

A rák elsődleges megelőzésének elmélete és gyakorlata

Krompecher emlékelőadás, 2006

Tompa Anna

Semmelweis Egyetem Közegészségtani Intézet, Budapest

A rákprevenció elsődleges célja, hogy megakadályozza a rákkeltők szervezetbe kerülését. Miután az alacsony dózisok miatt valódi toxikus hatásokkal nem kell számolni, a klasszikus toxikológiai módszerek nem alkalmasak a rákkeltők korai hatásainak kimutatására. A szervezetet ért rákkeltő vegyi expozíciókra a sejtmagon belül legérzékenyebben a kromatinállomány reagál. A környezeti, munkahelyi rákkeltők DNS-károsodásokat, kromoszóma-rendellenességeket és mutációkat okozhatnak, amelyek előre jelzik a daganatok kialakulásának veszélyét. Ilyenkor a beavatkozás két oldalról lehetséges. Egyrészt igyekszünk a kiváltó ágenst a környezetből eltávolítani (primer prevenció), másrészt a szomatikus mutációk eliminációját elősegítjük (kemoprevenció). Ez utóbbi folyamat más néven aktív prevenciónak is nevezzük, ami a másodlagos megelőzés részét képezi. A kemoprevenció elősegíti az apoptózist, fokozza a DNS-repair enzimek aktivitását, vagy a mutagén metabolitok eliminálását, pl. antioxidánsok. Saját vizsgálataink kapcsán arról a 25 éves kutatásról számolunk be, amit különböző munkahelyi ártalmaknak kitett csoportok géntoxikológiai elemzése kapcsán nyertünk, és amely adatok azt mutatják, hogy az aktív prevenció bevezetése a biomarkerek ismeretében hatásos lehet. Részletesen bemutatjuk a kórházi nővérek citosztatikus infúzió készítése kapcsán kialakuló géntoxikus változásait az immuntoxikológiai és klinikai paraméterek alakulásával összefüggésben. A géntoxicitás csökkenti az „oxidatív burszt”-öt és az NK-sejtek aktivitását, ami magyarázata lehet a foglalkozási expozíció okozta immunszuppresszióknak. Az ipari munkások köréből két követéses vizsgálati csoport adatait ismertetjük részletesebben. 15 éve követjük a benzol előállítását végzőket és 8 éve az aszfaltipari munkásokat. Mindkét követés kapcsán megállapítottuk, hogy a munkakörülmények javításával a géntoxicitás is csökken, míg az időszakos lazulás, vagy fokozott expozíció a paraméterek romlását eredményezi. Miután a géntoxicitás időben elhúzódó folyamat (4-5 hónap), független az aktuális higiénés állapotoktól, így a valós expozíciós viszonyok hatásának feltárására is alkalmas. Vizsgálataink során összefüggést mutattunk ki a genotoxikológiai érintettség és az immunválasz között, amit a munkahelyi expozíció mellett a gyógyszerek szedése és a dohányzás is negatívan befolyásol. Olaj- és aszfaltipari munkások követéses vizsgálata során megállapítottuk, hogy a kromoszómaaberrációk (CA) és a testvérkromatid-kicserélődés (sister chromatid exchange, SCE) az expozíció mértékével arányosan emelkedik, majd a körülmények javulását követően, némi időeltolódással a kromoszóma-rendellenességek száma csökken. Az expozíció és a krónikus betegségek előfordulása között az ipari munkásoknál nem tudtunk összefüggést kimutatni. A citosztatikus expozíciónak kitett nővérek esetében viszont a vashiányos anémia és a pajzsmirigybetegek halmozódásával összefüggésbe hozható a munkahelyi expozíció. *Magyar Onkológia 51:7-21, 2007*

The primary aim of cancer prevention is to stop carcinogens from entering the body. Since the low doses involved in carcinogenesis do not cause true toxicological effects, usual toxicological analytic methods do not allow the detection of the early effects of carcinogens. Exposure to chemical carcinogens causes damage to nuclear chromatin, the most vulnerable part of the cell, by inducing DNA damage, chromosomal abnormalities and mutations, which foreshadow the danger of cancer development. In such cases intervention is possible in two ways. On the one hand, we attempt to remove the causative agent from the environment, while on the other we aid the elimination of somatic mutations. The latter is called active prevention; the introduction of substances into the body that can help the elimination of defective cells (apoptosis induction) or stop processes responsible for elongation errors (i.e. with antioxidants). Concerning our own studies, we present the results of 25 years of research on the genotoxicological characteristics of workers exposed to various chemicals, which show that active prevention can in fact be effective in conjunction with information on specific biomarkers. We present in detail the genotoxic changes found in hospital nurses who routinely

Közlésre érkezett: 2007. február 22.
Elfogadva: 2007. március 1.

Levelezési cím: Prof. Dr. Tompa Anna, Semmelweis Egyetem Közegészségtani Intézet
1445 Budapest, Nagyvárad tér 4. Pf. 370, Tel./Fax: 1-210-2954, e-mail: tomann@net.sote.hu

A vizsgálatokat az NKFP 1/B-47/2004. számú pályázat anyagi támogatásával végeztük el.

administer intravenous cytostatic therapy, and the relationship of these changes to their immunotoxic and clinical laboratory parameters. Genotoxic substances decrease the oxidative burst and natural killer (NK) cell activity, which may explain the immunosuppressive effects of occupational exposures. We also present the detailed results of a follow-up study involving two groups of industrial workers. We monitored the status of workers involved in benzene production for 15 years and of asphalt industry workers for 8 years. In both studies we concluded that genotoxic effects can be decreased by ensuring appropriate working conditions, while a temporary lapse in these conditions or accidental changes lead to increases in genotoxic parameters. Since genotoxic effects develop over an extended period (4-5 months), they are independent of hygienic conditions at any single inspection and, thus, their detection also offers a way to ascertain true exposure levels. Our studies also show a connection between genotoxic effects and immune function, which is adversely affected not only by occupational exposures, but also by medications and smoking. From our results with workers in the oil and asphalt industries, we concluded that the levels of chromosomal aberrations (CAs) and sister chromatid exchange (SCE) increase in proportion to exposure levels and decrease with a certain delay following the attenuation of the exposure. We could not detect an increased frequency of any chronic disease in industrial workers. The increased numbers of iron deficiency anemia and thyroid disease in nurses providing cytostatic therapy was, however, related to their occupational exposure. *Tompá A. Theory and practice of primary cancer prevention. Hungarian Oncology 51:7-21, 2007*

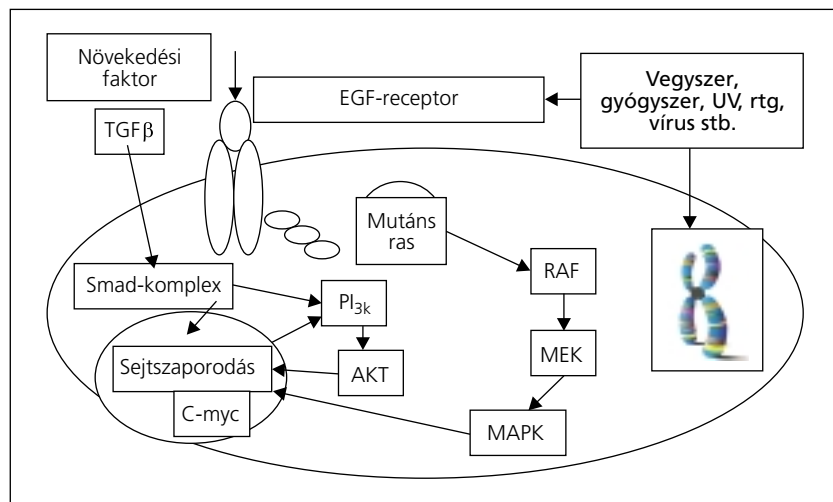


Bevezetés

A rákkeletkezés mechanizmusának jelenlegi értelmezése arra enged következtetni, hogy a daganatokat elsősorban környezeti hatások hozzák létre szomatikus mutációk sorozata révén, míg az eredeti veleszületett genetikai kód megváltozásának csak az esetek kb. 5%-ban van jelenősége (7). Másrészt a daganatok kialakulása szempontjából meghatározó a jelátviteli mechanizmusok hibája, ami a sejtek élettani funkcióit (12), szaporodását, anyagcseréjét alapvetően megváltoztatja (1. ábra).

