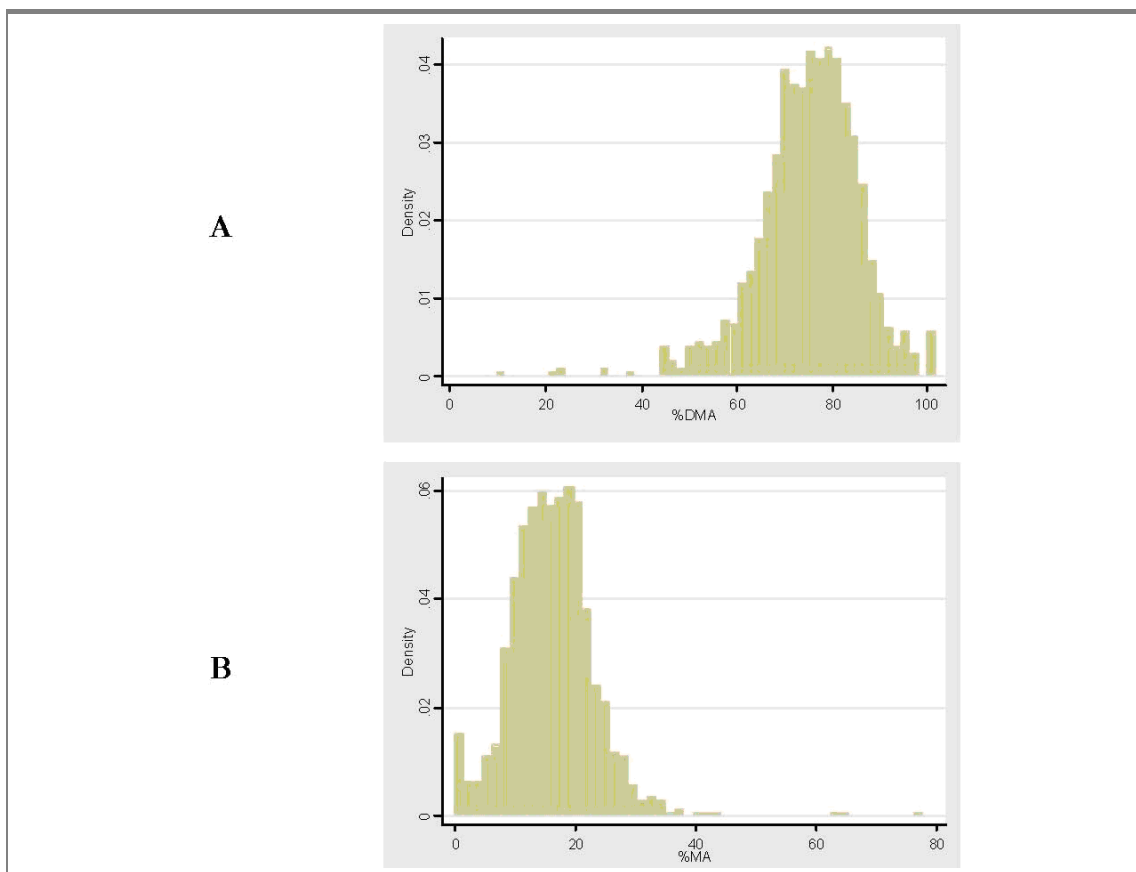
	OR hrubé	95% CI	OR kontrolované	95% CI
Celoživotná priemerná koncentrácia As (10 mikrogramov/liter)	1.07	0.96 – 1.20	1.08	0.96 – 1.21
Kumulatívna dávka (gramy)	1.55	0.98 - 2.45	2.73	0.92 - 8.09
Najvyššia denná dávka As (mikrogramy/deň)	1.0074	1.0011 - 1.0138	1.0071	1.0008 - 1.0136

### 3.9.2 VPLYV ARZÉNU NA RIZIKO RAKOVINY V DVOCH SKUPINÁCH PODĽA DMA A MMA

Cieľom 2 tohto projektu bolo "študovať vplyv rozdielov v metabolizme arzénu u ľudí na riziko rakoviny". Preto sme urobili analýzy so sledovaním vplyvu expozície arzénu pre dve skupiny podľa DMA% a MMA%: pod a nad hodnotou mediánu. Rozdelenie DMA % a MMA % je zobrazené na grafe č. 15 a popísané v tabuľke č. 41.

Graf č. 15

Rozdelenie percenta DMA (A) a percenta MA (B) pre účastníkov štúdie ASHRAM



Na zistenie vplyvu As pre každú úroveň metabolitu bola použitá logistická regresia a vypočítané OR a 95% konfidenčný interval pre rakovinu močového mechúra a obličiek. Navyše bolo vypočítané OR pre porovnanie účinku As v skupinách s vysokými vs nízkymi hodnotami metabolitu, so zodpovedajúcim 95% CI (ako OR interakcie medzi zodpovedajúcou úrovňou). Všetky analýzy kontrolujú na vplyv krajiny, veku, pohlavia a hlavného

ovplyvňujúceho faktora: typ pokožky pre BCC, fajčenie pre močový mechúr a infekciu obličiek pre obličky. Analýzy boli vykonané pre dva indikátory expozície As: (i) kumulatívna dávka (gramy počas celého života) a (ii) najvyššia denná dávka.

**Tabuľka č. 41** Rozsah koncentrácií DMA a MA, keď sa rozdelenie každého metabolitu podelí do dvoch skupín pod a nad hodnotu mediánu

Metabolit	Minimum DMA	Maximum DMA	Minimum MA	Maximum MA
Percento pod hodnotou mediánu	9.8	75.9	0	15.94
Percento nad hodnotou mediánu	76.0	100	15.95	76.2

Pre tieto dva indikátory expozície je vzťah veľmi podobný, je uvedený v tabuľkách č. 42 a 43. Štruktúra týchto vzťahov ide podľa očakávania: účinok As na riziko rakoviny je silnejší v skupine respondentov s nízkym DMA% alebo vysokým MMA%. Táto štruktúra je štatisticky významná pre BCC. Navyše, tie isté modely boli tiež použité pre analýzy s obmedzením na tých účastníkov štúdie, u ktorých bola suma As metabolitov väčšia ako 5.5 mikrogramov/l, ale výsledky sa významne nezmenili. Kontrola na účinok selénu tiež nezmenila účinok arzénu. V oboch prípadoch sa môžu bodové odhady účinku As ako aj príslušné konfidénčné intervaly interpretovať podobne ako v predchádzajúcich analýzach.

**Tabuľka č. 42** Vplyv celoživotnej expozície arzénu podľa úrovne metabolitov.

				ORss	95% CI	ORhl (95% CI)
<b>DMA</b>	<b>BCC</b>	DMA%	<76%	1.59	1.13 – 2.23	0.65 (0.41-1.04) p=0.070
			>=76%	1.04	0.70 – 1.54	
	<b>Močový mechúr</b>	DMA%	<76%	1.66	1.09 – 2.54	0.74 (0.37-1.48) p=0.397
			>=76%	1.23	0.66 – 2.29	
	<b>Obličky</b>	DMA%	<76%	1.52	0.82 – 2.84	0.92 (0.46-1.85) p=0.822
			>=76%	1.41	0.81 – 2.45	
<b>MMA</b>	<b>BCC</b>	MMA%	<16%	1.14	0.79 – 1.6	1.35 (0.86-2.10) p=0.191
			>=16%	1.53	1.08 – 2.17	
	<b>Močový mechúr</b>	MMA%	<16%	1.30	0.75 – 2.27	1.21 (0.64 -2. 30) p=0.563
			>=16%	1.58	1.02 – 2.44	
	<b>Obličky</b>	MMA%	<16%	1.45	0.81 – 2.59	1.06 (0.5 3-2.14) p=0.587
			>=16%	1.54	0.85 – 2.80	

**Tabuľka č. 43** Vplyv najvyššej expozície arzénu podľa úrovne metabolitov.

				ORss	95% CI	ORhl (95% CI)
<b>DMA</b>	<b>BCC</b>	DMA%	<76%>=76%	1.59	1.13 – 2.23	0.65 (0.41-1.04) p=0.070
			>=76%	1.04	0.70 – 1.54	
	<b>Močový mechúr</b>	DMA%	<76%>=76%	1.66	1.09 – 2.54	0.74 (0.37-1.48) p=0.397
			>=76%	1.23	0.66 – 2.29	
	<b>Obličky</b>	DMA%	<76%>=76%	1.52	0.82 – 2.84	0.92 (0.46-1.85) p=0.822
			>=76%	1.41	0.81 – 2.45	
<b>MMA</b>	<b>BCC</b>	MMA%	<16%>=16%	1.14	0.79 – 1.6	1.35 (0.86-2.10) p=0.191
			>=16%	1.53	1.08 – 2.17	
	<b>Močový mechúr</b>	MMA%	<16%>=16%	1.30	0.75 – 2.27	1.21 (0.64 -2. 30) p=0.563
			>=16%	1.58	1.02 – 2.44	
	<b>Obličky</b>	MMA%	<16%>=16%	1.45	0.81 – 2.59	1.06 (0.5 3-2.14) p=0.587
			>=16%	1.54	0.85 – 2.80	

Tabuľka č. 42 udáva porovnanie účinku kumulatívnej dávky arzénu v gramoch pre dve skupiny DMA% a MMA%: pod a nad hodnotou mediánu. Stratum-špecifické OR (ORss) je

vypočítané pre lineárny účinok arzénu na riziko rakoviny, pre každú z dvoch skupín DMA% a MMA%. OR porovnávajúce účinok As v skupine s vyššími vs nižšími metabolitmi (ORhl) je uvedené v pravom stĺpci (interakcia medzi vyššou a nižšou skupinou).

Tabuľka č. 43 udáva porovnanie účinku najvyššej dennej dávky arzénu pre dve skupiny DMA% a MMA%: pod a nad hodnotou mediánu. Stratum-špecifické OR (ORss) je vypočítané pre lineárny účinok arzénu na riziko rakoviny, pre každú z dvoch skupín DMA% a MMA%. OR porovnávajúce účinok As v skupine s vyššími vs nižšími metabolitmi (ORhl) je uvedené v pravom stĺpci (interakcia medzi vyššou a nižšou skupinou).

## 3.10 RELEVANTNOSŤ VÝSLEDKOV PRE ANALÝZU RIZIKA ARZÉNU

Analýza rizika pre arzén je ovplyvnená neistotami z dôvodu genetickej rôznorodosti, metabolickej rôznorodosti a rôznorodosti v stravovaní pre jednotlivcov aj populácie. Podľa výsledkov v štúdií ASHRAM, odhady rizika dostupné v súčasnosti sú správne (Smith, 1992). Na základe údajov získaných v tejto štúdií bude možné preskúmať rôzne aspekty odhadu rizika arzénu v ďalších analýzach s cieľom vylepšiť modely odhadu rizika.

## 3.11 ODHAD ZDRAVOTNEJ ZÁŤAŽE

### 3.11.1 ODHAD ZDRAVOTNEJ ZÁŤAŽE V MAĎARSKU

Na základe publikovanej analýzy pre riziko rakoviny z arzénu (Smith et al., 1992) sme vypočítali podiel rakoviny pripísateľný arzénu v študovanej oblasti Maďarska. V tejto oblasti žije populácia 1,580,156 v štyroch okresoch. Odhadli sme, že celkový počet úmrtí v tejto populácii (za rok) je 1519, a počet úmrtí pripísateľných arzénu (za rok) je 306. Toto číslo zodpovedá 20.2% (306/1519) podielu rakoviny močového mechúra, obličiek a pľúc pripísateľnému arzénu. Reprezentuje vysoký podiel zo všetkých rakovín v študovanej oblasti a malo by utvrdiť zainteresovanosť maďarského parlamentu a úsilie postihnutých oblastí v implementácii plánov pre ďalšiu redukciu expozície arzénu z pitnej vody.

### 3.11.2 EXPOZÍCIA ARZÉNU V EURÓPE

Aj v roku 2005 je ťažké v Európe kvantitatívne zrekonštruovať distribúciu arzénu vo vode, pretože medzi národnými a regionálnymi monitorovacími systémami existujú veľké rozdiely a na verejné použitie je k dispozícii len veľmi málo údajov. V tejto časti uvádzame kvantitatívne informácie o arzéne v pitnej vode v Európe.

Spojené kráľovstvo: V baníckych oblastiach Cornwall a Devon sa počas výroby dostáva do ovzdušia arzén vo forme častíc, potom sa ukladá v pôde a vode. Koncentrácia As v pôde poľí a súkromných záhrad môže byť nad 1000 µg /kg. Vo veľkej časti povrchových vôd Cornwallu sa obsah vodorozpustného arzénu pohybuje medzi 10 až 50 µg/l. Pri koncentráciách do 10 µg/l sa používa úprava vody kysličníkmi hliníka. Výroba arzenopyritu produkuje emisie kysličníkov arzénu; tieto sa ukladajú vo forme nerozpustných železitých zlúčenín As.

Francúzsko: Vo viacerých regiónoch obsahuje voda arzén v koncentráciách nad 10 µg/l. V oblasti Auvergne pije vodu obsahujúcu arzén v koncentráciách nad 10 µg/l viac ako 100,000 ľudí. V okresoch Allier a Puy-de-Dôme koncentrácie As majú rozsah 10-190 µg/l resp. 14-27 µg/l, exponované populácie sú približne 32,400 resp. 87,000.

Švajčiarsko: Sú tu tri oblasti so zvýšenými koncentraciami As z prírodných zdrojov: (i) kantóny v severo-východnej časti s termálnymi prameňmi bohatými na As; (ii) Jura, (iii) Alpy, s minerálnymi zdrojmi a kryštalickými horninami. Kúpeľné termálne pramene v Badene,



Zurzachu, Schinznachu a Bad Saeckingene môžu obsahovať nad 130 µg/l As. V kantóne Ticino sa monitoruje koncentrácia As v pitnej vode od roku 1996, v niekoľkých oblastiach sa používa voda s As nad 10 µg/l, v menších oblastiach dosahuje priemer 80 µg/l a najvyššie koncentrácie 300 µg/l. V kantóne Vallese, podľa štúdie z roku 1999 bolo odhadnuté, že okolo 14,000 ľudí pije vodu obsahujúcu od 12 do 50 µg/l As.

Nemecko: V severnom Bavorsku je oblasť o rozlohe 2,500 km<sup>2</sup> so 160 studňami obsahujúcimi As v koncentráciách medzi 10 a 150 µg/l. Tento arzén sa pravdepodobne dostáva do vody z prírodných zdrojov.

Taliansko: Kontaminovaných je niekoľko oblastí v povodí rieky Po, v oblasti Turína sú koncentrácie As do 80 µg/l, v okrese Ostiglia dosahujú viac ako 50 µg/l a v niekoľkých provinciách v strednej Pádskej nížine sú nad 10 µg/l. V regióne Veneto, štúdia z roku 1995 identifikovala 27% studní s As nad 10 µg/l. V Toskánsku, štúdie povrchových vôd od roku 1971 identifikovali niekoľko vodných zdrojov obsahujúcich As v koncentráciách nad 10 µg/l, s maximom 670 µg/l v prameňoch v provincii Pisa. V oblasti severné Lazio mnohé povrchové zdroje vody aj jazerá obsahujú As v koncentráciách nad 10 µg/l.

Fínsko: Podľa štúdií z rokov 1993-1994 obsahujú povrchové vody v oblastiach neovplyvnených ľudskými aktivitami arzén v koncentráciách od 17 do 980 µg/l.

Belgicko: Rieky v regióne Schelde boli skúmané ohľadne obsahu As v roku 1988, boli zistené koncentrácie do 3.8 µg/l.

Poznámky k zdravotnej záťaži v Európe: Keďže v krajinách Európy nie sú k dispozícii porovnateľné údaje, odhadnúť kvantitatívne zdravotnú záťaž z arzénu je veľmi ťažké. Avšak podľa literárnych údajov a kvalitatívnych informácií o prevalencii expozície v populácii je pravdepodobné, že proporcia rakoviny vo vzťahu k arzénu sa v niekoľkých oblastiach Európy pohybuje v rozsahu 5-10% pre rakovinu močového mechúra, obličiek a pľúc.

