



Možnosti objektivizácie expozície tabakovému dymu – analýza biologického materiálu

Zuzana Vassányi, Eva Krčmová

Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici

zuzana.vassanyi@vzbb.sk; eva.krcmova@vzbb.sk

Po slnečnom UV svetle je tabakový dym najčastejším karcinogénnym faktorom, ktorému sme vystavení!



>4000 zložiek:

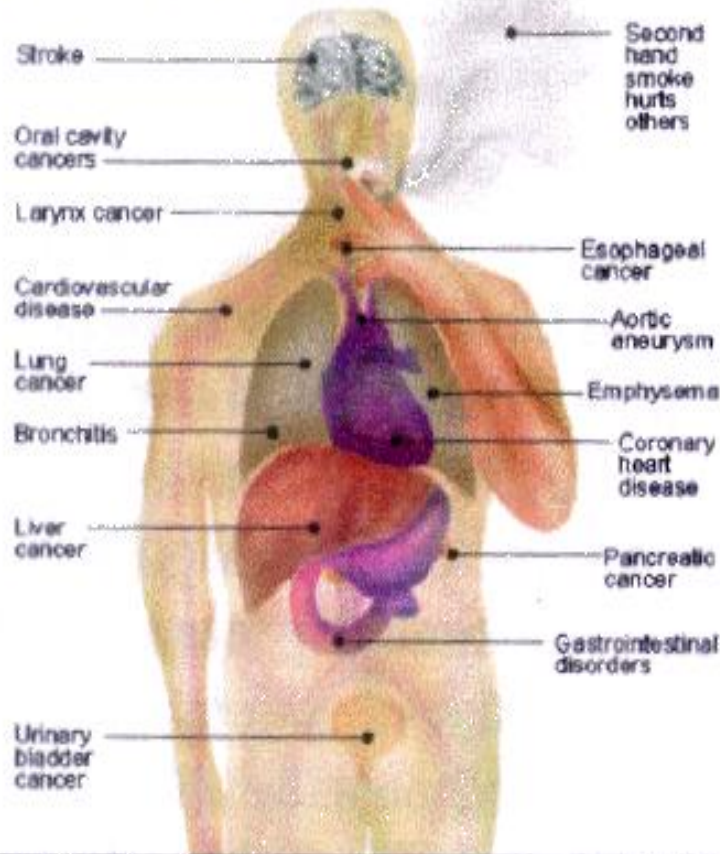
Prchavé organické látky – acetón, benzén, toluén, styrén, etylbenzén, metanol, fenol, vinylchlorid... formaldehyd, acetaldehyd, akrolein... amoniak, CO, kyanovodík... aromatické a polyaromatické uhľovodíky... kovy (Pb, Cd, Hg, Po²¹⁰) nitrozamíny, nitroderiváty... alkaloidy (nikotín, myosmin) reziduá pesticídov a insekticídov ...

~50 karcinogénov

Zdravotné riziká fajčenia

Nicotine's dangers

After being inhaled in tobacco smoke, nicotine reaches the brain in six-to-eight seconds, giving the smoker a rush that becomes addictive. Goopy residues in tobacco smoke known as "tar" cause cancer, emphysema and bronchitis. They also convert some of the nicotine into a cancer-causing agent. All of these carcinogens affect a number of organs in the body.



Source: AP research

APU, Axamethy

Nádorové ochorenia

pľúc a dýchacích ciest, ústnej dutiny, močového mechúra, GIT, pankreasu...

Kardiovaskulárne ochorenia

infarkt myokardu, aneurizma aorty...

Choroby dýchacích ciest

chronické infekcie, alergie, astma...

Následky fajčenia rodičov u detí

predčasný pôrod, nízka pôrodná váha, syndróm náhleho úmrtia kojencov, alergie a astma v detskom veku ...