Azokat a sejt működését szabályozó géneket, amelyek gátolják a sejtszaporodást, gátló vagy szuppresszor géneknek nevezzük. Ezek felelősek

1. ábra. A jelátviteli mechanizmusok szerepe a daganatok kialakulásában. A növekedési faktorok hatására a mutáns receptor megköti a mutagén ágenszt, ami a protoonkogéneket onkogénné transzformálja és a sejtmagba juttatja a stimuláló fehérjét, ami folyamatos sejtosztódást indukál. Így a EGFR ligandjaként viselkedhetnek különböző vegyszerek, pl. a xenoösztrogének is. A ras és c-myc mutációk gyakoriak a vegyszerek által indukált tumorokban. myc: proliferációt aktiváló gén, vagy mutánsként onkogén, PI_{3k} és AKT: kinázok, ras: mutáns formája indítja el a sejtciklusba történő belépést a RAF-MEK-MAPK kinázok kaskádján keresztül.



a sejtszaporodás leállításáért, vagy a programozott sejthalálért. A szuppresszor gének pl. a P53 gén mutációja is elvezethet a daganatok kialakulásához (4). A DNS-molekula épségét a DNS-repair gének garantálják, melyek meghibásodása esetén számos mutáns keletkezhet, és ezek szerencsétlen kombinációja onkogének kialakulását eredményezheti. Az onkogének különböző fehérje szignálok közvetítésével érik el a sejtmagot, mint azt az 1. ábrán bemutattuk; ezek közül különösen nagy jelentőségűek a tirozinkinázok és a TGFβ, amelyek gyógyszeres gátlását manapság a rákterápiában is alkalmazzák (26, 33, 43). Egyetlen onkogén azonban nem elegendő a daganat kialakulásához, csak abban az esetben, ha az első mutáció már az embrionális életben létrejött. Ennek következménye lehet a gyermekkori daganatok kialakulása (32, 34). A jelátviteli mechanizmusok mellett meghatározó jelentősége van a daganatok kialakulásában a sejtciklus szabályozásának. A sejtciklus csak akkor indul be normális körülmények között, ha megfelelő mennyiségű és minőségű DNS-prekursor áll rendelkezésre, és a proliferációs szignál, pl. a ras és a c-myc protoonkogén aktiválódik. Amennyiben mutációt szenved, akkor a sejt DNS-állományának minőségétől függetlenül is aktiválódhat, és legyárthatja a DNS-ben tárolt hibás üzeneteket is. Ennek gátlját képezheti a P53 gén épsége, ami képes a folyamatot még a G1 fázisban elvinni az apoptózis irányába. Ha viszont a P53 is mutálódik, vagy a ras gén gátolja a c-myc apoptózist elősegítő hatását (28), akkor beindul a Bcl-2 onkogén aktiválódása, ami már vissza nem fordítható módon serkenti a sejtciklus folyamatát (4). Olyan ez, mint amikor egy lejtőn guruló gépkocsiban a fékpedál és a kézifék is egyszerre hibásodik meg (2. ábra).

Jelenlegi ismereteink szerint a normális sejt működést az onkogének és a szuppresszor gének aktivitásának egyensúlya biztosítja (1, 18). Miért bomlik meg az egyensúly, és valóban egyensúlyról, vagy a nyugalmat biztosító mechanizmusok túlsúlyáról van-e szó, ezt pontosan még nem tud-

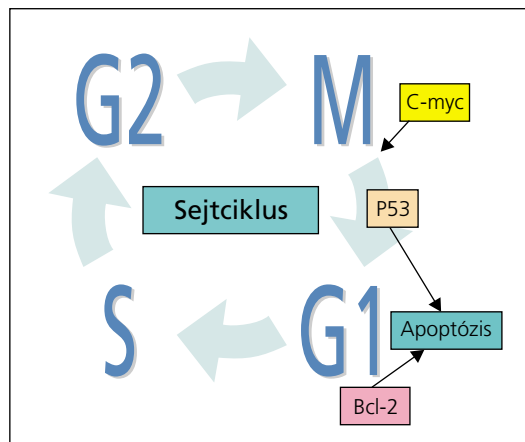
juk. Bizonyos familiáris előfordulást mutató daganatok esetében a genetikai háttér nagyobb jelentőségű, máshol viszont elsősorban a környezet határozza meg a daganat keletkezését. Ilyenek a környezeti és foglalkozási ártalmakkal összefüggő daganatok (tüdő, bőr, fej-nyak, vese, stb.).

A kialakulási útvonalak ismerete lehetővé teszi a kiváltó ágensek elkerülését, azaz a megelőzést. A jelenleg leginkább elfogadott a többlépcsős karcinogenezis-modell, ami mutációk sorozatán keresztül jut el a daganat kifejlődéséhez, amit epigenetikai tényezők egyaránt befolyásolnak (8) (3. ábra). Saját prevenciós kutatásaink azt a célt helyezték előtérbe, hogy a lehető legkorábbi biológiai választ detektálják, amelyek a kóros szabályozás kapcsán kialakulnak. A többlépcsős karcinogenezis-modell segítségével elhelyezhetők azok a pontok, ahol a géntoxikológiai biomarkerekkel a hatás lemérhető. A 3. ábrán látható, hogy a sejtiniciáció kialakulása során is keletkezhetnek kromoszóma-mutációk, de különösen a sejtranszformáció stádiumában erőteljes génaktivitás és sejtszaporodás miatt a génhibák kumulálódhatnak. Mindkét fázis alkalmas a kromoszóma-rendellenességek kimutatására. A sejtiniciáció fázisában az események nem csupán a célszövet sejteiben jöhetnek létre, hanem a szervezet egészét érinti a hatás. Éppen ezért jó célpont a limfocita, hiszen a szervezet egészét képes reprezentálni, mivel valamennyi szervhez a keringés révén eljut. A promóciós események fogják eldönteni azt, hogy melyik szervben alakul ki a tumor. Ebből az következik, hogy a primer prevenció és a kockázatbecslés szempontjából a sejtiniciáció tényének megállapítása a legfontosabb. Ilyen korai jelek kimutatása esetén ugyanis lehetőség van az „anti-promócióra”, más szóval a kemoprevencióra, ami megakadályozhatja, vagy késleltetheti a célszerv tumoros átalakulását. Magyarországon a kiemelkedően magas rosszindulatú daganatos halálozás elsődleges megelőzése (primer prevenciója) érdekében készült el a kémiai biztonságról szóló 2000. évi XXV. törvény, ill. a 26/2000 (IX.31.) EüM-rendelet, ami előírja a rákveszélyes munkahelyeken a kockázatbecslést és a kockázatkezelést, ill. a kialakított kémiai biztonság ellenőrzését. Ez a rendelet teszi lehetővé, hogy a rákkeltőkkel foglalkoztatott munkavállalók részére a géntoxikológiai vizsgálatok a kockázatbecslés részeként felajánlhatóak legyenek.

A daganatokat kémiai, fizikai és biológiai kóros tényezők egyaránt előidézhetik. A genetikai hajlam teremti meg a kedvező körülményeket a daganatok kialakulásához, ezért sok esetben csak didaktikai oka van annak, hogy megkülönböztünk örökölhető és környezeti ártalmakra visszavezethető daganatokat. Ezeknek a környezeti és genetikai tényezőknek a hatása egyéni mintázatot hoz létre, és ezek a variánsok alakítják ki a tumorok egyéni jellegét. A 4. ábrán a különböző rákkeltő tényezők kölcsönhatásait ábrázoljuk, amiben közös pont a DNS átalakulása. A további eredményeket ennek a tumorkialakulási modellnek a szellemében tárgyaljuk.