## 4. DISKUSIA

Štúdia ASHRAM bola zameraná na riziko rakoviny v súvislosti s expozíciou arzénu z pitnej vody v Európskej populácii. Najviac práce bolo venovanej charakterizácii expozície z rôznych dimenzií: z aspektu analytickej chémie, ľudského metabolizmu, zložitosti celoživotnej expozície z konzumácie pitnej vody. Výber indikátorov expozície zodpovedal potrebe odhadnúť riziko rakoviny kože (BCC), močového mechúra, a obličiek. Riziko BCC je zvýšené vo vzťahu k viacerým indikátorom expozície arzénu, vzťah zostáva významný aj pri kontrole na UV expozíciu. Štruktúra rizika rakoviny močového mechúra a obličiek sa podobá na BCC, avšak štatisticky významné vzťahy boli dosiahnuté len pre niektoré z indikátorov expozície.

Výber prípadov rakoviny závisel na aktívnej spolupráci so skupinami klinikov v nemocniciach, a v niektorých prípadoch aj na aktívnej spolupráci s lokálnymi úradmi verejného zdravotníctva. Štruktúra zberu údajov bola ovplyvnená národnými a lokálnymi charakteristikami služieb zdravotnej starostlivosti a ich vzťahmi s verejným zdravotníctvom. Aj keď počas obdobia zberu údajov bolo venované veľké úsilie náboru úplne všetkých prípadov rakoviny, nedá sa vylúčiť že faktory špecifické pre niektoré okresy neovplyvnili nábor do štúdie. Výber kontrol bol pravdepodobne tiež ovplyvnený týmito faktormi. ASHRAM zdôrazňoval požiadavku nájsť kontroly nie iba v nemocniciach pôsobiacich ako centrá pre diagnostiku a liečbu rakoviny, ale aj v celej skupine malých nemocníc. Týmto spôsobom sa mala dosiahnuť identifikácia takých kontrol, ktoré by reprezentovali celú populáciu. Avšak v tejto štúdií sa pomer prípadov a kontrol v študovaných krajinách veľmi líšil, a preto sme kontrolovali na vplyv krajiny vo všetkých analýzach vzťahov medzi arzénom a rizikom rakoviny.

Aj keď bola v tejto štúdií analýza obsahu arzénu vo vzorkách pitnej vody založená na najmodernejších metódach analytickej chémie, mohlo sa stať, že chyby pri odoberaní vzoriek alebo pri laboratórnych procedúrach ovplyvnili odhady expozície u ľudí. Podľa QA/QC programu boli analýzy vody v dobrej kvalite a teda sa mohli použiť na odhad súčasnej expozície pre všetkých účastníkov štúdie. Pri použití historických meraní vody boli zainteresovaní experti, aby posúdili priradenie koncentrácií arzénu k vodným zdrojom, ktoré využívali účastníci štúdie v minulosti. Tento proces môže byť spojený s misklasifikáciou expozície v minulosti.

K účastníkom štúdie boli expertami priradované záznamy o meraniach As v minulosti, ktoré vykonávali verejné agentúry v študovaných oblastiach. Experti neboli informovaní o tom, či účastník štúdie je prípad alebo kontrola. V dotazníkoch sa získali vynikajúce kompletné údaje o všetkých predchádzajúcich miestach bydliska. Všetky tieto údaje v kombinácii s meraniami vzoriek zozbieraných v tejto štúdií boli využité na analýzu expozície arzénu, nezávislú od toho, kto zisťoval a poskytoval údaje, a teda je veľmi nepravdepodobné, že by misklasifikácia expozície v minulosti bola zaťažená systematickou chybou.

Rekonštrukcia historickej expozície arzénu z pitnej vody sa teda môže považovať za adekvátnu pre výpočet odhadov expozície, ktoré by mali byť lepšou charakterizáciou celkovej expozície ako keby sa použili len údaje zo súčasných zdrojov. Navyše, doteraz nebolo zvyčajným prístupom analyzovať expozíciu arzénu z pitnej vody na individuálnej úrovni. Vo väčšine štúdií na Taiwane boli použité odhady koncentrácií z vody studní ako aproximácie súčasnej a minulej expozície. Aj keď analýza expozície v štúdií ASHRAM nezahŕňa všetky možné cesty a varianty expozície, znamená významné zlepšenie oproti predchádzajúcim informáciám, v aspekte zaradenia údajov o koncentráciách arzénu v minulosti, aj v aspekte analýzy expozície na individuálnej úrovni.

Expozícia arzénu na úrovni populácie, meraná ako celoživotný priemer koncentrácií pitnej vody v mieste bydliska, mala priemernú hodnotu 12 µg/l a 95% populácie bolo v rozsahu

od 0.4 do 61.6 µg/l. To znamená, že väčšia časť populácie štúdie ASHRAM je exponovaná arzénom v koncentráciách nižších ako v doterajších štúdiách, na základe ktorých bol určený súčasný limit pre arzén.

Ako celkové zhrnutie, štúdia ASHRAM nemôže potvrdiť nulovú hypotézu o tom, že s nízkymi hodnotami expozície arzému z pitnej vody nie je spojené žiadne riziko rakoviny.

## 5. ZÁVERY

1. Bola vykonaná rozsiahla štúdia typu prípad-kontrola v 3 krajinách a mnohých nemocniciach, založená na práci v mnohých oblastiach ako epidemiológia, toxikológia, analytická chémia a genetika. Expozícia celoživotnej priemernej koncentrácii arzénu z pitnej vody v mieste bydliska má hodnoty od 0.01 do skoro 200 µg/l, s priemerom 12 µg/l. 93% populácie malo hodnotu nižšiu ako 50 µg/l.
2. Zistili sme rastúci vzťah medzi expozíciou arzénu a vznikom rakoviny všetkých troch typov, BCC, rakoviny močového mechúra aj obličiek.
3. Tento vzťah je silnejší pre rakovinu kože, čo však môže odrážať len väčší počet účastníkov štúdie a s tým spojenú vyššiu štatistickú silu pre detekciu vplyvu.
4. Medzi typmi sledovaných rakovín existujú rozdiely v tom, ktorá miera expozície je najlepším prediktorom. BCC má najsilnejší vzťah s celoživotnou priemernou koncentráciou arzénu, rakovina močového mechúra s kumulatívnou dávkou arzénu a rakovina obličiek s najvyššou dennou dávkou arzénu. Nevieme odlíšiť, či toto zistenie je iba náhodné alebo znamená skutočný rozdiel.
5. V populácii ASHRAM boli identifikované zlúčeniny arzénu v moči produkované metabolizmom z požitého anorganického arzénu. Táto populácia je oveľa väčšia ako doteraz študované populácie, pre ktoré boli publikované výsledky pre špecifikáciu arzénu v podobne nízkych hodnotách.
6. Celkove, okolo 7% arzénu v moči bolo vo forme anorganického arzénu, 16% MA a 77% DMA. Pri porovnaní s publikovanými výsledkami o populáciách exponovaných arzénu z pitnej vody (Vahter, 2002), táto štúdia zistila nižší podiel anorganického arzénu a vyšší podiel DMA. Príčinou bol najmä príjem DMA z potravín.
7. DMA a MMA modifikujú riziko rakoviny pripísateľné arzénu, riziko rakoviny sa zvyšuje pre podskupinu s nižším podielom DMA, ako aj podskupinu s vyšším podielom MMA. Tento účinok je signifikantný pre BCC. Podľa toxikológie je táto modifikácia účinku v očakávanom smere.
8. Nové poznatky boli zistené v oblasti chémie arzénu, s potvrdením pravdepodobnej povahy artefaktu pre merania MA(III) podľa súčasných publikácií a s identifikáciou dvoch doteraz neznámych zlúčenín arzénu.
9. Nové poznatky boli zistené v oblasti genetiky rakoviny, s identifikáciou genetických polymorfizmov spojených s rizikom BCC.

### **ODPORUČENIA**

Keďže karcinogenita arzénu je potvrdená už niekoľko rokov aj pre požitie v nízkych koncentráciách a v Európe je nedostatok údajov o záťaži populácie arzénom, odporúča sa investovať do zberu vzoriek vody a pôdy a analýz koncentrácií As s použitím štandardných protokolov vo viacerých krajinách Európy. Tieto informácie by pomohli presnejšie špecifikovať záťaž rakovinami zapríčinenými arzénom a viedli by k prijatiu opatrení organizáciami pre ochranu zdravia a životného prostredia.

# 6. PUBLIKOVANIE VÝSLEDKOV

## 6.1 PREZENTÁCIE NA POLITICKEJ ÚROVNI

Vznikla požiadavka na zorganizovanie stretnutí s regionálnymi autoritami pre verejné zdravotníctvo a manažment pitnej vody. V čase písania tejto správy sa toto stretnutie uskutočnilo v Maďarsku a bolo plánované v Rumunsku a na Slovensku:

- Budapešť, Maďarsko, jún 2005
- Banská Bystrica, Slovensko, október 2005
- Kluž, Rumunsko, november 2005

## 6.2 KONFERENCIE

Výsledky štúdie ASHRAM boli prezentované na národných a medzinárodných konferenciách v oblastiach epidemiológie, toxikológie, genetiky a analytickej chémie, a to napr.:

- 16. konferencia Medzinárodnej spoločnosti pre environmentálnu epidemiológiu, New York, 2004 a 17. konferencia Medzinárodnej spoločnosti pre environmentálnu epidemiológiu, Johannesburg, Južná Afrika, 2005
- konferencia kapitoly pre strednú Európu Medzinárodnej spoločnosti pre environmentálnu epidemiológiu, Maďarsko, 2005
- konferencia epidemiológie pracovného a životného prostredia, Guys Hospital, Londýn, 28.4. 2005

### 6.2.1 ABSTRAKTY ČLÁNKOV Z MEDZINÁRODNÝCH KONFERENCIÍ

- Leonardi, Giovanni; Fletcher, Tony; Koppova, Kvetoslava; Hough, Rupert; Rudnai, Peter; Gurzau, Eugen. SELECTION OF CONTROLS FOR HOSPITAL-BASED CASE-CONTROL STUDIES USING RETROSPECTIVE DATA ON THE GEOGRAPHIC DISTRIBUTION OF CASES AND CONTROLS. Sixteenth Conference of the International Society for Environmental Epidemiology, New York, USA, August 1-4, 2004. *Epidemiology*. 15(4):S213, July 2004.
- Vahter, Marie; Fletcher, Tony; Goessler, Walter; Koppova, Kvetoslava; Gurzau, Eugen; Rudnai, Peter; Lindberg, Anna-Lena; Leonardi, Giovanni. URINARY ARSENIC METABOLITES IN RELATION TO EXPOSURE VIA FOOD AND WATER. Sixteenth Conference of the International Society for Environmental Epidemiology, New York, USA, August 1-4, 2004. *Epidemiology*. 15(4):S77-S78, July 2004.
- Fletcher, Tony; Hough, Rupert; Gurzau, Eugen; Koppova, Kvetoslava; Rudnai, Peter. ESTIMATING PAST EXPOSURE TO ARSENIC FROM DRINKING WATER FROM BOTH RESIDENTIAL AND OCCUPATIONAL SOURCES. Sixteenth Conference of the International Society for Environmental Epidemiology, New York, USA, August 1-4, 2004. *Epidemiology*. 15(4):S108-S109, July 2004.
- T Fletcher, GS Leonardi, F Clemens, R Hough, E Gurzau, K Koppova, P Rudnai, W Goessler, R Kumar, M Vahter. ASHRAM. ARSENIC HEALTH RISK ASSESSMENT AND MOLECULAR EPIDEMIOLOGY. Poster presented at Meeting on "Environmental and occupational epidemiology: an academic update", held at Guys Hospital, London, on 28 April 2005.

## 6.3 ČLÁNKY

- Doris Kuehnelt, Walter Goessler and Kevin A. Francesconi. NITROGEN PURITY INFLUENCES THE OCCURRENCE OF AS<sup>+</sup> IONS IN HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY/ELECTROSPRAY IONIZATION MASS SPECTROMETRIC ANALYSIS OF FOUR COMMON ARSENOSUGARS. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2003; 17: 654–659 .
- Ernst Schmeisser, Reingard Raml, Kevin A. Francesconi, Doris Kuehnelt, Anna-Lena Lindberg, Csilla Sörös and Walter Goessler. THIO ARSENOSUGARS IDENTIFIED AS NATURAL CONSTITUENTS OF MUSSELS BY LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY. *Chem. Commun.*, 2004, 1824–1825
- Somali Sanyal, Fabiola Festa, Shigeru Sakano, Zhengzhong Zhang, Gunnar Steineck, Ulf Norming, Hans Wijkström, Per Larsson, Rajiv Kumar and Kari Hemminki. POLYMORPHISMS IN DNA REPAIR AND METABOLIC GENES IN BLADDER CANCER. *Carcinogenesis* vol.25 no.5 pp.729–734, 2004
- Pavel Vodicka, Rajiv Kumar, Rudolf Stetina, Somali Sanyal, Pavel Soucek, Vincent Haufroid, Maria Dusinska, Miroslava Kuricova, Maria Zamecnikova, Ludovit Musak, Jana Buchancova, Hannu Norppa, Ari Hirvonen, Ludmila Vodickova, Alessio Naccarati, Zora Matousu and Kari Hemminki. GENETIC POLYMORPHISMS IN DNA REPAIR GENES AND POSSIBLE LINKS WITH DNA REPAIR RATES, CHROMOSOMAL ABERRATIONS AND SINGLE-STRAND BREAKS IN DNA. *Carcinogenesis* vol.25 no.5 pp.757–763, 2004
- Ranjit Kumar Thirumaran, Justo Lorenzo Bermejo, Peter Rudnai, Eugene Gurzau, Kvetoslava Koppova, Walter Goessler, Marie Vahter, Giovanni S. Leonardi, Felicity Clemens, Tony Fletcher, Kari Hemminki and Rajiv Kumar. SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN DNA REPAIR GENES AND BASAL CELL CARCINOMA OF KOŽA. Submitted to *Cancer Causes and Control*.
- Anna-Lena Lindberg, Walter Goessler, Eugen Gurzau, Kvetoslava Koppova, Peter Rudnai, Rajiv Kumar, Tony Fletcher, Giovanni Leonardi and Marie Vahter. ARSENIC EXPOSURE IN HUNGARY, ROMANIA AND SLOVAKIA. To be submitted to *Environmental Monitoring*.
- Koppová, K. – Fletcher, T.: Hodnotenie zdravotných rizík z príjmu arzénu, odhad vplyvu expozície arzénu na riziko rakoviny obličiek, močového mechúra a bazocelulárneho karcinómu kože, MŽP SR, MZ SR, Zborník prednášok z konferencie s medzinárodnou účasťou Pitná voda, 3-10 s., 2009.
- Koppová, K. – Slotová, K.: Manažment zdravotných rizík a implementovanie opatrení na zníženie zdravotných rizík, MŽP SR, MZ SR, Zborník prednášok z konferencie s medzinárodnou účasťou Pitná voda, 11-14 s., 2009.
- Wu, X. – Ye, Y. – Kiemeny, L.A. – Sulem, P. – Rafnar, T. – Matullo, G. – Seminara, D. – Yoshida, T. – Saeki, N. – Andrew, A.S. – Dinney, C.P. – Czerniak, B. – Zhang, Z. – Kiltie, A.E. – Bishop, D.T. – Vineis, P. – Porru, S. – Buntinx, F. – Kellen, E. – Zeegers, M.P. – Kumar, R. – Rudnai, P. – Gurzau, E. – Koppová, K. – Mayordomo, J.I. – Sanchez, M. – Saez, B. – Lindblom, A. – Verdier, P. – Steineck, G. – Mills, G.B. – Schned, A. – Chang, S. – Lin, J. – Chang, D.W. – Hale, K.S. – Majewski, T. – Grossman, H.B. – Thorlacius, S. – Thorsteinsdottir, U. – Aben, K.K.H. – Witjes, J.A. – Stefansson, K. – Amos, CH.I. – Karagas, M.R. – Gu, J. : Genetic variation in the prostate stem cell antigen gene PSCA confers susceptibility to urinary bladder cancer. In: *Natural genetics*, 2009. p. 1-5.
- Scherer, D. – Bermejo, J.L. – Rudnai, P. – Gurzau, E. – Koppová, K. – Hemminki, K. – Kumar, R.: MC1R variants associated susceptibility to basal cell carcinoma of skin: Interaction with host factors and XRCC3 polymorphism, In: *INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER*, 122 (8): 1787-1793 APR 15 2008.
- Gudbjartsson, D. – Sulem, P. – Stacey, S. – Goldstein, A. – Rafnar, T. – Sigurgeirsson, B. – Benediksdottir, K. – Thorisdottir, K. – Ragnarsson, R. – Sveinsdottir, S. – Magnusson, V. – Lindblom, A. – Kostulas, K. – Estrada, R. – Soriano, V. – Juberías, P. – Grasa, M. – Saez, B. – Andres, R. – Scherer, D. – Rudnai, P. – Gurzau, E. – Koppová, K. – Kiemeny, L. – Jakobsdottir, M. – Steinberg, S. – Helgason, A. – Gretarsdottir, S. –

Tucker, M. – Mayordomo, J. – Nagore, E. – Kumar, R. – Hansson, J. – Olafsson, J. – Gultcher, J. – Kong, A. – Thorsteinsdottir, U. – Stefansson, K: ASIP and TYR pigmentation variants associate with cutaneous melanoma and basal cell carcinoma. In: Natural genetics. Nature publishing group, 2008. p 1 – 6.