Pasívne fajčenie

riziko kardiovaskulárnych ochorení sa zvyšuje:

v domácom prostredí

20 - 30%

na pracovisku

12 - 19%

Denná konzumácia tabakových výrobkov u dospeljej populácie

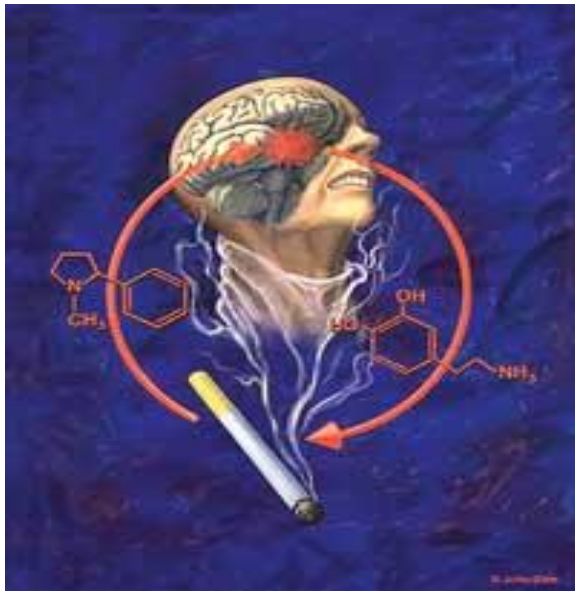
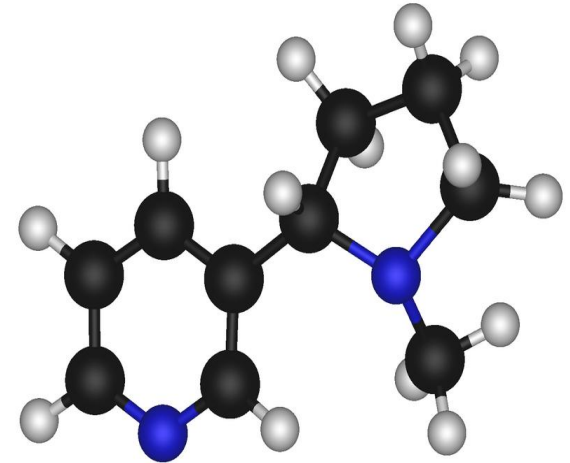
Krajina	Muži (%)			Ženy (%)		
	r. 2002	r. 2005	Relatívna zmena	r. 2002	r. 2005	Relatívna zmena
Švédsko	16,3	14,4	-1,9	19,4	18,1	-1,3
Island	22,8	19,4	-3,4	22,8	19,7	-3,1
Švajčiarsko	25,3	23,6	-1,7	18,8	17,7	-0,8
Česká republika	30,1	30,0	-0,1	21,5	20,7	-0,8
Poľsko	40,2	37,6	-2,6	23,5	23,3	-0,2
Slovensko	35,0	34,8	-0,2	15,1	15,5	0,4
Maďarsko	39,3	39,0	-0,3	29,1	29,7	0,6
Rakúsko	40,4	41,3	0,9	36,5	40,0	3,5
Ukrajna	58,1	57,7	-0,4	15,5	18,7	3,2
Bielorusko	57,7	57,7	0,0	16,8	16,8	0,0
Ruská federácia	64,4	64,9	0,5	20,4	21,6	1,2

Biomarkery expozície tabakovému dymu

Marker	Materiál	Metódy	Výhody / nevýhody
Nikotín a kotinín (metabolit nikotínu)	moč, krv, sliny, vlasy	Imunoanalýza HPLC-DAD, GC-MS	Špecifický marker Polčas vylučovania
CO / COHb	vydychovaný vzduch / krv	CO-detektory Fotometria...	Nešpecifický
1-OH-pyrén (metabolit pyrénu)	moč	HPLC-FLD (BET)	Nešpecifický pre TD - marker karcinogénov (PAU)
Kyselina t,t-mukonová (metabolit benzénu)	moč	HPLC-DAD (BET)	Nešpecifický pre TD - marker karcinogénu!
Aromatické amíny N-nitrozoamíny hladina antioxidantov a iné	krv, moč tkanivá	biochemické, hematologické, DNA analýza...	Štúdie mutagenity, karcinogenity a genotoxicity TD