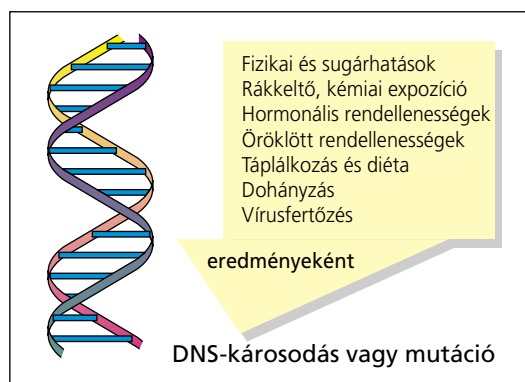
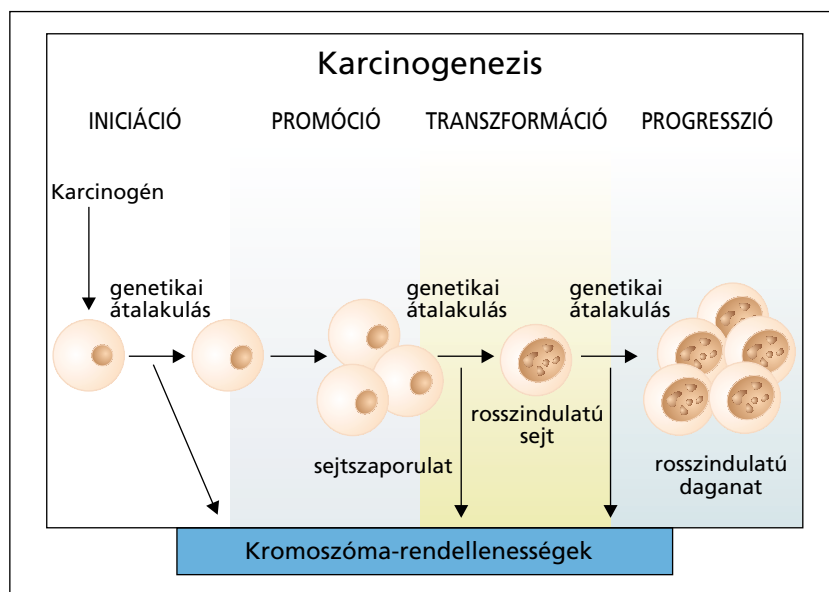
Részen kísérletes, részben epidemiológiai adatok igazolják, hogy a daganatok 70-80%-a meg-

előzhető lenne, ha az egyensúly kibillentéséért felelős kémiai, fizikai, vagy biológiai tényezőket távol tartjuk a szervezettől, mint ez az alábbi összeállításból is kiderül (1. táblázat). Elsősorban a tüdő- és a fej-nyaki rákok mutatnak összefüggést a dohányzással és a táplálkozási tényezőkkel, de az életmódnak jelentősége van az emlő-, prosztatata-



2. ábra.
A sejtciklus szabályozásának összefüggése az onkogénaktivációval

3. ábra. A többlépcsős karcinogenezis mechanizmusa. Az első lépés a sejtiniciáció, ami a rákkeltő primer hatását (mutációt) jelzi, a második fázisban tág tere van a környezeti hatásoknak, a sejttanyagcserének, az ún. epigenetikus hatásoknak, mivel itt újabb genetikai átalakulás nem történik. A következő lényeges változást mutációk sorozata hozza létre, amit csak mennyiségi változások különböztetnek meg a progressziótól.



4. ábra.
A leggyakoribb daganatkeltő ágensek

és vastagbélrák kifejlődésében is. Ezért a rákmegelőzés legfontosabb területe az életmód optimalizálása. A géntoxikus hatások biomarkerek segítségével történő meghatározása alapját képezheti a kemoprevenciónak és az egészségmegőrzés egyéni formáinak. A prevenció részét képezi az egészségi állapot felmérése, és a romló tendenciák megállítása (20). A pozitív géntoxikológiai eredmények indikációt adhatnak az antioxidánsok, fitokémiai anyagok és a mikroelemek szupplementációjára, aminek hatékonyságát az ellenőrző vizsgálatok (követés) igazolhatják.

Még a kifejezetten endogén hormonfüggő daganatok esetében is, mint amilyen az emlő- és a prosztaták, a környezet befolyása nem elhanyagolható. A vastagbél-, tüdő-, szájüregi- és vesedaganatok környezeti ártalmakkal való összefüggése pedig igen jól bizonyított (42, 46).

A primer prevenció módszertana: biomarkerek

A primer prevenció eszközök kiválasztásában az első kérdés az, hogy miből lehet tudni azt, hogy egy sejt vagy szövet elindult a daganatos átalakulás irányába. Ennek a kérdésnek a megválaszolásában a kutatók olyan korai jeleket keresnek, amelyek még a normális sejtműködés biztosítása mellett árulkodnak arról, hogy az egyensúly kezd felbomlani. A szervezet a sejtműködés átalakulásával reagál a kiváltó ágensre, aminek eredményeként megváltozik a fenotípus. Ezeket a biológiai változásokat, kisebb-nagyobb funkcionális eltéréseket nevezzük biomarkereknek. A biomarkerek kimutatása lehetővé teszi számunkra azt, hogy a betegség klinikai jeleinek feltűnése előtt már észleljük a negatív tendenciákat. A biomarkerek megjelenése nem feltétlenül visszafordíthatatlan állapot. A változást előidéző ágens eltűnésével a sejtanyagcsere képes eliminálni az átmeneti funkciózavart (apoptózis). Ennek esélye egyre csökken, ha a hatás állandósul, vagy felerősödik, áttörve az adaptáció által biztosított védelmet. Ennek egyik legjobb példája a dohányzás abahagyását követő javulás valamennyi érintett szövetben. A daganatokat kiváltó legfontosabb tényezők elkerülésével és az egészséges életmód szabályainak betartásával a leggyakoribb daganatfélések kockázata csökkenthető (1. táblázat). A biomarkerek és azok kombinációinak jelentő-

ségét csak a gyakorlatban tudjuk felmérni (17). Ehhez segítenek hozzá azok az analitikai epidemiológiai kutatások, amelyek képesek párhuzamba állítani a biomarkerek megjelenésének gyakoriságát a bekövetkező kóros állapotok megjelenésének esélyével. Így ezek a módszerek a kockázatbecslés részét képezhetik. A kockázatok megállapításának egyénekre lebontott módszertanához igen nagy segítséget nyújthatnak azok a génexpressziós kutatások, amelyeket a legújabb toxikogenomikai módszerek segítségével lehet jellemezni. A toxikogenomikai kutatások képesek párhuzamba állítani a környezet és a génállomány interakciója révén kialakuló válaszreakciókat az egyéni érzékenységet jellemző biomarkerekkel. Ezek az adatok jól alkalmazhatók az életmód és a prevenció stratégiák egyénre szabott módozatainak kialakításában. Ugyancsak hasznosak lehetnek az egyéni protokollok tervezésében a terápia kapcsán (45).

Mit értünk genotoxikológián?