- Wilkening, S. – Hemminki, K. – Rudnai, P. – Gurzau, E. – Koppova, K. – Forsti, A. – Kumar, R.: No association between MDM2 SNP309 promoter polymorphism and basal cell carcinoma of the skin. In: BRITISH JOURNAL OF DERMATOLOGY, 157 (2): 375-377 AUG 2007.
- Lindberg, Al., – Kumar, R. – Goessler, W. – Thirumaran, R. – Gurzau, E. – Koppová, K. – Rudnai, P. – Leonardi, G. – Fletcher, T. – Vahter, M.: Metabolism of low dose inorganic arsenic in a Central European population – influence of sex and genetic polymorphisms. Environmental Health perspectives, 2007.
- Thirumaran, R.K. – Bermejo, J.L. – Rudnai, P. – Gurzau, E. – Koppova, K. – Goessler, W. – Vahter, M. – Leonardi, G.S. – Clemens, F. – Fletcher, T. – Hemminki, K. – Kumar, R.: Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes and basal cell carcinoma of skin. In: CARCINOGENESIS, 27 (8): 1676-1681 AUG 2006.
- Wilkening, S. – Hemminki, K. – Rudnai, P. – Gurzau, E. – Koppova, K. – Kumar, R. – Forsti, A.: Case-control study in basal cell carcinoma of the skin: single nucleotide polymorphisms in three interleukin promoters pre-analysed in pooled DNA. In: BRITISH JOURNAL OF DERMATOLOGY, 155 (6): 1139-1144 DEC 2006.
- Koppová, K. – Slotová, K. – Fabiánová, E. – Hrubá, F. – Bartová, P. – Drímal, M. – Fletcher, T.: ASHRAM project in Slovakia, the Risk Management Implementation in Study Areas. In: Proceedings of Central and Eastern Europe Environment Health Conference, SR, 2006, p.37.
- Koppová, K. – Fabiánová, E. – Slotová, K. – Bartová, P. – Drímal, M.: Arsenic Health Risk assessment and Molecular Epidemiology Project in Slovakia. In: Donnelly, K.C.: Environmental Health in Central and Eastern Europe, Springer, Netherlands 2006, p.154-160.
- Lindberg, A-L. – Goessler, W. – Gurzau, E. – Koppová, K. – Rudnai, P. – Kumar, R. – Fletcher, T. – Leonardi, G. – Slotova, K. – Gheorghiu, E. – Vahter M.: "Arsenic exposure in Hungary, Romania and Slovakia" J. Environ. Monit. 2006, 8, 203-208.
- Fletcher, T. – Vahter, M. – Goessler, W. – Hemminki, K. – Rudnai, P. – Gurzau, E. – Koppová, K.: Arsenic health risk assessment and molecular epidemiology, Final report, 2005, 136 s.
- Fletcher, T. – Hough, R. – Gurzau, E. – Koppová, K. – Rudnai, P.: Estimating past exposure to arsenic from drinking water from both residential and occupational sources. Epidemiology. 2004, 15: S108-S109.
- Leonardi, G. – Fletcher, T. – Koppová, K. – Hough, R. – Rudnai, P. – Gurzau, E.: Selection of controls for hospital-based case-control studies using retrospective data on the geographic distribution of cases and controls. Epidemiology. 15(4):S213, July 2004.
- Vahter, – Fletcher, – Goessler, – Koppová, K. – Gurzau, – Rudnai, – Lindberg, – Leonardi,: Urinary arsenic metabolites in relation to exposure via food and water. Sixteenth Conference of the International Society for Environmental Epidemiology, New York, USA, August 1-4, 2004. Epidemiology. 15(4):S77-S78, July 2004.
- Koppová, K.: O čo ide v projekte ASHRAM?, Slovenský národný komitét IWSA, Zborník odborných prác z konferencie s medzinárodnou účasťou Pitná voda, 7-11 s., 2002.

## 6.4 PREDNÁŠKY

- Koppová K.: O čo ide v projekte ASHRAM? Konferencia s medzinárodnou účasťou „Pitná voda“ Trenčianske Teplice, SR, október 2002
- Koppová K., Drímal M.: Poznatky a skúsenosti z prvého roku plnenia projektu EÚ Hodnotenie rizika arzénu a molekulárna epidemiológia. Konferencia s medzinárodnou účasťou „Pitná voda“ Trenčianske Teplice, SR, 2003
- Drímal M., Koppová K.: Hodnotenie zdravotných rizík súvisiacich s príjmom pitnej vody so zvýšenou koncentráciou niektorých chemických ukazovateľov kvality – aplikácia

metodiky v podmienkach SR. Konferencia s medzinárodnou účasťou „Pitná voda“  
Trenčianske Teplice, SR, 2003

- Koppová, K. – Slotová, K. – Drímal, M. – Kavická, P.: Projekt ASHRAM – Hodnotenie rizika arzénu a molekulárna epidemiológia, plnenie v SR. Celoštátna konferencia asistentov hygienickej služby a iných odborných pracovníkov pracujúcich na úseku odboru hygieny životného prostredia, 9.-10.jún 2004, Banská Bystrica
- Slotová, K. – Koppová, K. – Fabiánová, E. – Bartová, P. – Drímal, M.: Projekt hodnotenia rizika arzénu a molekulárna epidemiológia v SR. Vedecko – odborná konferencia medzinárodnou účasťou „Životné podmienky a zdravie“, 11.-13. Október 2004, Štrbské Pleso
- Koppová, K. – Fabiánová, E. – Slotová, K. – Bartová, P. – Drímal, M.: Arsenic Health Risk assessment and Molecular epidemiology project in Slovakia. Central and Eastern European Environmental Health Conference, Október 24.-27., 2004, Praha
- Fletcher, T. – Leonardi, G. – Clemens, F. – Gurzau, E. – Koppová, K. – Rudnai, P. – Goessler, W. – Vahter, M. – Kumar, R.: Arsenic and cancer in Central Europe, Konferencia ISEE 2005
- Fletcher, T. – Pattenden, S. – Antova, T. – Braun-Fahrtänder, Ch. – Koppová, K. – Forastiere, F. – Furman, V. – Gibson, H. – Heinrich, J. – Hoek, G. – Houthuijs, D. – Katsnelson, B. – Neuberger, M. – Rudnai, P. – Slachtová, H. – Zlotkowska, R.: Consistency and heterogeneity in PM and NO<sub>2</sub> effects on children´s respiratory symptoms, Konferencia ISEE 2005
- Koppová, K.: Materiál a metódy projektu ASHRAM, Odborný seminár s medzinárodnou účasťou „Hodnotenie zdravotných rizík z expozície arzénu“ organizovaný RÚVZ Banská Bystrica a London School of Hygiene and Tropical Medicine, Veľká Británia, 20.1.2009, Univerzita Mateja Bela, Banská Bystrica
- Koppová, K.: Odporúčania pre prax verejného zdravotníctva, Odborný seminár s medzinárodnou účasťou „Hodnotenie zdravotných rizík z expozície arzénu“ organizovaný RÚVZ Banská Bystrica a London School of Hygiene and Tropical Medicine, Veľká Británia, 20.1.2009, Univerzita Mateja Bela, Banská Bystrica
- Koppová, K. - Fletcher, T.: Hodnotenie zdravotných rizík z príjmu arzénu, odhad vplyvu expozície arzénu na riziko rakoviny obličiek, močového mechúra a bazocelulárneho karcinómu kože, XII. Konferencia s medzinárodnou účasťou Pitná voda, 7.-8.10.2009, Trenčianske Teplice
- Koppová, K. – Slotová, K.: Manažment zdravotných rizík a implementovanie opatrení na zníženie zdravotných rizík, XII. Konferencia s medzinárodnou účasťou Pitná voda, 7.-8.10.2009, Trenčianske Teplice



## 7. ÚSPECHY V OBLASTI POLITÍK

Zásadné úspechy štúdie ASHRAM vo vzťahu k politikám sú spojené s priamym pozorovaním rizika rakoviny u ľudí z požitia arzénu v koncentráciách nižších ako pôvodný limit pre pitnú vodu 50 µg/l. Je niekoľko dôsledkov tohto faktu. Prvým, táto štúdia je priamou podporou súčasného doporučeného limitu WHO a EU pre arzén v pitnej vode, určeného na 10 µg/l. Európske vlády, lokálne agentúry, aj ostatní, ktorí si uvedomujú ekonomické následky žiadali vyjasnenie tohto limitu, a to najmä z dôvodu ceny inžinierskych úprav a ďalších opatrení nevyhnutných pre dodávku pitnej vody s koncentraciami arzénu pod úrovňou nového limitu. Naša štúdia nemôže podporiť benevolentný prístup k implementácii tohto limitu, a toto je druhý dôsledok pre politiku. Tretím je, že politiky odkazujúce na zdravotné riziká v kontaminovanej krajine a pôde môžu byť ovplyvnené týmito výsledkami, pretože arzén prispieva najväčším podielom k riziku rakoviny zo všetkých pôdných kontaminantov a doporučené hodnoty limitov pre arzén v pôde sú priamo založené na limite arzénu pre vodu. A preto výsledky štúdie potvrdzujúce potrebu špecifického limitu pre vodu tiež nepriamo ovplyvnia limity pre pôdu, aj ďalšie limity. Štvrtým je, že závery štúdie by mohli podporiť opatrnosť pri používaní podzemnej vody na pitie ako alternatívy pri používaní povrchovej vody pri nepoznanej distribúcii arzénu v podzemnej vode. Doporučenia štúdie ASHRAM, uvedené v časti 5, zdôrazňujú prospech, ktorý by sa dal dosiahnuť systematickým prístupom k analýze expozície arzénu pre populáciu v Európe. Malo by byť podporované rozsiahle zverejnenie výsledkov o expozícii populácie arzénu z pitnej vody regionálnym a obecným autoritám.

Naviac dôsledkom štúdie pre manažment vody je pravdepodobné, že štúdia ASHRAM významne prispeje k publikáciám o riziku arzénu a mechanizme toxicity arzénu. Nové poznatky o chémii arzénu ukázali, že pri študovaní možných zdravotných aspektov arzénu v nízkych koncentráciách je potrebné dôsledné vyhodnotenie médií životného prostredia a biologických vzoriek. Metódy analýzy expozície použité v štúdii ASHRAM pre odhad expozície arzénu u jednotlivcov patria k tradičným, avšak boli zriedkavo použité podľa doterajších publikácií o epidemiológii arzénu, pretože sú veľmi pracné. Analýza celoživotnej expozície nízkym koncentraciám arzénu v pitnej vode na individuálnej úrovni umožnila analyzovať riziko rakoviny vo veľkej viacnárodnej populácii. Týmto bola podporená koncepcia o tom, že priame epidemiologické pozorovanie je vhodným prístupom pre zodpovedanie otázok v oblasti environmentálneho zdravia, avšak iba pri dodržaní podmienky o spolupráci s prírodovedcami so špeciálnymi schopnosťami a vedomosťami v špecifickej oblasti. To znamená, že integrácia špeciálnej chémie a toxikológie do celkového epidemiologického protokolu a rámca bola nevyhnutnou podmienkou pre vyprodukovanie zmysuplných výsledkov v otázkach spojených s možnými zdravotnými rizikami nízkych dávok všeobecne rozšíreného kontaminantu životného prostredia. Štúdia ASHRAM ukázala, že metabolické a genetické faktory na individuálnej úrovni ovplyvňujú riziko rakoviny nezávisle od expozície arzénu a v niektorých prípadoch spoločne s expozíciou arzénu. Nové poznatky v rámci ASHRAM v pochopení chémie arzénu a mechanizmov činnosti budú mať pravdepodobne implikácie nielen v lekárskej vede, ale aj pri navrhovaní monitorovacích systémov životného prostredia.

Súhrnom, význam výsledkov štúdie ASHRAM má dve úrovne: potvrdením rizika rakoviny z požitia arzénu pravdepodobne ovplyvnia politiky o manažmente pitnej vody a príspevkami k vedomostiam o určení a analýze arzénu a jeho účinkov prispievajú k vedám o životnom prostredí a zdraví ako aj k lekárskeym vedám, a tiež snahám o ich integráciu.

## 8. LITERATÚRA

- Aposhian, Zheng, Aposhian, Le, Cebrian, Cullen, Zakharyan, Ma, Dart, Cheng, Andrewes, Yip, O'Malley, Maiorino, Van Voorhies, Healy and Titcomb (2000). "DMPS-arsenic challenge test. II. Modulation of arsenic species, including monomethylarsonous acid (MMA(III)), excreted in human urine." *Toxicol Appl Pharmacol* 165(1): 74-83.
- Arbuckle, T.E., Hrudey, S.E., Krasner, S.W., Nuckols, J.R., Richardson, S.D., Singer, P., Mendola, P., Dodds, L., Weisel, C., Ashley, D.L., Froese, K.L., Pegram, R.A., Schultz, I.R., Reif, J., Bachand, A.M., Benoit, F.M., Lynberg, M., Poole, C. & Waller, K. 2002. Assessing exposure in epidemiological studies to disinfection by-products in drinking water: report from an international workshop. *Environmental Health Perspectives* 110 (suppl. 1): 53-60.
- Ayotte JD, Nielsen MG, Robinson GR Jnr, Moore RB. 1999. Relation of arsenic, iron, and manganese in ground water to aquifer type, bedrock geochemistry, and land use in the New England Coastal Basins: USGS Water-Resources investigations Report 99-4162.
- Babinska K and Bederova A (2002) Changes in Nutrient intake in the adult population of the Slovak Republic. *Journal of food composition and analysis* 15, 359-365.
- Batáriová, Cerná, Spevacková, Cejchanová, Benes and Smíd (2005). "Whole blood selenium content in healthy adults in the Czech Republic." *J Sci Tot Environ* 338: 183-188.
- Bidoli E, Bosetti C, La Vecchia C, Levi F, Parpinel M, Talamini R, Negri E, Maso LD, Franceschi S (2003) Micronutrients and laryngeal cancer risk in Italy and Switzerland: a case-control study. *Cancer Causes Control*. Jun; 14(5):477-84
- Bidoli E, La Vecchia C, Talamini R, Negri E, Parpinel M, Conti E, Montella M, Carbone MA, Franceschi S. (2001) Micronutrients and ovarian cancer: a case-control study in Italy. *Ann Oncol*. Nov;12(11):1589-93.
- Bidoli E, Talamini R, Bosetti C, Negri E, Maruzzi D, Montella M, Franceschi S, La Vecchia C (2005) Macronutrients, fatty acids, cholesterol and prostate cancer risk *Annals of Oncology* 16 (1): 152-157 Jan 2005.
- Biro G (1992) First Hungarian Representative Nutrition survey: 1985-1988. Vol. 1, Budapest.
- Buchet, Geubel, Pauwels, Mahieu and Lauwerys (1984). "The influence of liver disease on the methylation of arsenite in humans." *Arch Toxicol* 55(3): 151-4.
- Buchet and Lauwerys (1985). "Study of inorganic arsenic methylation by rat liver in vitro: relevance for the interpretation of observations in man." *Arch Toxicol* 57(2): 125-9.
- Buchet and Lauwerys (1988). "Role of thiols in the in-vitro methylation of inorganic arsenic by rat liver cytosol." *Biochem Pharmacol* 37(16): 3149-53.
- Buchet, Lauwerys and Roels (1981). "Comparison of the urinary excretion of arsenic metabolites after a single oral dose of sodium arsenite, monomethylarsonate, or dimethylarsinate in man." *Int Arch Occup Environ Health* 48(1): 71-9.
- Chen, Guo, Su, Hsueh, Smith, Ryan, Lee, Chao, Lee and Christiani (2003a). "Arsenic methylation and Skin cancer risk in southwestern Taiwan." *J Occup Environ Med* 45(3): 241-8.
- Chen, Su, Guo, Hsueh, Smith, Ryan, Lee and Christiani (2003b). "Arsenic methylation and bladder cancer risk in Taiwan." *Cancer Causes Control* 14(4): 303-10.
- Chen, Wu, Lee, Wang, Cheng and Wu (1988). "Atherogenicity and carcinogenicity of high-arsenic artesian well water. Multiple risk factors and related malignant neoplasms of blackfoot disease." *Arteriosclerosis* 8(5): 452-60.
- Colt, J.S., Baris, D., Clark, S.F., Ayotte, J.D., Ward, M., Nuckols, J.R., Cantor, K.P., Silverman, D.T. & Karagas, M. 2002. Sampling private wells at past homes to estimate arsenic exposure: a methodological study in New England. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology* 12: 329-334.