Nikotín – alkaloid tabaku

- ❑ 1-metylpyrolidinyl-pyridín
- ❑ $C_{10}H_{14}N_2$ – M.H. 162,23
- ❑ CAS 54-11-5
- ❑ B.t. $-79^{\circ}C$ olejovitá tekutina
- ❑ účinný insekticíd
- ❑ vznik v koreňovom systéme ▷ ukladanie v listoch
- ❑ v suchom tabaku 0,3 až 5%

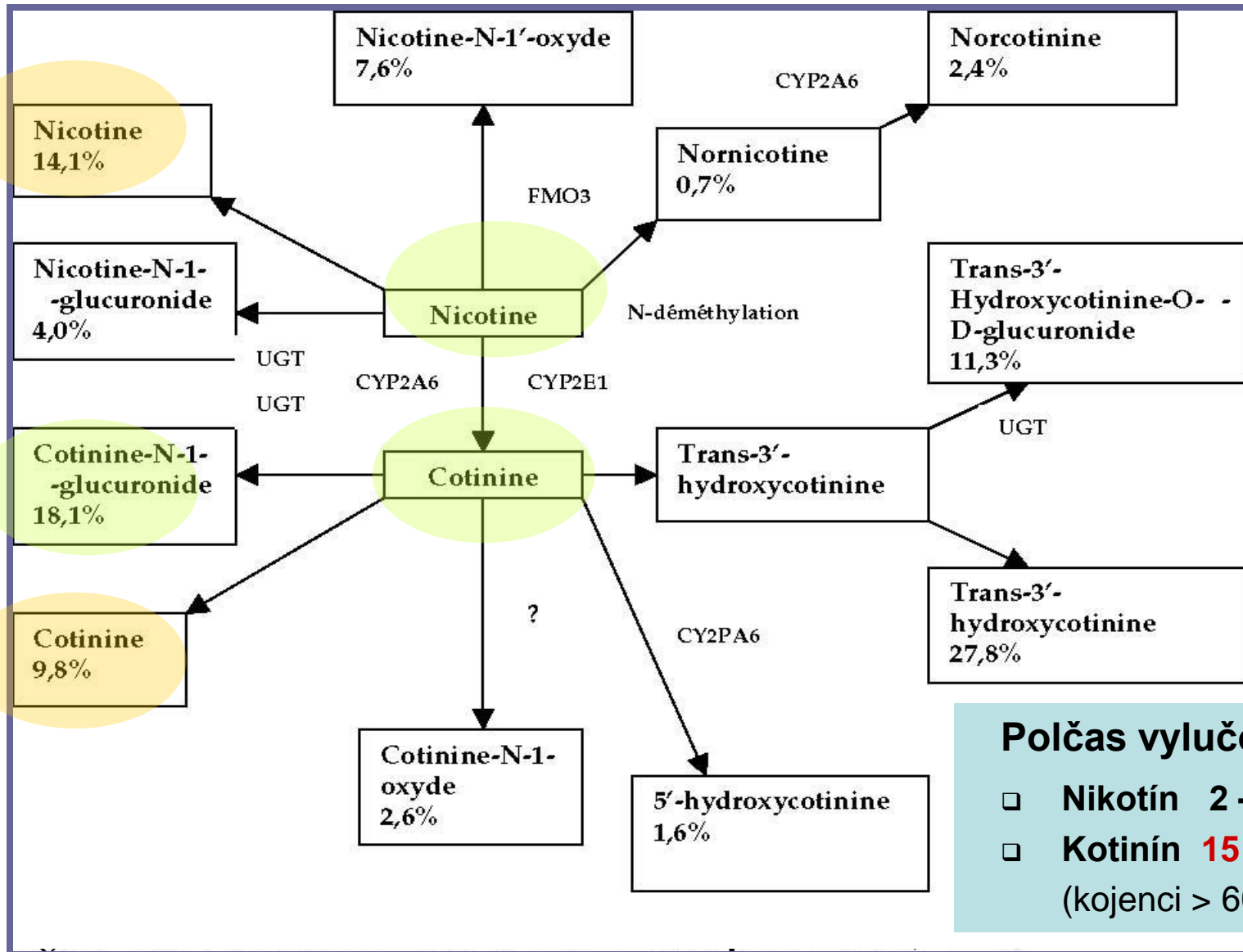


Nikotín a ľudský organizmus

- ❑ **stimulans, anxiolytikum, antidepresívum ...**
- ❑ letálna dávka 40-60 mg
- ❑ obsah v cigarete 0,1 až 2,8 mg