A genotoxikológiai vizsgálatok a testi sejtek örökítő állományában keletkező, környezeti (beleértve a munkahelyi) eredetű, szerzett károsodások kimutatására szolgálnak. Ezeket a károsodásokat a genotoxikológiai monitor gyakorlati alkalmazása során citogenetikai és génszintű vizsgálatokkal lehet a legmegbízhatóbban kimutatni. Erre szolgál az általunk kifejlesztett, ún. „több végpontos genotoxikológiai monitor”, ami nem elégszik meg a kromoszómák hibáinak kimutatásával, hanem figyelembe veszi a HPRT-pontmutációs gyakoriságot éppúgy, mint a DNS-repair állapotát, vagy újabban az immuntoxikológiai paramétereket is. A testi sejteken végzett citogenetikai vizsgálatok a kromoszómák szerzett rendellenességeivel foglalkoznak (36, 39). A kromoszómák szerkezeti és számbeli eltéréseit összefoglalóan kromoszómaaberrációknak nevezzük. A kromoszómatörések az ún. mutagén ágenssek (kémiai, fizikai, rtg., UV, stb.) hatására keletkeznek, a kiváltó ágensre nem specifikusak. Bármely kromoszómán kialakulhatnak, de többségükben már a sejtosztódás során kiküszöbölődnek (posztreplicációs repair). Amennyiben ez nem következik be, akkor a súlyosan sérült sejtek az apoptózis révén pusztulnak el, mivel a génhibák nem csupán a DNS-repair, hanem a P53 gént is indukálják,

1. táblázat.
Megelőzhető daganatok
(9, 42)

Tumorer	Alkoholtól és dohánytól mentes életforma	Alacsony kalóriabevitel	Antioxidánsok, mikroelemek, vitaminok	Fitokémiai anyagok, rostok	Várható csökkenés becsült %-a
	Életmód		Kemoprevenció		
Vastagbél	+	+	+ Aspirin, CaCo3	+	66-75
Prostata	+	+	+ Finasteride	+	10-20
Emlő	+	+	+ Tamoxifen	+	33-50
Tüdő	++	-	+ ADT	?	90-95
Szájüreg	++	-	+ Isotretinoin	+	35-40

ADT: anethole-dithiolethione

ami a legfőbb védelmezője a genetikai állomány integritásának. A szerzett kromoszóma-rendellenességek az első metafázis (48 óra) során mutathatók ki legnagyobb számban. A kromoszómákat ért genotoxikus hatások eloszlása általában random jellegű, ezért nem feltétlenül fontos a kromoszómák azonosítása (sávózás) ahhoz, hogy képet nyerjünk a genotoxikus károsodás mértékéről. A kromoszómákon alapvetően kétféle eltérést lehet kimutatni. Ha a genotoxikus ágens mutagén és/vagy karcinogén vegyi anyag, radioaktív, ill. UV-sugárzás mindkét kromatidot károsította, akkor ún. kromoszóma-típusú eltérés alakul ki. Ha a károsodás csak az egyik kromatidon következik be, akkor ún. kromatid-típusú eltérésről beszélünk. A kromoszómafonalak megnyúlása a festés során hézagként, gap-ként értékelhető, ami nem számít be a strukturális változások számába.

Az SCE gyakorisága kísérleti rendszerekben függ az exponáló ágens koncentrációjától (dózisától), azonban az élő szervezetben ez az összefüggés nem feltétlenül áll fenn. Az SCE monitorozása a gyakorlatban elsősorban az akut expozíciók kimutatására alkalmas. A DNS karbantartó (repair) rendszere végzi a szerzett hibák nagy hatékonyságú javítását és az eredeti DNS-szerkezet visszaállítását, ezért állapotának ismerete fontos a rizikóbecslés szempontjából. A jól működő DNS-repair képes az expozíció káros következményeinek eliminálására, még akkor is, ha a károsító anyag, vagy annak metabolitja kovalens módon kötődik a DNS-molekulához (DNS-addukt), míg a túlterhelt vagy bénult DNS-repair a hibák számának emelkedéséhez vezethet. A teljes repair-rendszer vizsgálata igen időigényes és drága, ezért a rutin vizsgálatokban az egyszerű, de informatív, UV-fénnyel indukálható DNS-repair-kapacitás mérését végezzük.

A DNS-repair által nem javított, ún. fixálódott mutációk kimutatására szolgáló modell a hipoxantin-guanin-foszforibozil-transzferáz (HPRT) enzimnek a nemi (X) kromoszómán lokalizálódott génjében kialakult mutációk autoradiográfia vizsgálata. A mutáns sejtek gyakoriságát a sejtek proliferációs stimulálhatóságával (PHA) korrigált értékkel jellemzik. A fixálódott mutációk gyakoriságának emelkedése, a kromoszóma-aberrációk értékének emelkedéséhez hasonlóan, az elszennvedett genotoxikus károsodás mértékét jelzi (35).

Mikor van szükség géntoxikológiai vizsgálatra?

Elsősorban a munkahelyi kockázatbecslés részeként alkalmazható olyan esetekben, ahol nem zárható ki a karcinogén, mutagén, vagy teratogén ágens expozíciójának lehetősége. Ajánlható a módszer környezeti, vegyi katasztrófák késői hatásainak lemérésére és a kemoprevenció tervezésére. Olyan esetekben is indokolt, ha egy bizonyos közösségben – rendőrség, katonaság, tűzoltóság – indokolatlan módon megemelkedett a daganatos betegségek száma, vagy a dolgozók körében félelem alakult ki bizonyos munkafolyama-

tok elvégzésével szemben. A munkahelyi vizsgálatok esetében a költségek a munkáltatót, míg a környezeti katasztrófák esetében az államot, vagy a biztosítót terhelik.

A gén- és immuntoxikológiai monitorozás jelentősége

Saját kutatásaink szerint a fénymikroszkóppal is látható változások közül a korai jelek sorában elsődleges szerepet tulajdoníthatunk a szomatikus mutációk megjelenésének, amelyek mind a kromoszómák rendellenességeiben, mind a pontmutációkban megmutatkozhatnak. A kromoszóma rendellenességei egyértelmű összefüggést mutatnak a később kialakuló daganatokkal (11). Különösen szoros ez az összefüggés akkor, ha ez párhuzamos a HPRT gén pontmutációi számának szignifikáns emelkedésével is (13, 35).

A második kérdés az, hogy ezek a még reverzibilis változások milyen funkcionális változásokat eredményezhetnek. Ennek leginkább kézenfekvő megválaszolásához az immunrendszer funkcionális változásainak kimutatása kínálkozott. Ezért néhány évvel ezelőtt bevezettük a kromoszóma- és génmutációs tesztek mellé az immuntoxikológiai vizsgálatokat is, amelyek elsősorban az immunkompetens sejtek fenotipikus változásait vették célba (2, 3). Úgy gondoltuk, hogy a limfocitákban bekövetkező kromoszómátörések, mutációk nem hagyják érintetlenül a funkciót sem, ezért a különböző sejttípusok kvantitatív elemzése mellett a szervezet elsődleges védvonalát képező makrofágok „oxidatív burst” jelenségét kezdtük vizsgálni. Ismeretes, hogy a szervezet a testidegen kórokozókat szabadgyökök segítségével pusztítja el, és az erre a funkcióra képes sejtek aktivitása a termelt szabadgyökök mennyiségének mérésével megállapítható. Mind a fenotípus-változás, mind a makrofágok „ölképessége” jól jellemzi az immunrendszer védekező képességének aktivitását.

A harmadik kérdés az, hogy ha megismertük ezeket a géntoxikus és immuntoxikus hatásokat, mit lehet tenni a bekövetkező változások kivédésére, vagy mérséklésére (42). A kemoprevenációs lehetőségek kutatása jelenleg folyamatban van és nem képezi e közlemény témáját.

Az immuntoxikológiai vizsgálatok elméleti alapjai

Az immuntoxikológia feladata az immunrendszer erő károsító tényezők detektálása és a várható következmények felmérése, elsősorban abból a szempontból, hogy az emberi egészségre milyen hatással vannak. Toxikus válasz jöhet létre akkor, ha az immunrendszer valódi célpontja valamely kémiai ágensnek, valamint akkor, ha a vegyi anyag, mint antigén, specifikus immunválaszt vált ki.

Az immuntoxicitás eredményezhet fertőzőekkel szembeni fokozott érzékenységet, illetve allergiás tünetek, autoimmun betegségek és/vagy daganatok kialakulásához vezethet.