- Concha, Nermell and Vahter (1998a). "Metabolism of inorganic arsenic in children with chronic high arsenic exposure in northern Argentina." *Environ Health Perspect* 106(6): 355-9.
- Concha, Vogler, Lezcano, Nermell and Vahter (1998b). "Exposure to inorganic arsenic metabolites during early human development." *Toxicol Sci* 44(2): 185-90.
- Csanaky, Nemeti and Gregus (2003). "Dose-dependent biotransformation of arsenite in rats--not S-adenosylmethionine depletion impairs arsenic methylation at high dose." *Toxicology* 183(1-3): 77-91.
- Data Management Software ALIMENTA version 4.0. Food and Nutrition Division of FAO, Food Research Institute Slovakia, Infobus Slovakia, 2000
- Decarli A, Franceschi S, Ferraroni M, Gnagnarella P, Parpinel MT, La Vecchia C, Negri E, Salvini S, Falcini F, Giacosa A (1996) Validation of a food-frequency questionnaire to assess dietary intakes in cancer studies in Italy. Results for specific nutrients. *Ann Epidemiol* 6: 110-118.
- Del Razo, Garcia-Vargas, Vargas, Albores, Gonsebatt, Montero, Ostrosky-Wegman, Kelsh and Cebrian (1997). "Altered profile of urinary arsenic metabolites in adults with chronic arsenicism. A pilot study." *Arch Toxicol* 71(4): 211-7.
- Delnomdedieu, Basti, Otvos and Thomas (1994a). "Reduction and binding of arsenate and dimethylarsinate by glutathione: a magnetic resonance study." *Chem Biol Interact* 90(2): 139-55.
- Delnomdedieu, Basti, Styblo, Otvos and Thomas (1994b). "Complexation of arsenic species in rabbit erythrocytes." *Chem Res Toxicol* 7(5): 621-7.
- Fletcher, T., Hough, R., Gurzau, E., Koppova, K. & Rudnai, P. 2004. Estimating past exposure to arsenic from drinking water from both residential and occupational sources. *Epidemiology* 15: S108-S109.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome (1998) Rural women and food security: Current situation and perspectives.
- Food Research institute (2002) Food Composition Tables. Bratislava.
- Franceschi S, Barbone F, Negri E, Decarli A, Ferraroni M, Filiberti R, Giacosa A, Gnagnarella P, Nanni O, Salvini S, La Vecchia C (1995) Reproducibility of an Italian Food Frequency Questionnaire for cancer studies: results for specific nutrients. *Ann Epidemiol* 5:69-75.
- Franceschi S, Bidoli E, Negri E, Zambon P, Talamini R, Ruol A, Parpinel M, Levi F, Simonato L, La Vecchia C. (2000) Role of macronutrients, vitamins and minerals in the aetiology of squamous-cell carcinoma of the oesophagus. *Int J Cancer*. Jun 1;86(5):626-31
- Franceschi S, Negri E, Salvini S, Decarli A, Ferraroni M, Filiberti R, Giacosa A, Talamini R, Amadori D, Panarello G, La Vecchia C (1993) Reproducibility of an Italian food frequency questionnaire for cancer studies: results for specific food items. *Eur J Cancer* 29A (16):2298-2305.
- Francesconi, Tanggaar, McKenzie and Goessler (2002). "Arsenic metabolites in human urine after ingestion of an arsenosugar." *Clin Chem* 48(1): 92-101.
- Geubel, Mairlot, Buchet, Dive and Lauwerys (1988). "Abnormal methylation capacity in human liver cirrhosis." *Int J Clin Pharmacol Res* 8(2): 117-22.
- Goering, Aposhian, Mass, Cebrian, Beck and Waalkes (1999). "The enigma of arsenic carcinogenesis: role of metabolism." *Toxicol Sci* 49(1): 5-14.
- Guha Mazumder, Haque, Ghosh, De, Santra, Chakraborty and Smith (1998). "Arsenic levels in drinking water and the prevalence of Skin lesions in West Bengal, India." *Int J Epidemiol* 27(5): 871-7.
- Hopenhayn-Rich, Biggs, Smith, Kalman and Moore (1996). "Methylation study of a population environmentally exposed to arsenic in drinking water." *Environ Health Perspect* 104(6): 620-8.
- Hopenhayn-Rich, Biggs, Smith, Kalman and Moore (1996b). "Methylation study of a population environmentally exposed to arsenic in drinking water." *Environ Health Perspect* 104(6): 620-8.

- Hsueh, Cheng, Wu, Yu, Kuo and Chen (1995). "Multiple risk factors associated with arsenic-induced Skin cancer: effects of chronic liver disease and malnutritional status." *Br J Cancer* 71(1): 109-14.
- Hsueh, Chiou, Huang, Wu, Huang, Yang, Lue, Chen and Chen (1997). "Serum beta-carotene level, arsenic methylation capability, and incidence of Skin cancer." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6(8): 589-96.
- Hughes and Kenyon (1998). "Dose-dependent effects on the disposition of monomethylarsonic acid and dimethylarsinic acid in the mouse after intravenous administration." *J Toxicol Environ Health A* 53(2): 95-112.
- Kitchin and Ahmad (2003). "Oxidative stress as a possible mode of action for arsenic carcinogenesis." *Toxicol Lett* 137(1-2): 3-13.
- Kligerman, Doerr, Tennant, Harrington-Brock, Allen, Winkfield, Poorman-Allen, Kundu, Funasaka, Roop, Mass and DeMarini (2003). "Methylated trivalent arsenicals as candidate ultimate genotoxic forms of arsenic: induction of chromosomal mutations but not gene mutations." *Environ Mol Mutagen* 42(3): 192-205.
- Le, Ma, Cullen, Aposhian, Lu and Zheng (2000). "Determination of monomethylarsonous acid, a key arsenic methylation intermediate, in human urine." *Environ Health Perspect* 108(11): 1015-8.
- Maki-Paakkanen J (1998). "Association between the clastogenic effect in peripheral lymphocytes and human exposure to arsenic through drinking water." *Environ Mol Mutagen* 32: 301-313.
- Mandal, Ogra and Suzuki (2001). "Identification of dimethylarsinous and monomethylarsonous acids in human urine of the arsenic-affected areas in West Bengal, India." *Chem Res Toxicol* 14(4): 371-8.
- Marafante and Vahter (1984). "The effect of methyltransferase inhibition on the metabolism of [<sup>74</sup>As]arsenite in mice and rabbits." *Chem Biol Interact* 50(1): 49-57.
- Marafante, Vahter, Norin, Envall, Sandstrom, Christakopoulos and Ryhage (1987). "Biotransformation of dimethylarsinic acid in mouse, hamster and man." *J Appl Toxicol* 7(2): 111-7.
- Marnell, Garcia-Vargas, Chowdhury, Zakharyan, Walsh, Avram, Kopplin, Cebrian, Silbergeld and Aposhian (2003). "Polymorphisms in the human monomethylarsonic acid (MMA V) reductase/hGSTO1 gene and changes in urinary arsenic profiles." *Chem Res Toxicol* 16(12): 1507-13.
- Mass, Tennant, Roop, Cullen, Styblo, Thomas and Kligerman (2001). "Methylated trivalent arsenic species are genotoxic." *Chem Res Toxicol* 14(4): 355-61.
- Mihailescu M, Daghie V, Dumitrache S (1981) *Metodologia Investigatiei. Alimentia si starea de nutritie a populatiei rurale*, Ministerul Sanatatii. Bucuresti.
- Milton, Hasan, Shahidullah, Sharmin, Jakariya, Rahman, Dear and Smith (2004). "Association between nutritional status and arsenicosis due to chronic arsenic exposure in Bangladesh." *Int J Environ Health Res* 14(2): 99-108.
- Mitra, Mazumder, Basu, Block, Haque, Samanta, Ghosh, Smith, von Ehrenstein and Smith (2004). "Nutritional factors and susceptibility to arsenic-caused Skin lesions in West Bengal, India." *Environ Health Perspect* 112(10): 1104-9.
- Moore, Harrington-Brock and Doerr (1997). "Relative genotoxic potency of arsenic and its methylated metabolites." *Mutat Res* 386(3): 279-90.
- Negri E, Franceschi S, Bosetti C, Levi F, Conti E, Parpinel M, La Vecchia C. (2000) Selected micronutrients and oral and pharyngeal cancer. *Int J Cancer*. Apr 1;86(1):122-7
- Nesnow, Roop, Lambert, Kadiiska, Mason, Cullen and Mass (2002). "DNA damage induced by methylated trivalent arsenicals is mediated by reactive oxygen species." *Chem Res Toxicol* 15(12): 1627-34.
- NRC (1999). *Arsenic in Drinking Water*. N. R. Council Washington DC, National Academy Press, 310.
- Petrick, Ayala-Fierro, Cullen, Carter and Vasken Aposhian (2000). "Monomethylarsonous acid (MMA(III)) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes." *Toxicol Appl Pharmacol* 163(2): 203-7.

- Petrovici Dan A, Ritson C (2000) Food consumption patterns in Romania British Food Journal., Vol 102. n. 4: 290-307.
- Radabaugh and Aposhian (2000). "Enzymatic reduction of arsenic compounds in mammalian systems: reduction of arsenate to arsenite by human liver arsenate reductase." *Chem Res Toxicol* 13(1): 26-30.
- Rasmussen and Menzel (1997). "Variation in arsenic-induced sister chromatid exchange in human lymphocytes and lymphoblastoid cell lines." *Mutat Res* 386(3): 299-306.
- Ryker S. 2001. Mapping arsenic in groundwater. *Geotimes* 46: 34-36.
- Sakurai, Kaise and Matsubara (1998). "Inorganic and methylated arsenic compounds induce cell death in murine macrophages via different mechanisms." *Chem Res Toxicol* 11(4): 273-83.
- Schwerdtle, Walter and Hartwig (2003a). "Arsenite and its biomethylated metabolites interfere with the formation and repair of stable BPDE-induced DNA adducts in human cells and impair XPAzf and Fpg." *DNA Repair (Amst)* 2(12): 1449-63.
- Schwerdtle, Walter, Mackiw and Hartwig (2003b). "Induction of oxidative DNA damage by arsenite and its trivalent and pentavalent methylated metabolites in cultured human cells and isolated DNA." *Carcinogenesis* 24(5): 967-74.
- Scott, Hatlelid, MacKenzie and Carter (1993). "Reactions of arsenic(III) and arsenic(V) species with glutathione." *Chem Res Toxicol* 6(1): 102-6.
- Shimokura, H.H., Savitz, D.A. & Symanski, E. 1998. Assessment of water use for estimating exposure to tap water contaminants. *Environmental Health Perspectives* 106: 55-59.
- Smith, Hopenhayn-Rich, Bates, Goeden, Hertz-Picciotto, Duggan, Wood, Kosnett and Smith (1992). "Cancer risks from arsenic in drinking water." *Environ Health Perspect* 97: 259-67.
- Statisticky urad Slovenskej republiky (2002) Food consumption in the SR (preliminary data) Bratislava.
- Styblo, Del Razo, Vega, Germolec, LeCluyse, Hamilton, Reed, Wang, Cullen and Thomas (2000). "Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells." *Arch Toxicol* 74(6): 289-99.
- Styblo, Delnomdedieu and Thomas (1996). "Mono- and dimethylation of arsenic in rat liver cytosol in vitro." *Chem Biol Interact* 99(1-3): 147-64.
- Styblo, Drobna, Jaspers, Lin and Thomas (2002). "The role of biomethylation in toxicity and carcinogenicity of arsenic: a research update." *Environ Health Perspect* 110 Suppl 5: 767-71.
- Styblo, Yamauchi and Thomas (1995). "Comparative in vitro methylation of trivalent and pentavalent arsenicals." *Toxicol Appl Pharmacol* 135(2): 172 -8.
- Suwazono, Åkesson, Alfvén, Järup and Vahter (2005). "Creatinine versus specific gravity adjusted urinary cadmium concentrations." *Biomarkers In Press*. Szostak WB, Sekula W (1991) TFOM Symposium on "Nutrition in changing Europe" Nutritional implications of changes in Eastern Europe. *Journal of the Nutrition Society* 50, 687-693.
- Vahter (2002). "Mechanisms of arsenic biotransformation." *Toxicology* 181-182: 211-7.
- Vahter and Marafante (1983). "Intracellular interaction and metabolic fate of arsenite and arsenate in mice and rabbits." *Chem Biol Interact* 47(1): 29-44.
- Vahter and Marafante (1987). "Effects of low dietary intake of methionine, choline or proteins on the biotransformation of arsenite in the rabbit." *Toxicol Lett* 37(1): 41-6.
- Vahter, Marafante and Dencker (1984). "Tissue distribution and retention of 74As-dimethylarsinic acid in mice and rats." *Arch Environ Contam Toxicol* 13(3): 259-64.
- Vega, Styblo, Patterson, Cullen, Wang and Germolec (2001). "Differential effects of trivalent and pentavalent arsenicals on cell proliferation and cytokine secretion in normal human epidermal keratinocytes." *Toxicol Appl Pharmacol* 172(3): 225-32.
- Yamauchi and Yamamura (1984). "Metabolism and excretion of orally administered dimethylarsinic acid in the hamster." *Toxicol Appl Pharmacol* 74(1): 134-40.
- Yu, Hsu, Chen and Froines (2000). "Arsenic methylation capacity and Skin cancer." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9(11): 1259-62.

- Zakharyan and Aposhian (1999). "Enzymatic reduction of arsenic compounds in mammalian systems: the rate-limiting enzyme of rabbit liver arsenic biotransformation is MMA(V) reductase." *Chem Res Toxicol* 12(12): 1278-83.
- Zakharyan, Sampayo-Reyes, Healy, Tsapraillis, Board, Liebler and Aposhian (2001). "Human monomethylarsonic acid (MMA(V)) reductase is a member of the glutathione-S-transferase superfamily." *Chem Res Toxicol* 14(8): 1051-7.
- Zakharyan, Wu, Bogdan and Aposhian (1995). "Enzymatic methylation of arsenic compounds: assay, partial purification, and properties of arsenite methyltransferase and monomethylarsonic acid methyltransferase of rabbit liver." *Chem Res Toxicol* 8(8): 1029-38.