- ❑ rýchly nástup účinkov 6-8 s – polčas 2 h.
- ❑ atakuje receptor acetylcholínu
- ❑ zvyšuje hladinu dopamínu

vysoká návykovosť, silná závislosť!

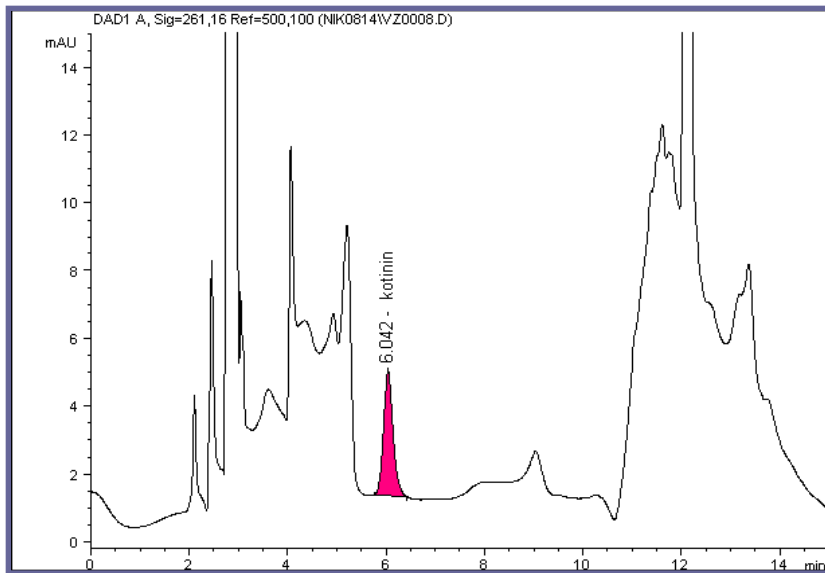
Metabolizmus nikotínu



Polčas vylučovania:

- ❑ Nikotín 2 – 3 hodiny
- ❑ Kotinín 15 – 19 hodín (kojenci > 60 hodín!)

Stanovenie kotinínu v moči



Kotinín v moči: LOD = 3,30 µg/l
LOQ = 10,0 µg/l

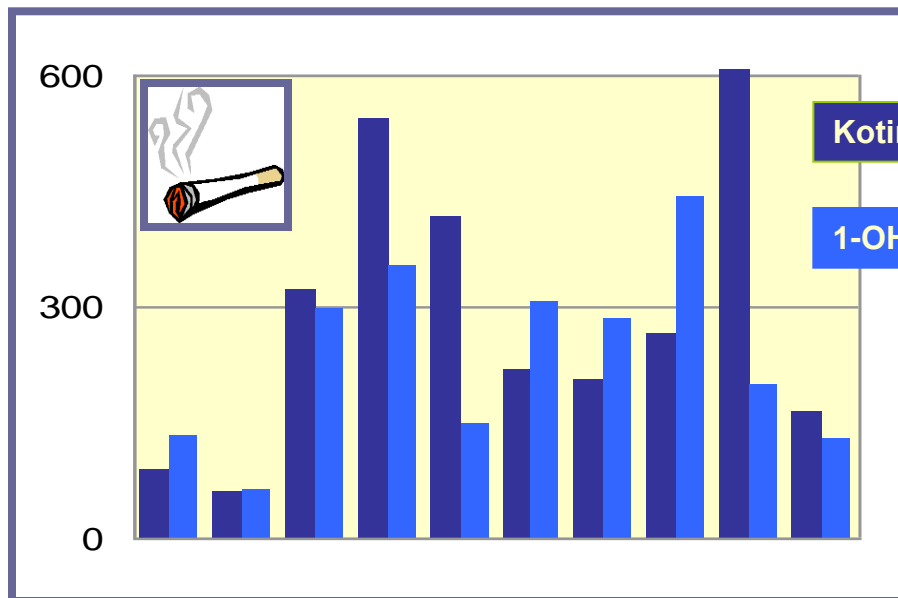
Príprava vzorky a HPLC analýza:

- ❑ 3 ml moča (úprava pH ≈12)
- ❑ Extrelut 3NT – dichlórmetán:i-propanol (9:1)
- ❑ Odparok v 100 µl metanole
- ❑ Prístroj: Agilent 1100 s DAD detektorom
- ❑ Kolóna: Purospher RP-18e (250x4,6 mm)
- ❑ Mobilná fáza:
metanol-octanový pufor pH 3,0 (90:10)
- ❑ Prietok: 1,0 ml/min
- ❑ Detekcia: UV 260 nm
- ❑ RT(nikotín): 3,8 min
- ❑ **RT(kotinín): 6,0 min**
- ❑ RT(kofeín): 8,9 min

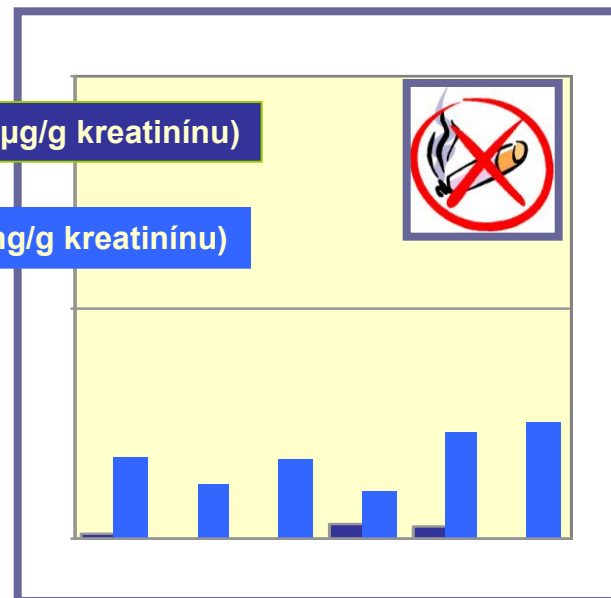
G-EQAS (Univerzita Erlangen)	Referenčná hodnota (µg/l)	Tolerančný interval (µg/l)	Hodnota RÚVZ BB (µg/l)	Odchýlka %
Vzorka A	196,5	155,1 – 237,9	218,6	11,25
Vzorka B	711,3	589,8 – 832,8	795,9	11,89