Limfocita-szubpopulációk meghatározása immunfenotipizálás segítségével

A limfociták három csoportba sorolhatók, ezek a B-sejtek, a T-sejtek és a természetes ölősejtek (natural killer – NK-sejtek). A B-limfociták az immunválasz során ellenanyagokat termelnek (humorális immunválasz). A T-sejteknek két fő csoportja van, a citotoxikus T-sejtek, melyek képesek a kórokozót közvetlenül elpusztítani (sejtközvetített vagy celluláris immunválasz), és a helper T-limfociták, melyek a T- és B-sejtek osztódásához és differenciálódásához elengedhetetlenül szükségesek. Az NK-sejtek a vírussal fertőzött illetve tumorossá fajult sejteket pusztítják el. A limfociták csoportjait a felszínükön megjelenő sejtvonalmarkerek segítségével különböztetjük el, az ún. immunfenotipizálás módszerével. Az immunfenotipizálás a WHO által is javasolt, az immuntoxicitás meghatározására alkalmas módszer. A vizsgált felszíni antigének: CD3 (T-sejt-receptor), CD4 és CD8 (T-sejt-koreceptorok), CD19 (B-sejt-koreceptor), CD56 (NK-sejt-marker). A limfocita-szubpopulációk meghatározása sejtvonalmarkerek alapján történik: a T-sejteket a CD3+, helper T-sejteket CD4+/CD3+, a citotoxikus T-sejteket a CD8+/CD3+, a B-sejteket a CD19+, az NK-sejteket CD56+/CD3- fenotípus alapján különböztetjük el.

Neutrofil granulociták ölképességének vizsgálata a „Bursttest” segítségével

A neutrofil granulociták fontos szerepet játszanak a gyulladásos folyamatokban, elsősorban a bakteriális fertőzések elleni védekezésben. Bakteriális és gombás fertőzések során a fehérvérsejtek bekebelezik (fagocitálják) és elpusztítják a kórokozókat. A kórokozók elpusztításában elsősorban a sejtek oxigén jelenlétében működő enzimatis rendszerei (elsősorban a NADPH-oxidáz) vesznek részt. A fagocitózist kísérő anyagcsere-folyamatok (oxigén-burst) során az aktivált fagocita sejtek antimikrobiális hatású reaktív gyököket termelnek. A NADPH-oxidáz enzimkomplex a molekuláris oxigént redukálja szuperoxid-anionná, amelyből további reaktív oxigéngyökök keletkeznek. Mind a szuperoxid-anion, mind a további gyökök (H_2O_2 , hidroxilgyök, hipoklorit) mikroorganizmusok számára erősen toxikus anyagok. A leukociták reaktív oxigénintermedier-termelésének vizsgálatával a leukociták bizonyos betegségeekben előforduló, vagy expozíciókkal összefüggő megváltozott ROI-termelésének mérése a cél, mely bizonyos esetekben magyarázatot adhat az exponált csoportok később kialakuló egészségkárosodására, elsősorban a bakteriális és gombás fertőzésekre való érzékenységre.

Módszerek

Valamennyi munkavállaló az éves rendszeres alkalmassági vizsgálatuk keretében a foglalkozási orvos beutalójával, éhgyomorral érkezett citogenetikai és klinikai laboratóriumi vizsgálatra. Vizsgá-

lataink elvégzését minden esetben megelőzte egy részletes, demográfiai adatokat, dohányzási és alkoholfogyasztási szokásokat, gyógyszeres kezeléseket illetve a jelen és múltbeli egészségi állapotot feltáró anamnézis felvétele. Az anamnézis felvétele során külön gondot fordítottunk arra, hogy részletesen megismerjük a donorok munkakörülményeit, a munkavégzés során általuk használt vegyi anyagokat és azt, hogy milyen munkavédelmi felszerelések állnak rendelkezésükre, illetve azokat milyen mértékben használják.

Minden donorral ismertettük a vizsgálat célját. A vizsgálatok minden esetben a foglalkozási orvos javaslatára, beutalóval, de önkéntesen, a donorok írásbeli beleegyezésével történtek. Vizsgálataink során a donorok adatait titkosan, a betegjogok tiszteletben tartásával kezeltük. Az értékelések során a donorokat kódszámmal jelöltük, és az értékelést dupla vak módon végeztük.

A donoroktól éhgyomri vérvétel keretében steril körülmények között ülő pozícióban, könyökhajlatból heparinnal alvadésgátló vérmintát vettünk. A levett vérmintákat klinikai laboratóriumi, géntoxikológiai és immuntoxikológiai vizsgálatok céljára használtuk fel, az alább ismertetett módszerek szerint:

Klinikai laboratóriumi vizsgálati módszerek

A hematológia vizsgálat kiterjedt az alábbi paraméterekre: vörösvérsejt-süllyedés, vörösvérsejtszám, MCV, MCH, hematokrit, hemoglobin, szérum-vas, TVK, fehérvérsejtszám és trombocitaszám meghatározása.

Májfunkciós vizsgálatok közül meghatároztuk a szérum-összibilirubint, valamint az SGOT, SGPT, gamma-GT enzimek szintjét. A vesefunkciók jellemzésére a vizeletüledék, vizelet NAG-aktivitás, szérum-karbamidnitrogén-, szérumkreatinin-, szérum-húgysavszint meghatározása szolgált. Az életmódbeli kockázatok jellemzésére meghatároztuk a vizelet-rodanid-, szérum-glükóz-, szérum-összcholeszterin-, HDL-, LDL-choleszterin-, és szérum-trigliceridszint.

A klinikai laboratóriumi paraméterek eredményei alapján az egyes vizsgálati csoportokban előforduló vashiányos anémia megállapítása esetén az alábbi kritériumokat tartottuk szem előtt: alacsony szérum-vasszint, alacsony szérum-hemoglobinszint, csökkent szaturáció, emelkedett TVK-érték, csökkent MCV és MCH. A metabolikus x-szindróma esetén kritérium volt az emelkedett triglicerid-, koleszterin- és vércukorszint együttes előfordulása.

Géntoxikológiai módszerek

Kromoszóma vizsgálatok

A citogenetikai vizsgálatok a kontroll és exponált donorokból nyert vérből izolált limfociták metafázisos kromoszómáin történtek (6). A vizsgálatokhoz a levett vérből 0,8 ml-t tenyésztettünk 20% borjúsavóval és 0,5% PHA-val kiegészített 10 ml RPMI-1640 tápfolyadékban. A kultúrákat 37 °C-on 5%-os CO_2 páratartalom mellett 50 (CA)

illetve 72 (SCE) órán keresztül inkubáltuk. Az inkubáció 22. órájában 5 µg/ml koncentrációjú 5-bróm-2-dezoxiuridint (BrdU) adtunk a tenyészethez. A lemezek preparációja standard módszer szerint, a kromoszómák festése az ún. fluoreszcens + Giemsa módszerrel történt (23, 29). Az elkészített preparátumokon vizsgáltuk a kromoszómák szerkezeti aberrációinak (CA) és a testvérkromatidok kicserélődésének (SCE) gyakoriságát. A kapott vizsgálati eredményeket egyénileg és csoportszinten egyaránt kiértékeljük.

Szerkezeti kromoszómaaberráció

A kromoszómaaberrációk az expozícióval összefüggő károsodások egyértelmű jelei, melyek hátterében mindig valódi mutációs esemény áll. Az aberrációk meghatározását két értékelő, egymástól függetlenül végezte kódolt lemezről, egyenként 100 metafázis értékelésével. Az értékelés során csak a 46 ± 1 kromoszómaszámú első metafázisokat vettük figyelembe. A táblázatokban a CA jelzés a kromoszómák szerkezeti aberrációinak (töréseinek) százalékos előfordulását jelenti.