## **SPOLUPRACUJÚCE ORGANIZÁCIE**

### ***Partnerské organizácie v štúdiu ASHRAM:***

- Dr Tony Fletcher, koordinátor štúdie ASHRAM a Dr Giovanni Leonardi, zástupca koordinátora štúdie ASHRAM, Public & Environmental Health Research Unit, London School of Hygiene and Tropical Medicine 1 Keppel Street, London WC1E 7HT, UK e-mail: [tony.fletcher@lshtm.ac.uk](mailto:tony.fletcher@lshtm.ac.uk), [giovanni.leonardi@lshtm.ac.uk](mailto:giovanni.leonardi@lshtm.ac.uk)
- Prof. Marie Vahter, Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institute, Box 210, Nobels väg 13, 171 77 Stockholm, Sweden e-mail: [marie.vahter@imm.ki.se](mailto:marie.vahter@imm.ki.se)
- Dr Walter Goessler, Institut für Chemie - Analytische Chemie, Karl-Franzens-Universität, Universitätsplatz 1, A-8010 Graz, Austria e-mail: [walter.goessler@uni-graz.at](mailto:walter.goessler@uni-graz.at)
- Dr Rajiv Kumar a Prof Kari Hemminki  
Division of Molecular Genetic Epidemiology (C050), German Cancer Research Center (DKFZ), Neuenheimer Feld 580, Heidelberg, Germany  
Email: [kari.hemminki@cnt.ki.se](mailto:kari.hemminki@cnt.ki.se), [rajiv.kumar@cnt.ki.se](mailto:rajiv.kumar@cnt.ki.se)
- Dr Peter Rudnai, Division of Env. Health Impact Assessment, National Institute of Environmental Health, 'Jozsef Fodor' National Center of Public Health, Nagyváradi tér 2, Budapest, Hungary, H-1450 e-mail: [rudnaip@okk.antsz.hu](mailto:rudnaip@okk.antsz.hu)
- Dr Eugen Gurzau, Environmental Health Centre, Cetatii 23 A Cluj-Napoca, Romania e-mail: [egurzau@ehc.ro](mailto:egurzau@ehc.ro)
- Dr Kvetoslava Koppová, PhD RÚVZ, Cesta k nemocnici c.1, 975 56 Banská Bystrica, Slovak Republic e-mail: [kvetoslava.koppova@vzbb.sk](mailto:kvetoslava.koppova@vzbb.sk)

### ***Spolupracujúce organizácie v Maďarsku:***

- Chief Public Health Officer of the County, in Counties Bács-Kiskun, Békés, Csongrád, J-Nk-Szolnok
- Hospital Departments of Urology in Kecskemét (County Hosp.), Kiskunhalas, Baja, Kalocsa, Kiskunfélegyháza, Orosháza, Gyula (County Hosp.), Szeged, Szentés (County Hosp.), Hódmezővásárhely, Szolnok, (County Hosp.), Szolnok (MÁV Hosp.)
- Hospital Departments of Dermatology in Kecskemét (County Hosp.), Baja, Gyula (County Hosp.), Szeged, (Univ. Clinic), Hódmezővásárhely, Szentés, Szolnok (County Hosp.), Karcag
- Hospital Departments of General Surgery in: Kecskemét, Kiskunhalas, Baja, Kalocsa, Kiskunfélegyháza, Békéscsaba, Gyula, Orosháza, Szeged, Szentés, Hódmezővásárhely, Makó, Szolnok, Karcag, Jászberény, Mezőtúr

### ***Spolupracujúce organizácie v Rumunsku:***

- Environmental Health Center, Cluj Napoca – the responsible investigator for Romania Regional Public Health Department in Arad and Bihor County Hospital in Arad and Bihor Local Hospitals in Marghita, Salonta, Lipova, Chisinau Cris, Sebis Babes Bolyai University, Department of Geology, Cluj Napoca

***Spolupracujúce organizácie na Slovensku:***

- RÚVZ Banská Bystrica – zodpovedný riešiteľ pre Slovensko;
- RÚVZ: Nitra, Nové Zámky, Levice, Žiar nad Hronom;
- Nemocnice: F.D.R. Banská Bystrica, Nitra, Brezno, Nové Zámky, Levice, Nová Baňa;
- Výskumný ústav vodného hospodárstva Bratislava;
- Geologický ústav Dionýza Štúra, Bratislava;
- Výskumný ústav potravinársky, Bratislava.

***Organizácia, ktorá riadila výživové štúdie:***

- Patrizia Gnagnarella Istituto Europeo di Oncologia Divisione di Epidemiologia e Biostatistica Via Ripamonti, 435, 20141 Milano - Italy

**SPRÁVA  
O TERÉNNEJ PRÁCI  
NA SLOVENSKU“**

---



# **ASHRAM**

ANALÝZA RIZIKA ARZÉNU A MOLEKULÁRNA EPIDEMIOLOGIA

**SPRÁVA O TERÉNNEJ PRÁCI NA SLOVENSKU**

# OBSAH

1. Úvod .....	83
2. Definovanie študovaných oblastí .....	84
3. Organizácie zúčastnené v projekte v Slovenskej republike .....	86
4. Etické aspekty a bezpečnostné opatrenia .....	87
5. Kontrola kvality a zaistenie kontroly epidemiologickej terénnej práce na Slovensku .....	88
5.1 Štandardné protokoly .....	88
5.2 Zaškoloňovacie aktivity .....	88
5.3 Pilotná štúdia .....	89
5.3.1 Počiatočné rozhovory .....	89
5.3.2 Pilotná štúdia .....	89
5.3.3 Štúdie hospitalizovanosti nemocníc .....	90
5.3.4 Retrospektívna štúdia rakovinových ochorení .....	90
5.4 Protokol postupu terénnej práce v študovaných oblastiach Slovenska .....	90
5.4.1 Výber študovanej populácie .....	90
5.4.1.1 Získavanie pacientov prípadov .....	91
5.4.1.2 Získavanie pacientov kontrol .....	91
5.4.2 Výživové štúdie .....	92
5.5 Manažment údajov .....	93
6. Výsledky .....	95
6.1 Prehľad získavania pacientov .....	95
6.2 Účastníci štúdie rozdelení podľa veku a pohlavia .....	96
6.3 Účastníci štúdie podľa miesta bydliska .....	96
6.4 Účastníci štúdie podľa diagnostikovaných ochorení .....	98
6.5 Zber údajov o pacientoch .....	99
6.6 Histologické potvrdenie prípadov rakoviny .....	99
6.7. Odber vzoriek moču a krvi, ich uskladnenie a transport .....	100
6.8 Odbery vzoriek vody .....	101
6.9 Medzinárodný transport vzoriek moču, krvi a vody .....	102

# 1. ÚVOD

Arzén je prvok prirodzene sa vyskytujúci v pôde, ovzduší, vode v rôznych množstvách. Vzhľadom k jeho všeobecnému rozšíreniu môžu byť ľudia exponovaní arzénom rôznymi cestami: inhaláciou z ovzdušia alebo ingesciou z potravín a vody. Pitná voda obvykle obsahuje nízke množstvá anorganického arzénu, namerané množstvá sa pohybujú medzi 0.1 a 0.3 µg/l. Na rôznych častiach sveta sa však arzén geologického pôvodu vyskytuje v pitnej vode vo vyšších množstvách. V strednej Európe sú to oblasti v Maďarsku (Bács-Kiskun, Békés, Csongrád, Jasz-Nagykum-Szolnok) v Rumunsku ( Arad, Bihor) v Slovenskej republike obce v okresoch Banská Bystrica, Brezno, Nové Zámky, Žarnovica, Žiar nad Hronom.

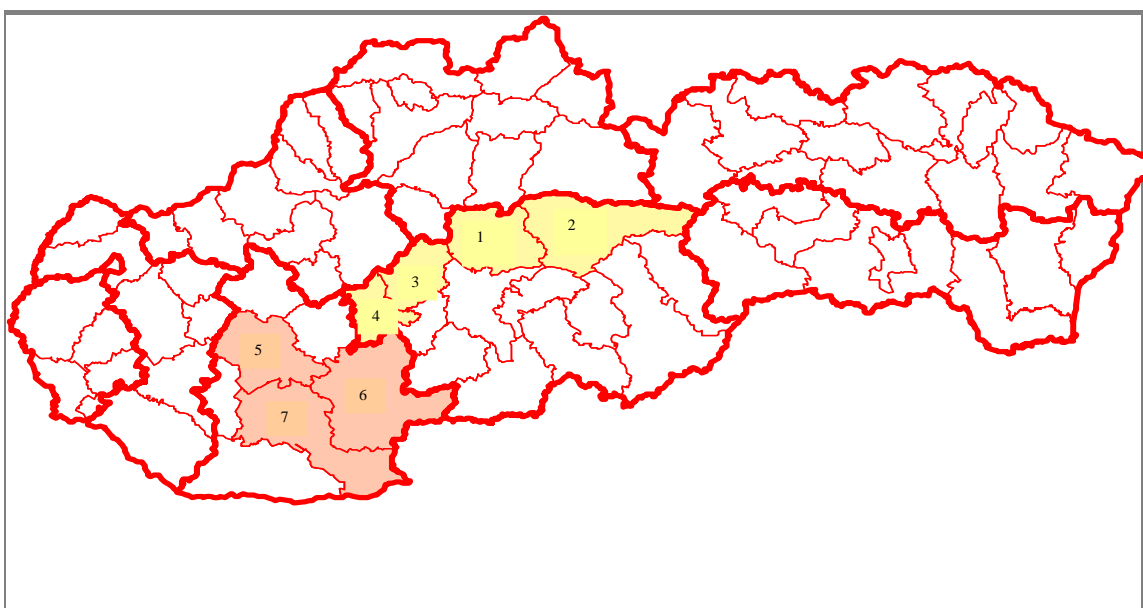
Svetová zdravotnícka organizácia klasifikuje arzén ako ľudský karcinogén a stanovila pre pitnú vodu odporúčanú hodnotu 10 µg/l na základe epidemiologických štúdií, ktoré hodnotili vplyv expozície arzénu z pitnej vody na riziko rakoviny kože v Taiwane.

Smernica Rady 98/83/ES z 3.novembra 1998 o kvalite vody určenej na ľudskú spotrebu stanovila limitnú hodnotu pre obsah arzénu na rovnakej úrovni – 10 µg/l. V Slovenskej republike je limitná hodnota arzénu v pitnej vode stanovená ako najvyššia medzná hodnota tiež na úrovni 10 µg/l.

## 2. DEFINOVANIE ŠTUDOVANÝCH OBLASTÍ

Pre realizovanie projektu ASHRAM boli v Slovenskej republike vybrané oblasti, v ktorých sa nachádzajú obce, v ktorých obyvatelia pijú, resp. pili vodu z verejných vodovodov s obsahom arzénu nad 10 µg/l. Oblasti sú situované v Banskobystrickom a Nitrianskom kraji, spolu 7 okresov: Banská Bystrica, Brezno, Žiar nad Hronom, Žarnovica, Nitra, Levice, Nové Zámky. Okres Nitra bol do projektu zaradený vzhľadom k spádovosti poskytovania zdravotnej starostlivosti.

Obrázok č. 1 Študované oblasti Slovenska



- 1 – Banská Bystrica
- 2 – Brezno
- 3 – Žiar nad Hronom
- 4 – Žarnovica
- 5 – Nitra
- 6 – Levice
- 7 – Nové Zámky

Celkovo v študovaných oblastiach žije 687 807 obyvateľov, z ktorých je 15 392 exponovaných arzénom nad 10 µg/l.

**Tabuľka č. 1 Študované oblasti Slovenska**

Kraj	P.č	Okres	Počet obyvateľov	Populácia exp. As > 10µg/l	% populácie exp. As > 10µg/l
<b>Banskobystrický</b>	1	Banská Bystrica	111 984	702	0.62
	2	Brezno	65 909	5 912	8.96
	3	Žiar nad Hronom	48 125	3 204	6.65
	4	Žarnovica	27 634	75	0.27
<b>Nitriansky</b>	5	Nitra	163 540	0	-
	6	Levice	121 021	2 436	2.01
	7	Nové Zámky	149 594	3 063	2.04
<b>Spolu</b>		<b>687 807</b>	<b>15 392</b>		

Obyvatelia žijú v 330 mestách a dedinách, na základe územného rozdelenia patria do dvoch krajských miest (Banská Bystrica, Nitra), piatich okresných miest, ôsmich miest a 315 dedín.

Z celkového počtu 42% obyvateľov žije v krajských alebo okresných mestách, 58% obyvateľov žije v menších mestách a dedinách. Prevažujúca časť obyvateľstva je pitnou vodou zásobovaná z verejných vodovodov (najmenej 81.4% v okrese Levice, najviac 99.7% v okrese Banská Bystrica) (tabuľka č. 2).

**Tabuľka č. 2 Zásobovanie pitnou vodou v študovaných oblastiach Slovenska**

Okres	% obyvateľov zásobovaných z verejného vodovodu
<b>Banská Bystrica</b>	99.7
<b>Brezno</b>	99.0
<b>Žiar nad Hronom</b>	95.1
<b>Žarnovica</b>	90.1
<b>Nitra</b>	88.2
<b>Levice</b>	81.4
<b>Nové Zámky</b>	92.2

# 3. ORGANIZÁCIE ZÚČASTNENÉ V PROJEKTE V SLOVENSKEJ REPUBLIKE

V Slovenskej republike sa na projekte zúčastnili organizácie:

- Regionálny úrad verejného zdravotníctva Banská Bystrica – zodpovedný riešiteľ projektu v Slovenskej republike
- Regionálny úrad verejného zdravotníctva Nitra
- Regionálny úrad verejného zdravotníctva Levice
- Regionálny úrad verejného zdravotníctva Nové Zámky
- Regionálny úrad verejného zdravotníctva Žiar nad Hronom
- Fakultná nemocnica s poliklinikou F.D. Roosevelta v Banskej Bystrici
- Fakultná nemocnica Nitra
- Nemocnica s poliklinikou Brezno
- Fakultná nemocnica s poliklinikou Nové Zámky
- Nemocnica s poliklinikou Levice
- Nemocnica s poliklinikou Nová Baňa
- Výskumný ústav vodného hospodárstva Bratislava
- Štátny geologický ústav Dionýza Štúra Bratislava
- Výskumný ústav potravinársky Bratislava

## **4. ETICKÉ ASPEKTY A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA**

Etické aspekty a bezpečnostné opatrenia štúdie ASHRAM na Slovensku boli schválené všetkými etickými komisiami zriadenými v nemocniciach (7) a Regionálnych úradoch verejného zdravotníctva (4) zahrnutých v štúdiu.

V RÚVZ Levice nebola zriadená etická komisia, ale etické aspekty a bezpečnostné opatrenia štúdie ASHRAM v okrese Levice boli schválené Etickou komisiou Nemocnice s poliklinikou Levice. Schválenia boli obdržané na základe predloženia kompletného protokolu ASHRAM etickým komisiam v počiatocnom štádiu projektu.

# 5. KONTROLA KVALITY A ZAISTENIE KONTROLY EPIDEMIOLOGICKEJ TERÉNEJ PRÁCE NA SLOVENSKU

Kvalita epidemiologickej terénnej práce na Slovensku bola zaistená štandardnými operatívnymi procedúrami založenými na základe:

- a. štandardných protokolov
- b. zaškoľovacích aktivitách
- c. pilotnej štúdií
- d. protokolu postupu terénnej práce v študovaných oblastiach Slovenska
- e. organizovaním spracovania údajov

## 5.1 ŠTANDARDNÉ PROTOKOLY

Hlavný štandardný protokol bol pripravený centrálnne v úzkej spolupráci s krajinami zodpovednými za vyšetovanie a výskum a skladá sa s nasledujúcich častí:

- Protokol postupu terénnej práce
- Protokol odberu a analýz vzoriek vody a moču
- Návod na zber, uskladnenie a analýzy vzoriek krvi
- Návod na prepravu vzoriek vody, moču, krvi a tkanív
- Hlavný dotazník
- Dotazník výživových zvyklostí
- Návod na spracovanie údajov z hlavného dotazníka
- Návod na spracovanie údajov z dotazníka výživových zvyklostí

Pre hodnotenie profesionálnej expozície bol spracovaný samostatný manuál kódovania adaptovaním metód, ktoré boli úspešne použité v súčasne prebiehajúcej štúdií INCO Copernicus zameranej na rakovinu pľúc, ústnej dutiny a obličiek.