Výsledky stanovenia biomarkerov expozície TD

FAJČIARI

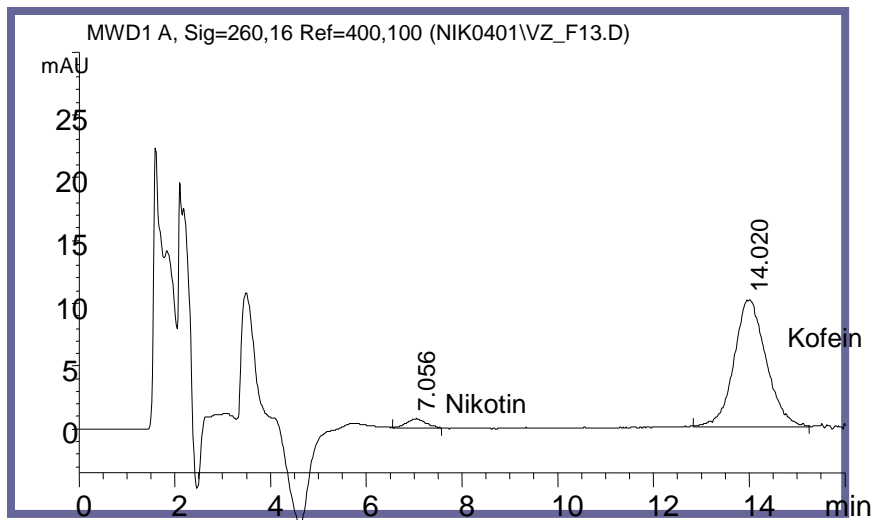
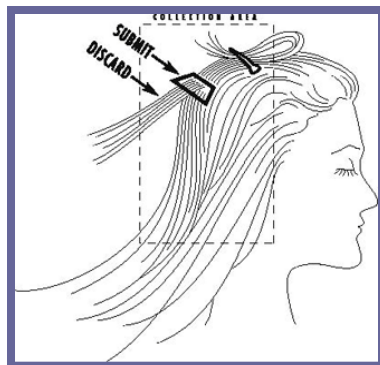
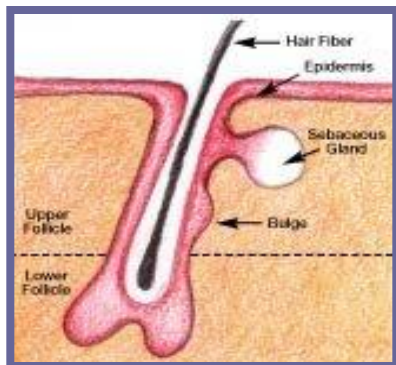


NEFAJČIARI



Biomarkery expozície TDP	FAJČIARI (N=10)	NEFAJČIARI (N=6)
Kotínín ($\mu\text{g/g}$ kreatinínu) metabolit nikotínu	242 (59,3 – 1082)	5,8 (0,9 – 18,3)
1-Hydroxypyren ($\mu\text{g/g}$ kreatinínu) metabolit pyrénu	0,24 (0,06 – 0,44)	0,10 (0,06 – 0,15)
Kys. t,t-mukonová (mg/g kreatinínu) metabolit benzénu	0,42 (0,09 – 1,44)	0,18 (0,06 – 0,40)

Stanovenie nikotínu vo vlasoch



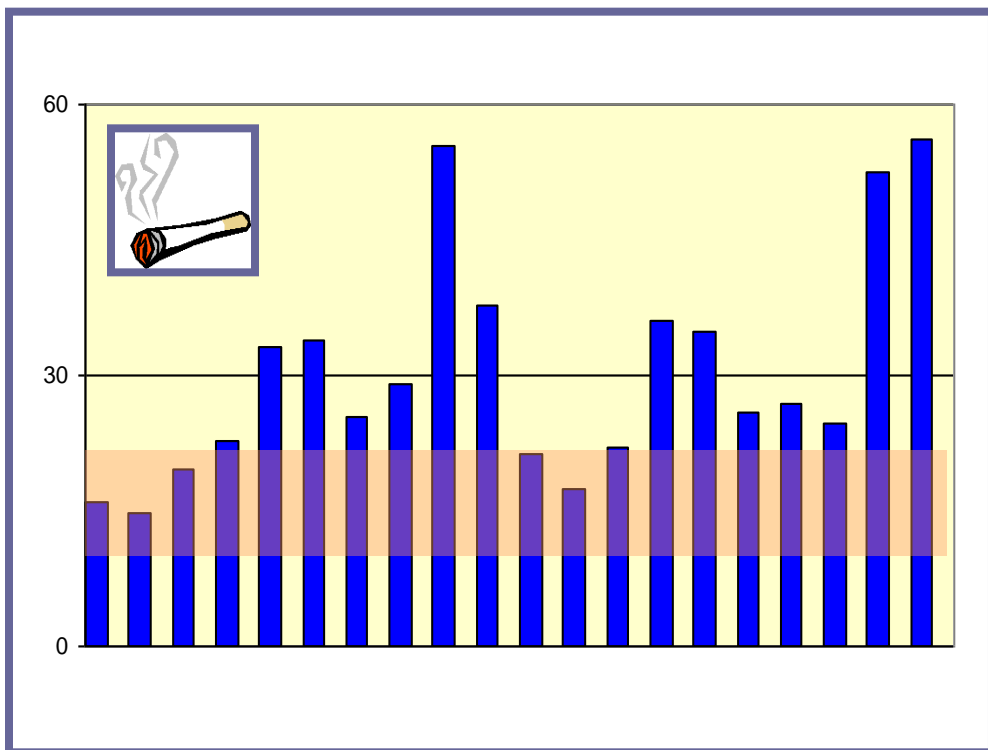
Nikotín vo vlasoch: LOD = 0,83 µg/g
LOQ = 2,50 µg/g