Testvérkromatid-kicserélődés

Az SCE mutagén ágens által indukált DNS-kicserélődés a kromoszóma testvérkromatidjai között. Az SCE-gyakoriságok meghatározása során a DNS-bázisokkal rokon 5-bróm-dezoxiuridinnel létrehozott Giemsa-festődési különbséget használjuk fel a DNS-molekulák rendellenességeinek kimutatására. Az SCE-gyakoriság meghatározására a limfociták 72 órás standard tenyésztése és preparálása után került sor 50 metafázis értékelésével (6, 29).

Immunológiai módszerek

A donorok immunológiai státusát a perifériás limfociták felszíni antigénjeit felismerő, fluoreszkáló festékekkel konjugált monoklonális ellenanyagok segítségével, illetve a leukociták ölképességével arányos oxidatív burst meghatározásával határoztuk meg (38).

Felszíni antigének vizsgálata áramlások citometriával
A perifériás limfociták alpopulációit (T-limfocita, helper T, citotoxikus T, B-limfocita és NK-sejt) a limfociták felszíni antigénjei ellen termelt, fluoreszcens festékekkel jelölt monoklonális ellenanyagok segítségével határoztuk meg (2, 3, 38). A mérést áramlási citofluoriméteren végeztük.

A vizsgált felszíni antigének: CD3 (T-sejt-receptor), CD4 és CD8 (T-sejt-koreceptorok), CD19 (B-sejt-koreceptor), CD45 (protein-tirozinfoszfátáz, pan-leukocitamarker), CD56 (neural cell adhesion molecule, NK-sejt-marker).

Neutrofil granulociták reaktív oxigénintermediatermelése

A fehérvérsejtek ölképességével arányos reaktív oxigénintermediatermelést Bursttest (Phagoburst®) kit segítségével mértük (38). A kitben lévő fluorogén szubsztátot oxidálják az aktivált granulociták által termelt oxigénintermedierek. Az át-

alakult szubsztát mennyisége arányos az aktiválás során keletkezett intermedierek mennyiségével. Az aktivációt fMLP (kemotaktikus peptid), ellenanyaggal opsonizált *E. coli*, és PMA (forbol-mirisztol-acetát) használatával végeztük. A mérést FACSCalibur áramlási citométeren végeztük. Mintaként tízezer fehérvérsejt adatait gyűjtöttük és CellQuest Software 3.1 segítségével értékeltük ki.

Statisztikai módszerek

Az adatok statisztikai elemzését és a szignifikanciákat a Student t-próba segítségével számoltuk ki. Az esélyhányadosok számításánál adatainkat a vizsgálati csoporthoz használt kontrollok adataival hasonlítottuk össze.

$$EH = \frac{(a \times d)}{(b \times c)}$$

	beteg (+)	nem beteg (-)
exponált (+)	a	b
nem exponált (-)	c	d

Eredmények

A kórházi nővérek követéses géntoxikológiai vizsgálata

Az egyik legnagyobb létszámú, foglalkozása során különféle daganatkeltő ágensekkel potenciálisan, ill. ténylegesen exponált hazai munkavállalói réteg az egészségügyi dolgozók körében található. Elsősorban a különféle onkológiai egységekben, osztályokon, ill. részlegeken dolgozók vannak kitéve veszélyes, köztük daganatkeltő vegyszerek hatásának. A kezelőszemélyzet is érintkezésbe kerülhet a daganatellenes gyógyszerek porával, gőzével, illetve a beteg váladékaival, ürülékével, ami még tetemes mennyiségű hatóanyagot, vagy azok toxikus köztitermékét tartalmazhatja. Ezek a gyógyszerek komoly expozíciót jelenthetnek különösen az onkológiai és hematológiai osztályokon, ahol naponta több liternyi infúziót is adnak a betegnek. Ezt a tényt támasztja alá az általunk (14, 40, 41) és számos külföldi szerző (5, 25, 47) által írt, hazai és nemzetközi folyóiratokban megjelent közlemény is. Az infúziók kiszűrése ill. elkészítése korábban sok esetben helyhiány miatt a kezelőkben, tartózkodókban vagy egyébként más rendeltetésű helyiségben történt, melyek berendezése nem alkalmas a munkavédelmi szabályok betartására. A gyógyszergyártás irányelveiben sem szerepelt a dolgozók védelme az előállítandó termék expozíciójától. A rendelkezés elsősorban a terméket védte a bakteriológiai és egyéb humán eredetű szennyezésektől, de arra vonatkozólag nem rendelkezett, hogy a gyógyszer a gyártás, csomagolás, ampullázás, tablettázás során milyen veszélyt jelent a munkavállaló egészségére nézve. Ebben a vonatkozásban nagy áttörést jelentett a Primer Prevenció Fórum, amelyik elsőként 1993-ban foglalkozott a témával és már 1994-ben megjelentette a

„Munkahelyi Egészségvédelem és Biztonság Füzetek” (30) sorozatában az első ajánlást a citosztatikumokkal foglalkozók egészségvédelme érdekében. Majd az OGYI kiadványa csak 2004-ben jelent meg (27), amely szintén a citosztatikumokkal foglalkozó személyzet egészségvédelmére vonatkozott. A legújabb ajánlás, amit az OKBI 2006-ban adott ki, egyesíti a két fenti kiadványt és hasznos útmutatóul szolgál az onkológiai nővérek biztonságos munkavégzéséhez (31). Erre azért is nagy szükség van, mert mindazokon a munkahelyeken, ahol nem kielégítőek a feltételek, a géntoxikus hatások kialakulhatnak.

Hasonló bizonytalanságok tapasztalhatók a sterilizáló munkakörben (16), ahol az ETO-expozíció már gyakorlatilag nem létezik, hiszen az ETO-gázzal működő kézi sterilizálók használatát nem engedélyezik, de még mindig előfordul, hogy a központi sterilizálónál is a gázsterilizált anyagok „kiszellőztetése” során fokozott expozíció jön létre. Azt a tényt, hogy az egészségügyben dolgozók munkahelyi egészségvédelme nem tökéletes, az egri kórházban 1993-94-ben lezajlott vizsgálat is bizonyította (21, 22, 37). Ebben az esetben az etilénoxidos sterilizálóból szivárgó gáz mérgezte a kórház csecsemőosztályán dolgozókat, de ennek kapcsán kiderült, hogy a gyógyszerek, vegyszerek, izotópok kezelése sem megfelelő. Az egészségügyben foglalkoztatottak általános munkavédelmi szabályozásának hiányában jelentős áttörés ezen a területen a jövőben sem várható. A minimális feltételek megteremtésének ugyanis anyagi vonzata van, amennyiben ez kötelező, akkor ezt a munkáltatónak kell finanszírozni. Erre viszont az egészségügyben soha sincsen elég pénz. Marad tehát irányadónak a Kémiai Biztonsági Törvény munkavédelemre vonatkozó rendelete, de ez alól is ki lehet bújni, hiszen a mellékletben felsorolt rákkeltők közül a gyógyszereket kihagyták. Ma pedig csak az számít rákkeltőnek Magyarországon, ami a rendeletben benne van.

Kórházi dolgozók követéses vizsgálata

1994 óta összesen 717 kórházi nővér több mint 2000 vizsgálatát végeztük el a géntoxikológiai monitorozás segítségével, amit 94 korban egyeztetett nem exponált kontrollal hasonlítottunk össze. Fővárosi és vidéki kórházak nővérei közel azonos számban szerepeltek. Átlagéletkoruk az expozíció függvényében különbözött, mint azt a 2. táblázat adatai mutatják, 28-45 év között változott, átlagosan 37,9 év volt. A dohányzók száma 26-47% között ingadozott, átlagosan 36,7% dohányzott. A rendszeres alkoholfogyasztás is meglepően magas volt, míg a kontrolloknál 36,2%, addig az aneszteziológus asszisztensek körében 68,2% volt. Az összes minta átlagában is magas volt ez a szám: 57,7%.