Všetky protokoly a dotazníky boli preložené do slovenského jazyka. V prípade hlavného dotazníka a dotazníka výživových zvyklostí bol urobený spätný preklad so zameraním na identifikáciu nezrovnalostí medzi slovenskou, maďarskou a rumunskou verziou.

Kvôli maďarskej menšine v južnej časti študovaných oblastí Slovenska bola použitá v riadenom rozhovore maďarská verzia formulára súhlasu, informačného formulára a dotazníkov. Vypĺňanie dotazníkov a podpísanie formulára súhlasu bolo ale robené v slovenskom jazyku.

## 5.2 ZAŠKOĽOVACIE AKTIVITY

Na začiatku projektu, počas roku 2002 bolo zorganizovaných niekoľko stretnutí riešiteľov v Slovenskej republike:

- Na začiatku roku 2002 boli zorganizované osobitné stretnutia oficiálnych zástupcov riešiteľských RÚVZ a zástupcov nemocníc zúčastnených v projekte. Cieľom stretnutí bolo informovať zástupcov nemocníc o projekte ASHRAM, začať spoluprácu a zorganizovať schválenie projektu etickými komisiami nemocníc.



- Neskôr boli zorganizované tréningy pracovníkov verejného zdravotníctva a klinikov trikrát počas roka 2002.

Prvé stretnutie, január 2002 - stretnutie riešiteľov projektu zo zúčastnených RÚVZ. Na základe odbornej diskusie boli spracované východiskové materiály: základné demografické údaje, zabezpečovanie zdravotníckej starostlivosti v študovaných oblastiach, opis vodných zdrojov a zásobovanie pitnou vodou, geologické podmienky v študovaných oblastiach atď.

Bolo prehodnotené definovanie študovaných oblastí a do študovaných oblastí bol zahrnutý aj Nitriansky kraj vzhľadom k umiestneniu hlavnej nemocnice v Nitre.

Druhé stretnutie, júl 2002 – okrem pracovníkov verejného zdravotníctva boli pozvaní aj špecialisti z hlavných nemocníc – špecialisti na urológiu a dermatológiu. Deväť vybratých dotazovateľov (lekári verejného zdravotníctva) boli počas stretnutia zaškolení v získavaní údajov od pacientov riadenými rozhovormi. Počas stretnutia bol v spolupráci s klinikmi vypracovaný postup pre realizáciu pilotnej štúdie a postup identifikácie a získavania pacientov-prípádov a pacientov-kontrol.

Tretie stretnutie, december 2002 – na základe skúseností z pilotnej štúdie bolo urobené opakované školenie dotazovateľov. Počas pilotnej štúdie pacienti uprednostňovali riadené rozhovory pred samo-vypĺňaním dotazníkov. Na základe tejto skúsenosti bolo rozhodnuté získať údaje riadenými rozhovormi nie vypĺňaním dotazníkov pacientami.

Hlavný dermatológ v Banskobystrickom kraji zabezpečil školenie slovenských dotazovateľov vo vyšetrovaní rúk pacientov na prítomnosť pigmentových zmien a keratózy. Toto školenie sa riadilo podľa centrálne pripraveného písomného a fotografického protokolu, ktorý bol použitý aj v plnej štúdii.

## 5.3 PILOTNÁ ŠTÚDIA

Pilotná štúdia bola realizovaná v niekoľkých krokoch:

### 5.3.1 POČIATOČNÉ ROZHOVORY

Hlavný dotazník aj dotazník výživových zvyklostí boli vyskúšané v riadených rozhovoroch, ktoré robili dotazovatelia so zamestnancami riešiteľských RÚVZ. Výsledky odskúšania viedli k niekoľkým opravám a zmenám v obsahu dotazníkov.

### 5.3.2 PILOTNÁ ŠTÚDIA

Pilotná štúdia bola realizovaná v troch hlavných nemocniciach v študovaných oblastiach (Nitra, Banská Bystrica, Nové Zámky) na oddeleniach urológie a dermatológie so zameraním na:

- Preveriť postup spolupráce medzi klinikmi na oddeleniach nemocníc a dotazovateľmi riešiteľských RÚVZ
- Preveriť postup informovania pacienta, jeho pozvanie na účasť v štúdii a podpísanie formulára súhlasu
- Preveriť postup vypĺňania hlavného a výživového dotazníka s pacientmi
- Preveriť proces odberu vzoriek biologického materiálu a uskladnenia v zmrazenom stave
- Preveriť postup zaznamenávania informácií o pacientoch a informovania dotazovateľov

### 5.3.3 ŠTÚDIE HOSPITALIZOVANOSTI NEMOCNÍC

Štúdie boli uskutočnené počas pilotnej štúdie ASHRAM vo všetkých nemocniciach študovaných oblastí (7), na všetkých chirurgických (8), traumatologických (4) a ortopedických (3) oddeleniach. Boli zhromaždené všetky hospitalizované prípady z týchto oddelení v časovom období roku 2001 s individuálnymi informáciami o veku, pohlaví a adrese. V Banskobystrickom a Nitrianskom kraji bolo získaných 15 383 chirurgických, traumatologických a ortopedických hospitalizácií. Podľa poslednej verzie Protokolu o postupe terénnej práce bolo predbežne vybraných 5 231 hospitalizácií na základe predpokladaného možného výskytu kontrol. Prevládajúca časť hospitalizácií bola na oddeleniach chirurgie a traumatológie. Výsledkom tejto štúdie bolo rozpracovanie stratégie výberu kontrol.

### 5.3.4 RETROSPEKTÍVNA ŠTÚDIA RAKOVINOVÝCH OCHORENÍ

Retrospektívna štúdia rakovinových ochorení bola realizovaná v Banskobystrickom a Nitrianskom kraji. Boli zhromaždené všetky prípady ochorení na rakovinové ochorenie kože (okrem melanómov) a rakoviny močového traktu v rokoch 1995-1999 s individuálnymi informáciami o veku, pohlaví a mieste bydliska. Výsledkom tejto štúdie bolo približné stanovenie počtu prípadov ochorení na rakovinu pre získavanie údajov pre projekt ASHRAM.

Na základe záverov zo školení a pilotnej štúdie bol pre študované oblasti Slovenska vypracovaný Protokol postupu terénnej práce pripravený podľa centrálnych dokumentov.

## 5.4 PROTOKOL POSTUPU TERÉNEJ PRÁCE V ŠTUDOVANÝCH OBLASTIACH SLOVENSKA

Projekt ASHRAM bol navrhnutý ako prospektívna epidemiologická štúdia prípadov a kontrol. Pri práci v teréne boli dodržiavané postupy podľa protokolu postupu terénnej práce.

### 5.4. 1 VÝBER ŠTUDOVANEJ POPULÁCIE

Pre zber pacientov-prípadov a pacientov-kontrol boli študované oblasti rovnaké, uvedené sú v tabuľke č. 1. Do prospektívnej epidemiologickej štúdie boli zahrnuté nové prípady ochorení na rakovinu kože, močového mechúra a obličiek zo študovaných oblastí, vo vekovom rozpätí 30-79 rokov.

Tabuľka č. 3 Nemocnice a oddelenia zahrnuté do štúdie ASHRAM na Slovensku

Kraj	Okres	Nemocnica	Lôžkové oddelenia				
			urológia	dermatológia	chirurgia	traumatológia	patológia
Banská Bystrica	Banská Bystrica	F.N. Roosevelta	+	+	+	+	+
	Brezno	Brezno	-	-	+	+	+
	Žiar nad Hronom	Žiar nad Hronom	-	-	+	-	+
	Žarnovica	Nová Baňa	-	-	+	-	-
	Levice	Levice	-	-	+	-	-
Nitra	Nové Zámky	Nové Zámky	+	+	+	+	+
	Nitra	Nitra	+	+	+	+	+

Potenciálne prípady rakoviny obličiek a močového mechúra boli identifikované klinikmi na oddeleniach urológie a prípady rakoviny kože na základe histologických vyšetrení vykonaných

patológmi. Všetky nemocnice, 3 urologické, 3 dermatologické, 8 chirurgických, 7 traumatologických a 5 patologických oddelení bolo zahrnutých do štúdie.

Vzorky na histologické vyšetrenie boli zasielané tiež zdravotníckym zariadeniam, ktoré sú umiestnené mimo študovaných oblastí, čo znamená, že okrem všetkých oddelení patológie v už spomenutých nemocniciach (tabuľka č. 3) boli tri ďalšie patologické oddelenia zahrnuté do identifikovania prípadov rakoviny kože.

#### **5.4.1.1 Získavanie pacientov prípadov**

Potenciálne prípady pacientov s rakovinou močového mechúra, obličiek a iných prípadov rakoviny močových ciest identifikovali klinickí pracovníci urológie – na základe vstupných údajov a kritérií podľa centrálneho protokolu.

Klinickí pracovníci na urologickom oddelení boli zodpovední za:

- požiadanie pacienta o podpísanie formulára súhlasu a poskytnutie informačného listu pacientovi
- vyplnenie vstupného formulára klinikom
- odber vzorky krvi a moču a ich uskladňovanie v mrazničke
- informovanie dotazovateľov telefonicky o výbere nových pacientov

Pre identifikovanie prípadov pacientov s rakovinou kože bola prijatá odlišná stratégia pretože pacienti postihnutí týmto typom rakoviny sú prevažne liečení ambulantne na dermatologických ambulanciách a nie v nemocniciach. Prípady pacientov s rakovinou kože boli identifikované na základe histologických vyšetrení, ktoré patológovia zasielali dotazovateľom. Pre účely tohto projektu bol každý nový prípad rakoviny kože zahrnutý do štúdie, vrátane kožnej rakoviny, ktorá sa vyskytla u osoby, ktorá už bola liečená na rakovinu kože.

Pacienti s rakovinou kože identifikovaní komunikáciou pracovníkov nemocníc a pracovníkov RÚVZ pracujúcich v projekte ASHRAM boli pozvaní na samostatné vyšetrenia do nemocnice. Pozvania a vyšetrenia boli uskutočňované špecialistami z dermatológie v troch hlavných nemocniciach na základe špeciálnych pozvánok. Počas stretnutia klinici požiadali pacientov o podpísanie formulára súhlasu a poskytli informačný list, vyplnili vstupný formulár klinika, odobrali vzorky krvi a moču, ktoré uskladnili v mrazničke. Vyplnili formuláre na odber krvi a moču. Súbežne dotazovatelia robili s pacientami riadené rozhovory.

#### **5.4.1.2 Získavanie pacientov kontrol**

Pacienti kontroly boli vyberaní do štúdie na základe samostatného systému za dodržiavania striktných kritérií výberu. Hospitalizovaní pacienti chirurgie a traumatológie vo veku 30-79 rokov boli vyberaní do štúdie podľa veku, pohlavia a miesta bydliska. Museli splniť diagnostické kritériá – do štúdie boli vyberaní pacienti s diagnózami: appendicitída, abdominálna hernia, žlčové kamene, zlomeniny, vredové ochorenie dvanástnika. Pacienti so zhubnými nádormi, cukrovkou, kardiovaskulárnymi ochoreniami neboli zaradovaní do štúdie.

Pre každú nemocnicu boli stanovené predpokladané počty kontrol na základe počtu obyvateľov žijúcich v okrese/regióne.

Všetky nemocnice študovaných oblastí a všetky chirurgické a traumatologické oddelenia boli zahrnuté do výberu a získavania kontrol (tabuľky č. 3 a 4).

Išlo sa podľa špeciálnej rotačnej schémy nemocníc a diagnóz so zameraním na dosiahnutie primeranej distribúcie a vhodného geografického pokrytia diagnóz pacientov-kontrol.

Potenciálne kontroly identifikovali klinici, špecialisti v chirurgii a traumatológii na základe zoznamov spracovaných lokálnymi koordinátormi zúčastnených RÚVZ. Pri každom pacientovi-

kontrole, ktorý bol zaradený do štúdie bol uplatnený rovnaký postup (informovanie, písomný súhlas účastníka, odber vzoriek krvi a moču a uskutočňovanie riadených rozhovorov).

**Tabuľka č. 4 Plánovaný výber pacientov kontrol**

Okres	Kód nemocnice	Populácia	Populácia/1 kontrola	Počet kontrol spolu	
Banská Bystrica	01	111 984	3 953	28	45
Brezno	02	65 909	3 953	17	
Žiar nad Hronom	03	48 125	3 787	13	20
Žarnovica	04	27 634	3 787	7	
Nitra	05	163 540	4 175	39	75
Nové Zámky	06	149 594	4 175	36	
Levice	07	121 021	4 034	30	30
Spolu		<b>687 807</b>		<b>170</b>	

## 5.4.2 VÝŽIVOVÉ ŠTÚDIE

**Súčasťou projektu ASHRAM bolo aj niekoľko výživových štúdií:**

Štúdiá overenia opakovateľnosti údajov  
 Štúdiá overenia vierohodnosti údajov  
 Štúdiá stanovenia koncentrácií As v potravinách

### **Štúdiá overenia opakovateľnosti údajov**

Štúdiá bola realizovaná s cieľom overenia použiteľnosti FFQ na zber údajov o celkovom príjme potravín. Realizovaná bola v skupine dobrovoľníkov. Podľa protokolu výživovej štúdie bolo potrebné zostaviť skupinu 60-tich dobrovoľníkov (50% mužov, 50% žien). S predpokladanou účasťou 70% bolo pozvaných na štúdiu 90 jednotlivcov.

Distribúcia dotazníkov výživových zvyklostí v študovaných oblastiach (okolie BB a NR) bola určená na základe:

- počtu prípadov v každej oblasti
- geografického rozloženia prípadov
- vekového zloženia prípadov

**Tabuľka č. 5 Dotazník výživových zvyklostí – distribúcia v okresoch SR**

Okres	Prípady do mája 2004		Počet dotazníkov výživových zvyklostí
	Počet	%	
Nitra	70	36	18
Nové Zámky+Levice	122	64	32
Kraj Nitra	192	100	50
Brezno	29	19	8
Banska Bystrica+ Žiar nad Hronom+ Žarnovica	120	81	32
Kraj Banská Bystrica	149	100	40

Dobrovoľníci boli získavaní prostredníctvom Poradní zdravia, ktoré sú zriadené na Regionálnych úradoch verejného zdravotníctva v Banskej Bystrici, Nitre a Nových Zámkoch.

Kritériá účasti dobrovoľníkov podľa protokolu boli:

- chronicky chorí ľudia (rakovinové ochorenie, zlyhanie obličiek) a jednotlivci so špeciálnou diétou neboli zahrnutí do štúdie

- do štúdie boli pozývaní jednotlivci rovnakého vekového zloženia, ktorí žili v rovnakých oblastiach ako pacienti zahrnutí v štúdiu ASHRAM
- pred začatím boli účastníci požiadaní podpísať formulár súhlasu

V máji a novembri 2004 boli zorganizované osobitné stretnutia s dobrovoľníkmi, ktoré sa uskutočnili v každej z Poradní zdravia. Počas stretnutí sa vyplňovali dotazníky výživových zvyklostí pod vedením dotazovateľov.

Riadené rozhovory boli vedené tromi dotazovateľmi zaškolenými vo vyplňaní FFQ v hlavnej štúdiu ASHRAM, odborníkmi v oblasti výživy.

### **Štúdia overenia vierohodnosti údajov**

Štúdia bola realizovaná s cieľom overenia vierohodnosti FFQ dotazníkov na zber údajov o príjme tekutín. Realizovaná bola v skupine tých istých dobrovoľníkov ako štúdia overenia opakovateľnosti. Dobrovoľníci boli požiadaní o dovoľenie prijať 10 telefonátov od školeného odborníka na výživu (jeden telefonát za mesiac vrátane víkendu) pre otestovanie dotazníkov výživových zvyklostí. Boli požiadaní o poskytnutie telefónneho čísla a špecifikovanie hodiny kedy je možné ich kontaktovať. Počas telefonátu boli dobrovoľníci požiadaní poskytnúť detailné informácie týkajúce sa všetkého jedla a pitia, ktoré skonzumovali za predchádzajúcich 24 hodín. Telefonáty neboli vopred dohodnuté.