Príprava vzorky a HPLC analýza:

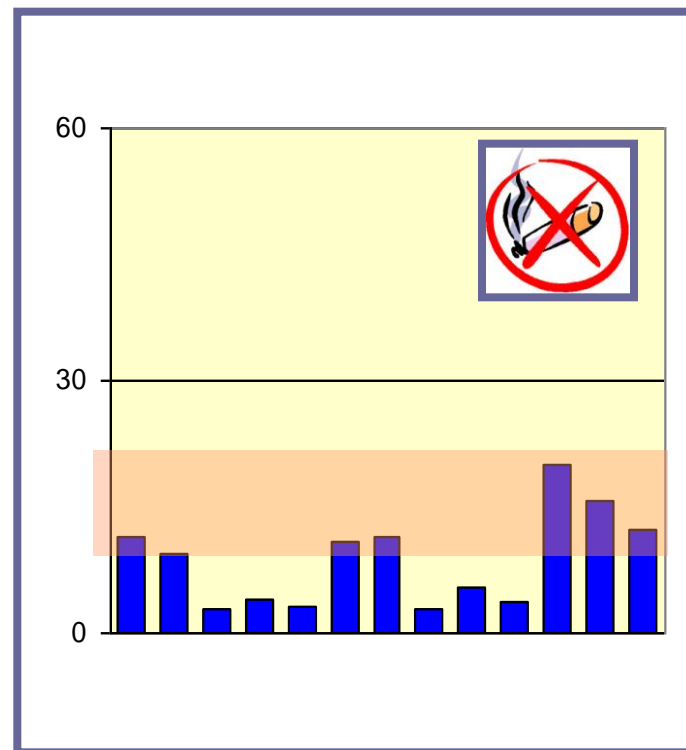
- ❑ **Odmastenie** – dichlórmetán
- ❑ Sušenie pri laboratórnej teplote
- ❑ Homogenizácia – 2-5 mm
- ❑ Navážka – 20-30 mg
- ❑ **Hydrolyzáza:**
3,0 ml 0,5 M NaOH za 4 hodín
- ❑ **Extrakcia:**
Extrelut 3NT / dichlórmetán:izopropanol
- ❑ Prístroj: Agilent 1100 s DAD detektorom
- ❑ Kolóna: Supelcosil LC-8DB (250x4,6 mm)
- ❑ Mobilná fáza:
voda-acetonitril (94,6:5,4) s prídavkom TEA,
heptánsulfonán-Na, K₂HPO₄, kys. citrónová (pH 4,7)
- ❑ Detekcia: UV 260 nm
- ❑ **RT(nikotín): 7,1 min**
- ❑ RT(kotinín): 12,5 min
- ❑ RT(kofeín): 14,0 min

Výsledky stanovenia nikotínu vo vlasoch

FAJČIARI



NEFAJČIARI



Nikotín	FAJČIARI (N=20)	NEFAJČIARI (N=13)
Nikotín (µg/g vlasov)	29,6 (13,5 – 56,2)	8,7 (2,5 – 19,9)