Három különböző munkaterületen dolgozó nővérek citogenetikai adatait hasonlítottuk össze az 5. ábrán. Jól látható, hogy a fertőtlenítőszerrel exponált nővérek adatai kezdetben igen kiugróak voltak, majd rohamos javulás következett

be. Az adatok nem csupán egyetlen munkahelyre vonatkoznak, hanem összevontan szerepelnek különböző területi kórházakban dolgozók bevonásával készült éves bontásban.

Az aneszteziológus asszisztenseket csak 2000-ben kezdtük vizsgálni, de körükben sem megnyugtató a helyzet, hiszen az altatógáz mellett ők is érintkeznek fertőtlenítőszerrel, sugárhatással (rtg), gyógyszerekkel, izotópokkal, stb.

Ennek eredményeként 2005-ben a CA értékek a várható ipari kontroll szint fölé emelkedtek (2,5%). Hasonló romló tendencia mutatható ki a citosztatikumokkal exponált nővérek körében, ahol átmeneti javulást követően 2005-ben a csoportátlag ismét 3,4%-ra emelkedett.

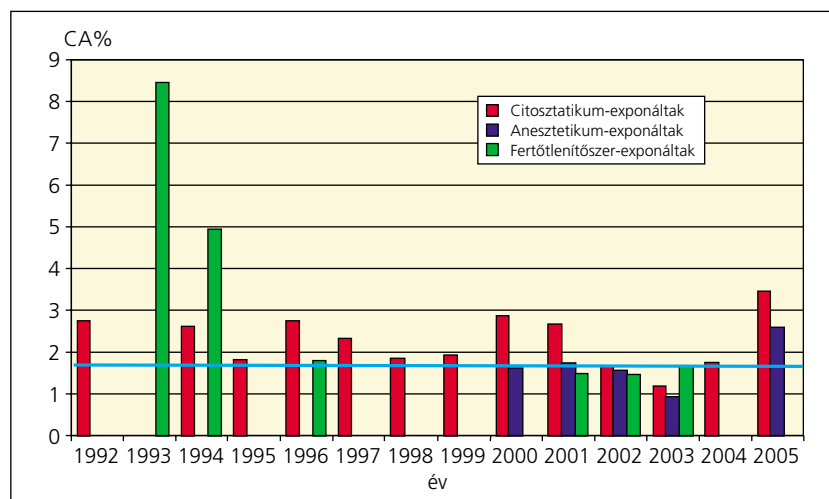
Az elvégzett citogenetikai, illetve géntoxikológiai vizsgálatok eredményeit a 3. táblázatban foglaljuk össze. A különböző expozíciók mellett megvizsgáltuk, a dohányzás hogyan függ össze a CA és az SCE értékekkel. Látható, hogy a CA és SCE

2. táblázat.
A kórházi nővérek
demográfiai adatai

Vizsgálati csoportok		n	Átlagéletkor (év±SE)	Dohányzik* (%)	Alkoholt fogyaszt* (%)
Nem exponált kontroll (női)	—	94	39,9±1,4	26,6	36,2
Citosztatikumok	Védelem nélkül	339	34,2±0,6	43,9	38,4
	Védelem mellett	147	33,2±0,7	43,5	49,0
	ISO szabvány szerint	14	28,9±2,1	42,9	85,7
Altatógázok	Védelem nélkül	44	40,9±1,4	47,7	68,2
	Védelem mellett	87	39,6±1,0	33,3	63,2
Fertőtlenítőszer	Védelem nélkül	66	42,3±1,2	36,4	39,4
	Védelem mellett	20	44,9±2,4	20,0	45,0

* aktív dohányzó; * kevesebb, mint 80 g tiszta alkohol

5. ábra. A kórházi nővérek kromoszóma-rendellenességeinek alakulása az idő függvényében



3. táblázat. Kromoszómaaberrációs- és SCE-gyakoriság összefüggése a dohányzással

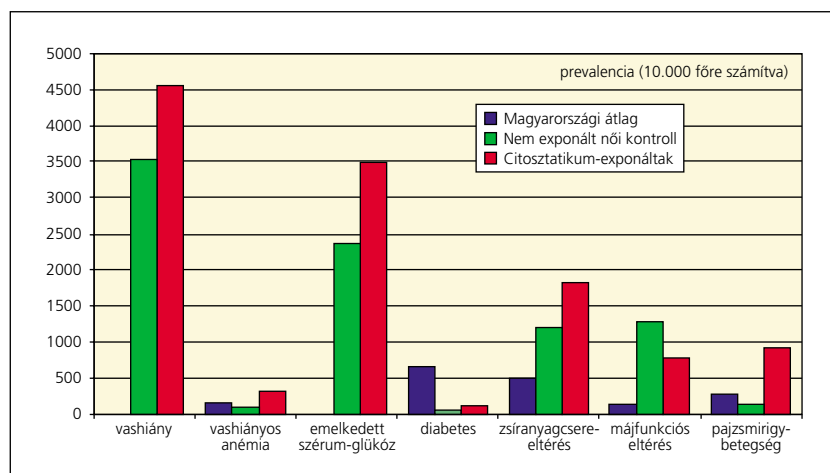
Vizsgálati csoportok		CA (%)		SCE (1/mitózis)	
		Dohányzó	Nem dohányzó	Dohányzó	Nem dohányzó
Nem exponált kontroll (női)	—	1,75±0,44	1,75±0,32	6,92±0,20	6,21±0,18
Citosztatikumok	Védelem nélkül	2,87±0,26*	1,95±0,17	6,84±0,07*	6,50±0,07
	Védelem mellett	2,14±0,26	1,97±0,32	6,92±0,09	6,65±0,11
	ISO szabvány szerint	1,29±0,71	0,29±0,29	6,54±0,26*	5,85±0,10
Altatógázok	Védelem nélkül	1,60±0,30	1,50±0,36	6,96±0,22*	6,37±0,17
	Védelem mellett	1,44±0,33	1,75±0,24	6,44±0,16	6,09±0,08
Fertőtlenítőszer	Védelem nélkül	5,72±0,78	5,23±0,57	6,87±0,16*	6,35±0,16
	Védelem mellett	0,66±0,42	1,54±0,46	6,55±0,41	5,96±0,19

*szignifikáns különbség a nem dohányzókhöz képest (Student's t-próba, p<0,05)

4. táblázat. A különböző expozícióknak kitett kórházi dolgozók esélyhányadosa a leggyakoribb krónikus nem fertőző betegségekre

Betegségek	Citosztatikumok	Altatógázok	Fertőtlenítőszer
	EH		
Emelkedett szérumszén-dioxid-szint	1,9	1,6	1,7
Anémia	1,4	2,2	1,3
Metabolikus X-szindróma	1,2	1,4	1,4
Pajzsmirigy	9,1	9,1	8,0
Emlő- és petefészek-karcinóma	0,6	0,8	18,8
Myoma	3,8	11,6	9,2
Allergia	0,7	1,0	0,8

6. ábra. A citosztatikumokkal dolgozó nővérek morbiditási adatai az átlag női lakossághoz és a saját kontrollhoz viszonyítva