Tieto telefonáty boli uskutočňované siedmimi odborníkmi vo výžive.

Bola vypracovaná špeciálna Príručka „Atlas potravín“ s fotkami tanierov, pohárov, príborov a porcií jedál ako pomôcka pre dobrovoľníkov na kvalifikovanie množstva skonzumovaného jedla. Každý z dobrovoľníkov obdržal tento atlas na prvom stretnutí.

Ako súčasť štúdie bol uskutočnený aj prieskum „Objemu tekutín“ so zameraním na približné určenie objemu bežne používaných nádob na pitie v domácnostiach dobrovoľníkov (sklené poháre, hrnčeky, misky). Merania boli robené pomocou špeciálnych odmeriek, ktoré boli poskytnuté každému dobrovoľníkovi. Na zaznamenávanie a vyhodnocovanie prijímania jednotlivca za deň a kalkuláciu chemického zloženia a energetickej hodnoty stravy a jedál skonzumovaných počas dňa bol použitý software Alimenta (Výskumný ústav potravinársky, Bratislava, Slovensko 2004) s použitím Slovenskej potravinovej databázy (Výskumný ústav potravinársky, Bratislava, Slovensko, 2002)

## **5.5 MANAŽMENT ÚDAJOV**

Na spracovanie údajov bol použitý Auto Data Software, ktorý umožňuje zostaviť vstupné systémové dáta použitím rýchleho skeneru a zapísať informácie z dotazníkov do databázy.

Auto Data software bol nainštalovaný v RÚVZ v Banskej Bystrici. Zaškolenie v používaní software bolo na pracovisku jedného z partnerov projektu – Cluj, Rumunsko.

Príprava oboch dotazníkov – hlavného a výživových zvyklostí bola spracovaná v MMS Word na základe anglických verzií šablón, ktoré boli preložené a verifikované. Šablóny v angličtine pre všetky druhy formulárov boli formátované a distribuované do LSHTM. Následne boli pripravené slovenské verzie, ktoré boli presnými kópiami originálnych.

Všetky políčka v dotazníkoch boli definované v príprave šablón v súlade s manuálom manažmentu údajov. Vytvorené priečinky pre každú sekciu hlavného dotazníka a dotazníka výživových zvyklostí boli uchovávané v troch nezávislých médiách.

Následne boli pripravené MS Access databázy a naskenované kompletne vyplnené dotazníky v poradí, v akom prichádzali do centra riešenia projektu RÚVZ Banská Bystrica. Naskenované údaje boli priebežne zálohované a zasielané do LSHTM.

### ***Zmeny v dotazníkoch***

Počas získavania údajov riadenými rozhovormi boli zmenené niektoré otázky hlavného dotazníka i dotazníka výživových zvyklostí. Z tohto dôvodu boli vytvorené dve verzie databázy hlavného dotazníka.

Celkový počet prípadov/kontrol v pôvodnej verzii: 170

Celkový počet prípadov/kontrol v novej verzii: 320

Zmeny dotazníka výživových zvyklostí boli vyriešené zmenami relevantných položiek.

### ***Ďalšie databázy***

Všetky ostatné databázy boli vytvorené v MS Access. Išlo o štyri samostatné databázy, vstupný formulár účastníka, formulár na vzorku moču, formulár na vzorku krvi a vstupný formulár pacienta.

Všetky MS Access súbory boli po zozbieraní preposlané do LSHTM.

### ***Čistenie údajov***

Čistenie údajov bolo robené podľa súborov typu log, ktoré boli pripravované v LSHTM. Všetky nezrovnalosti zistené čistením týchto súborov boli kontrolované priamo porovnaním s vyplnením údajov v originálnom dotazníku. Keď bol problém identifikovaný, bola otvorená príslušná access databáza a údaj bol opravený. Po prvom čistení boli očistené databázy odoslané naspäť do LSHTM. Tento proces sa opakoval dovtedy, kým nebola zostavená čistá databáza údajov.

## 6. VÝSLEDKY

Plná fáza projektu začala 1. januára 2003. Epidemiologická časť práce bola zameraná na vyhľadávanie vhodných pacientov z urologických, dermatologických, chirurgických a traumatologických oddelení v nemocniciach, na registráciu pacientov a ich príjem do štúdie.

### 6.1 PREHĽAD ZÍSKAVANIA PACIENTOV

Celkový počet pacientov pozvaných do štúdie bol 730, z nich 25 (3.5 %) muselo byť vylúčených a 215 (29.5%) účasť v štúdiu z rôznych dôvodov odmietlo (tabuľka č. 6).

Tabuľka č. 6 Prehľad získavania pacientov

Počet pacientov	Kraj		Celkovo
	Banská Bystrica	Nitra	
Pozvaní do štúdie	309	421	730
Súhlasili	235	280	515
Odmietli	74	141	215
Zúčastnili sa	226	264	490
Vylúčení z dôvodu negatívnej histológie	7	13	20
Vylúčení z iných dôvodov	2	3	5

Tabuľka č. 7 Pacienti, ktorí odmietli účasť v štúdiu

Oddelenie	Kraj		Celkovo
	Banská Bystrica	Nitra	
Urológia	30	26	56
Dermatológia	35	96	131
Chirurgia a traumatológia	9	19	28
Celkovo	74	141	215

Niektoré urologické prípady boli identifikované v štádiu, keď vyšetovania na potvrdenie rakoviny prebiehali a diagnózy ešte neboli potvrdené.

Z dôvodu negatívnej histológie bolo po ukončení histologických vyšetrení vylúčených 20 pacientov z urologických oddelení, po zistení pozitívnej anamnézy na rakovinové ochorenie boli vylúčení 3 pacienti, jeden pacient býval mimo študovanej oblasti a jeden zomrel pred uskutočnením riadeného rozhovoru.

Celkovo 215 (29.5 %) pacientov odmietlo spolupracovať v štúdiu, z toho najviac bolo pacientov z dermatológie 132 (61%), ďalej 56 (26%) urologických pacientov a nakoniec chirurgickí a traumatologickí pacienti v počte 28 (13%) (tabuľka č. 7). Pri získavaní pacientov s nádorovým ochorením kože bola uplatnená osobitná stratégia, kedy pacienti s histologicky potvrdeným ochorením na kožnú rakovinu boli pozývaní na vyšetrenie odborníkmi-dermatológmi. Pre tento prípad boli vypracované špeciálne pozývacie listy a v prípade Banskobystrického kraja boli pacienti písomne pozývaní opakovane a v niektorých prípadoch aj telefonicky.

Vyššia účasť dermatologických pacientov v Banskobystrickom kraji bola pravdepodobne výsledkom silnejšej snahy o dosiahnutie úspechu zo strany klinikov a dotazovateľov.

## 6.2 ÚČASTNÍCI ŠTÚDIE ROZDELENÍ PODĽA VEKU A POHLAVIA

Celkovo bolo do štúdie zaradených 490 pacientov, z toho 278 u mužov (56.73%) a 212 (43.27%) žien (tabuľka č. 8).

**Tabuľka č. 8 Účastníci štúdie rozdelení podľa pohlavia**

Pohlavie	Prípady		Kontroly		Celkovo	
	Počet	%	Počet	%	Počet	%
<b>Muži</b>	203	42.82	75	55.56	278	56.73
<b>Ženy</b>	152	57.18	60	44.44	212	43.27
<b>Celkovo</b>	355	100	135	100	490	100

Pokiaľ ide o vekové zloženie, prevažujúca časť pacientov zaradených do štúdie patrila do kategórií vyššieho veku. Z celkového počtu vybraných pacientov bolo 84.89% vo vekovej kategórii nad 50 rokov, len 15% vybraných pacientov bolo vo vekovej kategórii pod 50 rokov (tabuľka č. 9).

**Tabuľka č. 9 Účastníci štúdie rozdelení podľa veku**

Vekové kategórie	Prípady		Kontroly		Celkovo	
	Počet	%	Počet	%	Počet	%
<b>&lt; 50</b>	47	13.24	27	20.0	74	15.0
<b>50-59</b>	70	19.27	39	28.89	109	22.24
<b>60-69</b>	111	31.27	39	28.89	150	30.61
<b>70-79</b>	127	35.77	30	22.22	157	32.04
<b>Celkovo</b>	355	100	135	100	490	100

## 6.3 ÚČASTNÍCI ŠTÚDIE PODĽA MIESTA BYDLISKA

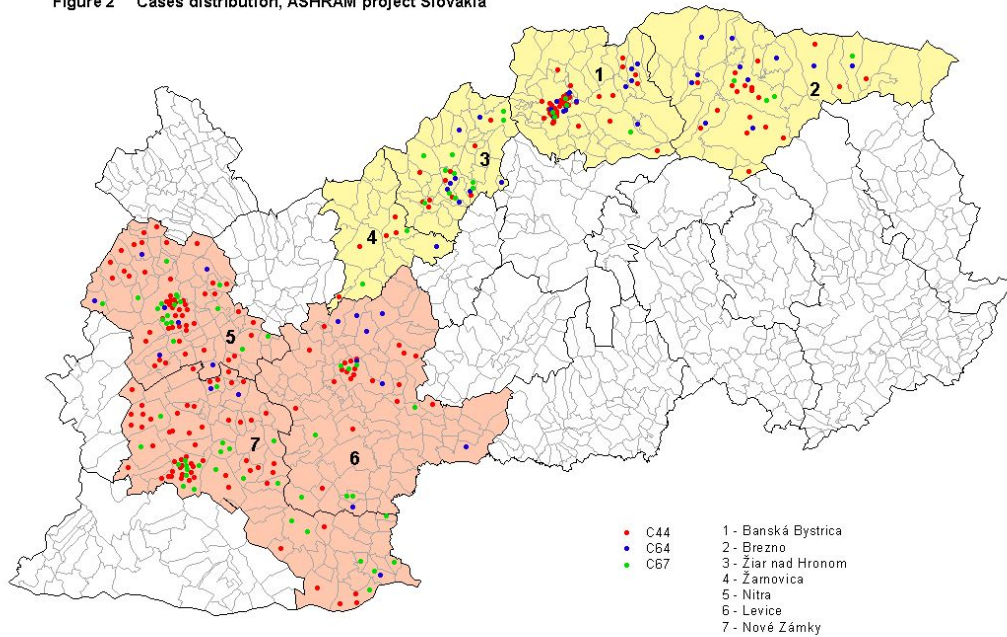
Výber prípadov bol vzhľadom na geografickú distribúciu študovaných oblastí proporcionálny. Z celkového počtu pacientov malo 48.73% bydlisko v regionálnych alebo okresných mestách a 51.27% pacientov malo bydlisko v menších mestách a dedinách. Podobná distribúcia sa týkala aj pacientov-kontrol, kde 51.11% z celkového počtu vybraných kontrol žilo v regionálnych a okresných mestách a 48.89% žilo v menších mestách a dedinách (tabuľka č. 10). Geografickú distribúciu prípadov a kontrol znázorňujú obrázky č. 2 a 3.



Obrázok č. 2

Geografická distribúcia prípadov

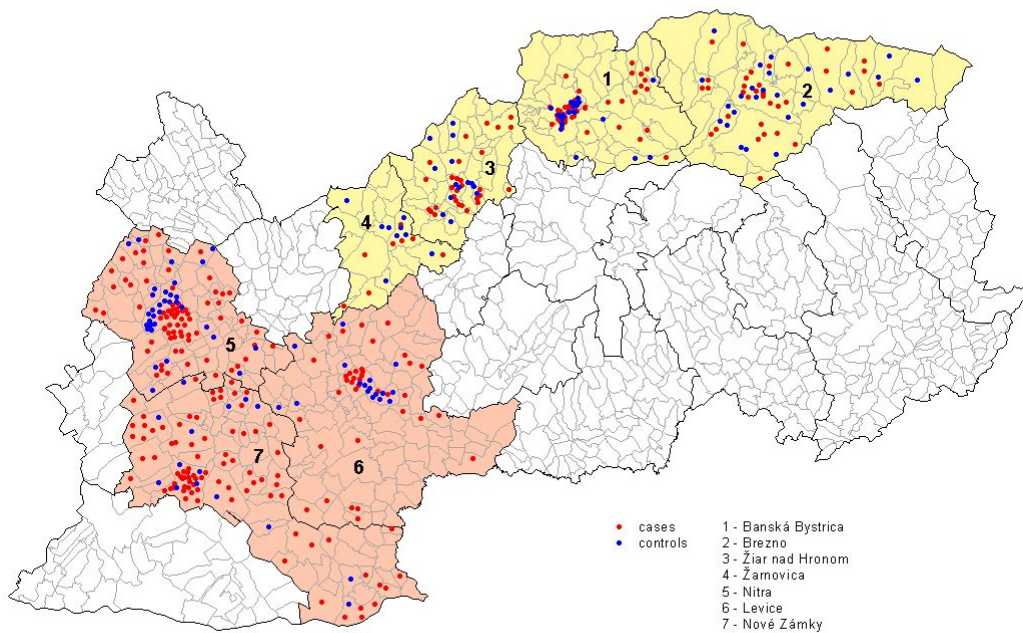
Figure 2 Cases distribution, ASHRAM project Slovakia



Obrázok č. 3

Geografická distribúcia prípadov a kontrol

Figure 3 Cases and controls distribution, ASHRAM project Slovakia



**Tabuľka č. 10 Účastníci štúdie podľa miesta bydliska**

	Prípady		Kontroly		Celkovo	
	Počet	%	Počet	%	Počet	%
<b>Krajské mestá</b>	102	28.73	36	26.67	138	28.16
<b>Okresné mestá</b>	71	20.00	33	24.44	104	21.22
<b>Malé mestá</b>	18	5.07	3	2.22	21	4.29
<b>Dediny</b>	164	46.20	63	46.67	227	46.33
<b>Celkovo</b>	355	100	135	100	490	100

## 6.4 ÚČASTNÍCI ŠTÚDIE PODĽA DIAGNOSTIKOVANÝCH OCHORENÍ

Celkovo bolo zaradených 355 prípadov, z toho 230 boli pacienti s rakovinou kože, 73 s rakovinou močového mechúra a 52 pacientov s rakovinou obličiek (tabuľka č. 11).

**Tabuľka č. 11 Diagnostikované prípady rakoviny**

Kraj	Okres	Rakovina kože	Rakovina močového mechúra	Rakovina obličiek
<b>Banská Bystrica</b>	Banská Bystrica	66	5	13
	Brezno	19	4	12
	Žiar nad Hronom	11	11	9
	Žarnovica	4	2	0
	Nitra	51	18	7
<b>Nitra</b>	Levice	21	8	8
	Nové Zámky	58	25	3
<b>Celkovo</b>		<b>230</b>	<b>73</b>	<b>52</b>

### *Pacienti-kontroly podľa diagnostických skupín*

Do štúdie bolo zaradených 135 pacientov – kontrol, ktorých väčšinu tvorili pacienti s ochorením – žlčové kamene 43 (31.8%), abdominálna hernia 42 (31.1%) a pacienti so zlomeninami 40 (29.6%). Menšiu časť kontrol tvorili pacienti s appendicitídou 6 (4.4%) a vredovým ochorením dvanástnika 4 (3.0%) (tabuľka č. 12). Geografická distribúcia kontrol nebola proporcionálne dosiahnutá z toho dôvodu, že ochorenie apendicitída vo vyššej vekovej kategórii je len ojedinele diagnostikované a vredové ochorenie dvanástnika je diagnostikované hlavne u nehospitalizovaných pacientov.

**Tabuľka č. 12 Pacienti – kontroly podľa diagnostických skupín**

Diagnostická skupina	Počet	%
<b>K40 – 46</b>	42	31.1
<b>K 80</b>	43	31.8
<b>K 35</b>	6	4.4
<b>K26</b>	4	3.0
<b>S 02 – S 92</b>	40	29.6
<b>Celkovo</b>	135	100

K 35 – K 38 Appendicitída; K 40 – K 46 Abdominálna hernia; K 26 Vredové ochorenie dvanástnika; K 80 Žlčové kamene; S 02 – S 92 Zlomeniny

## 6.5 ZBER ÚDAJOV O PACIENTOCH

Údaje týkajúce sa každého účastníka boli zozbierané pomocou vypracovaných dotazníkov, ktoré tvorili:

Hlavný dotazník – obsahuje základné demografické údaje, osobnú a rodinnú zdravotnú anamnézu, pracovnú anamnézu, detailné záznamy o type a zdroji pitnej vody a otázky týkajúce sa životného štýlu, vrátane fajčenia a opaľovania sa.

Dotazník výživových zvyklostí – zameraný na výživové zvyklosti, zložený z dvoch častí – časť obsahujúca hodnotenie výživových zvyklostí pred rokom 1989 a časť obsahujúca hodnotenie výživových zvyklostí po roku 1989. Obidva druhy dotazníkov boli vyplňované riadenými rozhovormi, s cieľom získať presné údaje a na základe skúseností a výsledkov z pilotnej štúdie kde účastníci štúdie preferovali riadené rozhovory pred samovyplňaním dotazníkov .

Časové rozpätie rozhovorov sa pohybovalo medzi 1.5 až 2 hodiny a záviselo od veku a zdravotného stavu účastníkov.

Z celkového počtu pacientov zúčastnených v štúdiu dvaja z nich odmietli vyplniť dotazník výživových zvyklostí (tabuľka č. 13). Podľa názoru a skúseností dotazovateľov hlavným dôvodom komplikácií s vyplňaním Dotazníka výživových zvyklostí bolo spojenie vyhodnocovanie výživových zvyklostí v časovom období pred rokom 1989 a po roku 1989. Prevažná časť pacientov mala problém pamätať na to počas rozhovoru.

Tabuľka č. 13 Používanie formulárov

Formuláre	Kraj		Celkovo
	Banská Bystrica	Nitra	
Formulár súhlasu	235	280	515
Vstupný formulár pacienta	235	280	515
Vstupný formulár klinika	235	280	515
Formulár odberu vzorky krvi	235	280	515
Formulár odberu vzorky moču	235	280	515
Hlavný dotazník	226	264	490
Dotazník výživových zvyklostí	226	262	488

## 6.6 HISTOLOGICKÉ POTVRDENIE PRÍPADOV RAKOVINY

U všetkých pacientoch boli analyzované záznamy histologických vyšetrení podľa typu nádorového ochorenia a v prípade rakovinového ochorenia kože aj podľa lokalizácie na tele pacienta.

Z celkového počtu 230 pacientov s rakovinou kože bol u 209 pacientov potvrdený bazocelulárny karcinóm, u 19 pacientov spinocelulárny karcinóm a 2 pacienti mali zmiešaný typ karcinómu kože.

Z pohľadu lokalizácie na tele pacientov prevažná časť karcinómu rakoviny kože -168 (73.04%) bolo zisťovaných na rôznych častiach hlavy (C44-C44.4), menšia časť karcinómu rakoviny kože – 60 (26.29%) bola zisťovaná na rukách, nohách a na hrudníku pacientov (tabuľka č. 14).

**Tabuľka č. 14 Prípady rakoviny kože podľa typu nádoru a lokalizácie na tele**

Diagnóza	BCC	BCC-SCC	SCC	Celkovo
<b>C44-C44.4</b>	149	2	17	168
<b>C44.5-C44.7</b>	60	0	2	62
<b>Celkovo</b>	209	2	19	230

C44-C44.4 ICD 10 – lokalizácia na rôznych častiach hlavy; C44.5-C44.7 ICD 10 – lokalizácia na hrudníku, nohách, rukách

Systém histologickej klasifikácie nádorov nie je medzinárodne zjednotený, a vo vnútri krajiny závisí na vedomostiach a odborných zručnostiach patológov. Obsah histologických záznamov nie je jednotný, čo prináša vážne problémy v ich interpretácii. Vzhľadom k tomu boli histologické záznamy urologických pacientov hodnotené individuálne, čo bolo dôležité najmä pre genetické vyšetrenia.

## **6.7. ODBER VZORIEK MOČU A KRVI, ICH USKLADNENIE A TRANSPORT**

Každému pacientovi, ktorý sa zúčastnil štúdie boli po podpísaní písomného súhlasu odobraté vzorky moču a krvi.

Vzorky krvi na urologických, dermatologických, chirurgických a traumatologických oddeleniach odoberali sestry a ihneď ich uskladňovali v mrazničkách.

Prevažnú časť vzoriek moču odoberali pacienti po inštrukcii sestry a rovnako boli uložené v mrazničke. V prípade, že nebolo možné zobrať vzorku moču (pacient zjedol huby, rybu alebo iné morské živočíchy 3 dni pred prijatím do nemocnice), vzorky moču boli odobraté neskôr pri kontrolnej návšteve pacienta na základe pozvania.

Vzorky krvi a moču zo všetkých nemocníc v študovaných oblastiach boli prevezené v chladiacich boxoch do RÚVZ Banská Bystrica a uschované v mraziacich boxoch (- 80°C).

Počet odobratých vzoriek krvi a moču bol vyšší ako počet pacientov zúčastnených na štúdiu, pretože 25 pacientov bolo vyradených z dôvodov, ktoré boli zistené až po odbere vzoriek.

**Tabuľka č. 15 Počet pacientov, vzoriek krvi a moču**

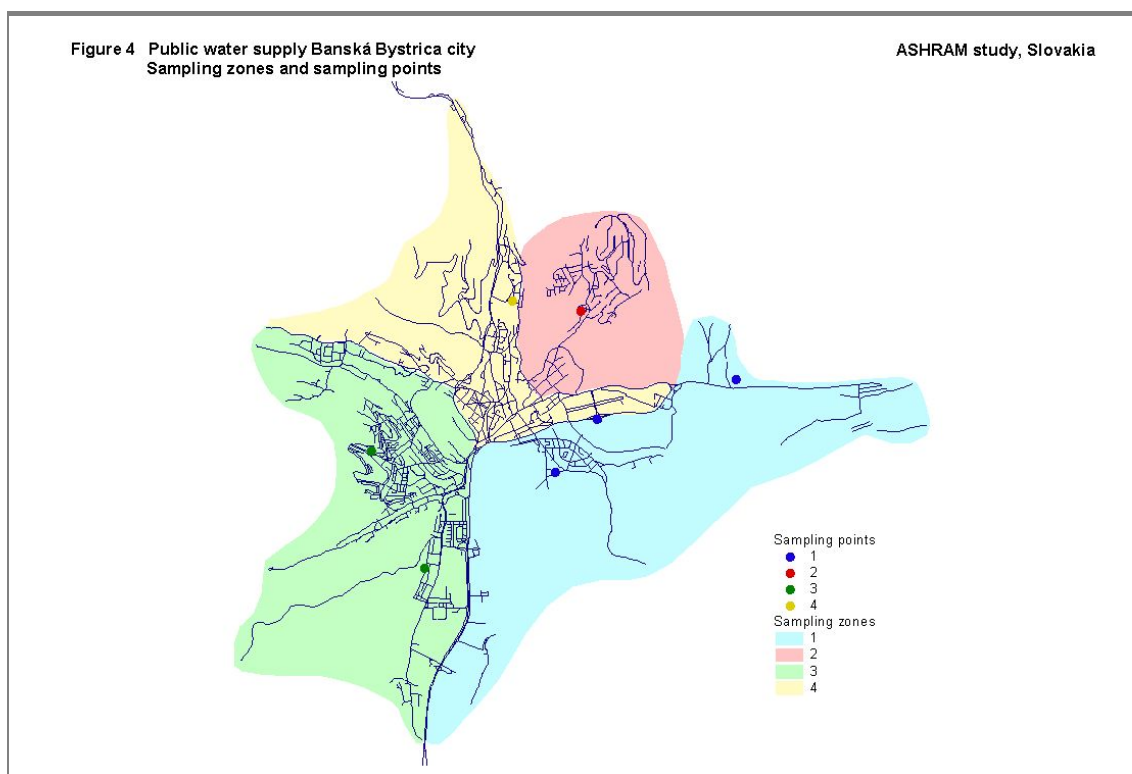
Počet pacientov	
Prípady	355
Kontroly	135
Celkovo	490
<b>Odobraté vzorky krvi</b>	515
<b>Odobraté vzorky moču</b>	515

## 6.8 ODBERY VZORIEK VODY

Zásobovanie pitnou vodou v študovaných oblastiach bolo pred začatím odberov vzoriek vody analyzované a boli zozbierané základné informácie o vodných zdrojoch zásobujúcich verejné vodovodné systémy. V každom verejnom vodovodnom systéme boli identifikované odberové zóny a odberové body a vo veľkých mestách boli zobrať do úvahy všetky vodné zdroje. Napr. mesto Banská Bystrica, ktoré je zásobované z 25-tich vodných zdrojov bolo rozdelené do štyroch odberových zón.

Každá odberová zóna reprezentuje jednu skupinu vodných zdrojov a vzorky vody odobraté z odberového bodu reprezentujú zmes vody definovanej skupinou vodných zdrojov.

**Obrázok č. 4** Verejné zásobovanie pitnou vodou v meste B.Bystrica; odberové zóny a odberové body



Informácie o vodných zdrojoch bydliska a pracovísk každého účastníka boli získané z vyplneného hlavného dotazníka a skompletizované dodatočnými informáciami na príslušnom RÚVZ zúčastnenom na štúdiu. Veľa pacientov nebolo schopných identifikovať vodný zdroj, najmä ak išlo o verejný vodovod. V takých prípadoch bol zdroj indetifikovaný RÚVZ v spolupráci s prevádzkovateľmi verejných vodovodov. Vzorky vody odoberali dvaja pracovníci, zodpovední za odbery i spracovanie súvisiacej dokumentácie, s odbornou spôsobilosťou na odbery vzoriek vody.

Vzorky vody z odberových lokalít boli ihneď transportované v chladiacich boxoch do RÚVZ Nitra (pre Nitriansky kraj) a do RÚVZ Banská Bystrica (pre Banskobystrický kraj), kde boli uskladnené v chladničkách až do transportu do Rumunsku na analyzovanie.

Spolu bolo odobratých 484 vzoriek vody, ktoré boli priradené 490-tim pacientom zahrnutým do štúdie . Osobitná pozornosť bola venovaná zhodnoteniu vyšetrovacích metód, ktoré boli používané pri analýzach As v pitnej vode v minulosti. Na základe posúdenia hodnovernosti používaných metód detekcie (posúdenie vykonalo pracovisko zodpovedné za kvalitu používaných vyšetrovacích metód – Univerzita v Grazi, Rakúsko) As v pitných vodách v

minulosti bol prijatý záver, že výsledky koncentrácií vo verejných vodovodoch po roku 1989 zodpovedajú požiadavkách QA/QC a môžu byť použité pre hodnotenie expozície.

V tejto súvislosti bola vypracovaná samostatná databáza historických údajov o koncentráciách As v pitných vodách z výsledkov zúčastnených RÚVZ a vodárenských spoločností.

Spolu bolo do databázy zahrnutých cca 1500 výsledkov analýz za obdobie rokov 1989 až 2009, osobitne pre každé osídlenie zahrnuté v štúdií (spolu 330 sídiel).

Verejné vodovody kde koncentrácie arzénu v pitnej vode boli podstatne znížené následkom realizovaných opatrení prijatých na základe zmeny limitu arzénu schválenej Ministerstvom zdravotníctva SR na hodnotu 10 µg/l vody, boli hodnotené samostatne.

## 6.9 MEDZINÁRODNÝ TRANSPORT VZORIEK MOČU, KRVI A VODY

Transport vzoriek počas trvania projektu ASHRAM bol realizovaný 7 krát za dodržania osobitných plánov transportu a osobitných podmienok transportu. Vzorky moču a krvi boli transportované v zmrazenom stave a vzorky vody boli chladené.

Vzorky boli zozbierané u partnerov v Maďarsku, Slovensku a Rumunsku a prepravované spoločne s kompletným zoznamom vzoriek. Kompletné zoznamy vzoriek boli poslané vopred elektronickou poštou prijímateľovi so zámerom skontrolovať, v akom stave boli vzorky doručené.

Všetky vzorky moču a krvi boli transportované v chladničkách s mokrým ľadom a pripojených na elektriku v aute.

Každý transport začal skoro ráno na Slovensku v RÚVZ Banská Bystrica odkiaľ boli vzorky moču a krvi prepravené do Budapešti. V Budapešti boli vzorky krvi ihneď vyložené a uložené v mrazničkách a auto bolo následne naložené vzorkami vody z Maďarska a cesta pokračovala do Oradea v Rumunsku, kde prebehla výmena vzoriek s kolegami z Rumunska. Rumunské vzorky moču a krvi boli naložené do slovenských áut a maďarské a slovenské vzorky vody boli transportované do Rumunska. Slovenské autá sa vrátili do Budapešti v ten istý deň, kde boli rumunské vzorky krvi vyložené a naložené maďarské vzorky moču. Potom sa slovenské auto vrátilo na Slovensko do RÚVZ BB. Celý tento transport bol uskutočnený počas jedného dňa, všetky vzorky krvi boli uschované v Budapešti, všetky vzorky moču na Slovensku a vzorky vody v Rumunsku.

S cieľom vyhnúť sa problémom na hraniciach bolo pripravené špeciálne potvrdenie v jazykoch zúčastnených krajín a v anglickom jazyku, ktoré obsahuje informáciu, že vzorky vody nie sú toxické, rádioaktívne, ani infekčné a sú majetkom Komisie Európskych spoločností.

Čas prepravy sa pohyboval medzi 16-timi a 17-timi hodinami, vzorky boli prepravené a odovzdané prijímateľom v dobrom stave, vzorky moču a krvi boli v zmrazenom stave.

Počas roku 2003 RÚVZ Banská Bystrica zmenil metódu určovania metabolitov arzénu. Zmeny techniky vyšetrovania nepriniesli vyššiu citlivosť metód určovania metabolitov arzénu v moči. V dôsledku nedostatočnej citlivosti metód v RÚVZ Banská Bystrica koordinátor projektu rozhodol presunúť merania metabolitov As v moči do laboratórií na Univerzite Graz, Rakúsko. Tejto situácii bola prispôsobená aj preprava vzoriek moču, ktoré boli prepravené do Rakúska.

**PREDNÁŠKY  
Z ODBORNÉHO SEMINÁRA  
„HODNOTENIE  
ZDRAVOTNÝCH RIZÍK  
Z EXPOZÍCIE ARZÉNU  
KONANÉHO 20. JANUÁRA  
2009 V BANSKEJ BYSTRICI**

---

- MUDr. Eleonóra Fabiánová, PhD:  
Výskyt arzénu v životnom prostredí, cesty expozície ľudí a zdravotné dôsledky expozície
- doc. RNDr. Stanislav Rapant, CSc.:  
Výskyt arzénu v pôde a podzemných vodách vo vybratých oblastiach SR
- Tony Fletcher, MD, PhD  
Predstavenie projektu ASHRAM – Arsenic Health Risk Assessment and Molecular Epidemiology
- MUDr. Kvetoslava Koppová, PhD  
Materiál a metódy projektu ASHRAM
- Ing. Marek Drímal, PhD  
Výsledky hodnotenia expozície cestou pitnej vody
- MUDr. Ivana Sedláčiková, MPH  
Výsledky hodnotenia expozície cestou potravín
- Tony Fletcher, MD, PhD  
Výsledky epidemiologickej štúdie výskytu rakoviny obličiek, močového mechúra a bazocelulárneho karcinómu kože u študovanej populácie
- Tony Fletcher, MD, PhD  
Hodnotenie zdravotných rizík z príjmu arzénu, odhad vplyvu expozície arzénu na riziko rakoviny obličiek, močového mechúra a bazocelulárneho karcinómu kože
- MUDr. Katarína Slotová, PhD  
Manažment zdravotných rizík a implementovanie opatrení na zníženie zdravotných rizík
- MUDr. Kvetoslava Koppová, PhD  
Odporúčania pre prax verejného zdravotníctva