értékek különösen a dohányzók körében magasak a nem exponáltakhoz képest, amit korábban Gorecka (10), Jensen (15), és Norppa (24) is kimutattott. Amíg a dohányzás önmagában nem okozott szignifikáns különbséget a CA értékekben a kontrollok körében, addig a dohányzó citosztatikum-exponáltaknál közel duplájára emelkedett. Felmerül a kérdés, hogy a kromoszóma-rendellenességek számának emelkedése milyen egészségi állapot-változással jár, és egyáltalán a kórházban elszennvedett vegyi expozíció jelent-e valami veszélyt bizonyos betegségek halmozódására. Megvizsgáltuk, hogy a nővérek között a magas szérumszén-cukor-, lipidszint, a metabolikus x-szindróma, az anémia, pajzsmirigybetegségek és a különböző daganatok előfordulásának milyen esélye van az átlagpopulációhoz képest. Az eredményeket az esély-hányados (EH) kiszámításával jellemeztük (4. táblázat). Amennyiben az EH érték meghaladja az 1-et, akkor fokozott kockázat jósolható. Megállapítottuk, hogy a felsorolt állapotok közül az altatógázzal, citosztatikumokkal és fertőtlenítőszerrel exponáltak a cukor- és zsíranyagcsere zavarára, az anémiára, a pajzsmirigybetegségekre és a myomára, az ETO-exponáltak a rosszindulatú emlő- és petefészekrákra is különösen hajlamosak. Az adatok közötti eltérést az eset-számok különbözősége magyarázhatja. Meglepő, hogy az allergiás habitus a nővérek között nem gyakoribb, mint az átlaglakosság körében. Ennek talán az lehet az oka, hogy az allergiás személyek nem vállalkoznak szívesen a kórházi munka legveszélyesebb feladatainak elvégzésére. A citosztatikus expozíciónak kitett nővérek részletes egészségi állapotát jellemző adatokat a 6. ábrán mutatjuk be, ahol az összes donor klinikai státusát hasonlítottuk össze a saját szelektált nem citosztatikum-exponált kontrollal és a hazai lakosság egészségi állapotával, amit az életkorra standardizáltunk. Látható, hogy a kontroll csoportokhoz képest a nővérek gyakrabban lesznek vashiányosak és ennek eredményeként anémiásak, könnyebben betegszenek meg daganatokban és a pajzsmirigy-elváltozásokkal járó betegségek gyakoribbá válhatnak közöttük. A mindezek hátterében lezajló immunológiai történéseket keresve megállapítottuk, hogy a vashiány és a vas szaturációja összefügg az „oxidatív burst” csökkenésével, ami a leukociták öléképeségének gyöngülését jelenti, különösen a PMA-val történő stimuláció esetén (7. ábra). A kromoszóma-rendellenességektől részben független, de párhuzamos eltérést jelent a vashiányos anémia kialakulása. A vasanyagcsere változásai viszont alapvetően befolyásolják a szabadgyökök képződését és azt, hogy a folyamat mennyire állandó. Enyhe vashiány fokozza a kémiai anyagok által indukált emlőrák gyakoriságát. Vashiányban az emlő kifejlődése zavart szenved, ami az emlő pubertáskori fejlődésének visszamaradásával magyarázható. A fehérjéhez kötött vas nem alkalmas a folyamatok katalizálására. A vas katalizálja a leukocitákban a szabadgyökök OH• keletkezését, így vashiány esetén csökken a leukociták öléképesége, ami a fertőzésekkel szembeni fokozott érzékenységet jelent a vashiányos ané-

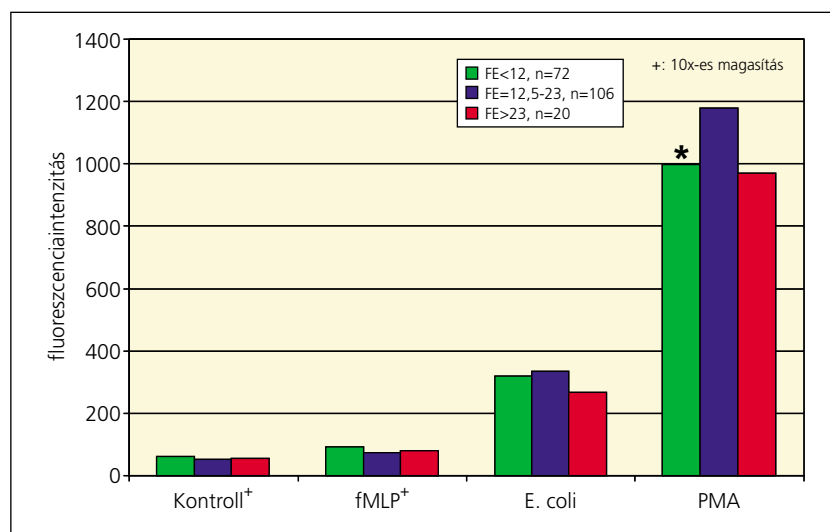
miás egyénekénél. Az aktivált leukociták képesek vasat mobilizálni a ferritinból, míg a humán transzferrinből nem. A folyamat részben a szövet oxigenizációjától, részben a redox-státusától is függ. Gátolható a vas felszívódása fokozott szabadgyök-képződéssel, ugyanakkor a természetes anti-oxidáns enzimeknek, mint pl. szuperoxid-diszmutáznak az aktivitását a vas képes fokozni, ami elősegíti az elhúzódó oxidatív folyamatok leállítását (19). Mindebből következik, hogy a redox-státus épségéhez optimális szérumszénkoncentráció szükséges.

Az oxidatív folyamatok mellett a géntoxikológiai eltérések jelenléte is befolyással bír az immunrendszerre. Megvizsgáltuk azoknak a nővéreknek az immunfenotípusát, akik a kontrollhoz képest eltérő géntoxikológiai paramétereket mutattak. Ezeket a mintákat összehasonlítottuk azokkal, akiknél az expozíció ellenére sem alakult ki géntoxicitás. Megállapítottuk, hogy mind a Th-, mind az aktivált T-, Th- és B-szubpopulációk aránya a nem érintett csoporthoz képest szignifikánsan emelkedett, míg az NK-sejtek aránya és az oxidatív burst aktivitása jelentősen csökkent (5. táblázat). Az oxidatív burst jelensége tehát nem csak a vasanyagcserével, hanem a kromoszómaaberrációk jelenlétével is összefüggést mutatott. A 8. ábrán azt láthatjuk, hogy milyen mértékű géntoxicitás szükséges ahhoz, hogy az oxidatív burst jelenségét megváltoztassa. Az oszlopdiagramok jól mutatják, hogy az igazi változásokat itt is a PMA-stimuláció esetén tudtuk kimutatni, és a különbség szignifikáns már az enyhe géntoxicitás mellett is, hiszen 1-4 közötti kromoszómaszám elegendő ahhoz, hogy az oxidatív burst szignifikánsan csökkenjen.

Aszfaltipari munkások követéses géntoxikológiai vizsgálata

Az aszfalt egyik legfontosabb összetevője a bitumen, aminek alacsony kátránytartalmú változatát már 1960-tól alkalmazzák Magyarországon. A hagyományos bitumen az IARC beosztás szerint 2B csoportba tartozó karcinogén, ugyanakkor a fokozatos átalakítások eredményeként ma már az aszfalt az egyik leginkább környezetbarát építőanyag. Ugyanakkor a technológia alkalmaz különböző adalékanyagokat, oldószereket, és a hőmérséklettől függően keletkezhetnek gőzök, amelyek károsak lehetnek az egészségre. Ilyenek lehetnek a PAH-ok és a gázolaj, amelyek már az obligát humán rákkeltők közé tartoznak. Számunkra és a munkáltató számára is ezért volt fontos a kockázatbecslés elvégzése. A 6. táblázatban mutatjuk be az aszfaltipari munkások demográfiai adatait, átlagéletkorát, dohányzási és alkoholfogyasztási szokásait és a munkában eltöltött idejét. A fizikai állomány életkora megegyezett a kontrolléval, ugyanakkor a vezetők 8-10 évvel idősebbek voltak. A dohányzók aránya a vezetőknél és a kontrolloknál alacsonyabb volt, ugyanakkor az alkoholfogyasztási szokások alig tértek el egymástól. Némi torzítás az esetszámok különbözőségéből adódik. Az expozíciós idő átl-

7. ábra. A szérumszén-szint összefüggése az oxidatív burst szintjével; *szignifikáns különbség a normális (Fe = 12,5-23) szérumszén-szinthez képest (Student's t-próba, $p < 0,05$)

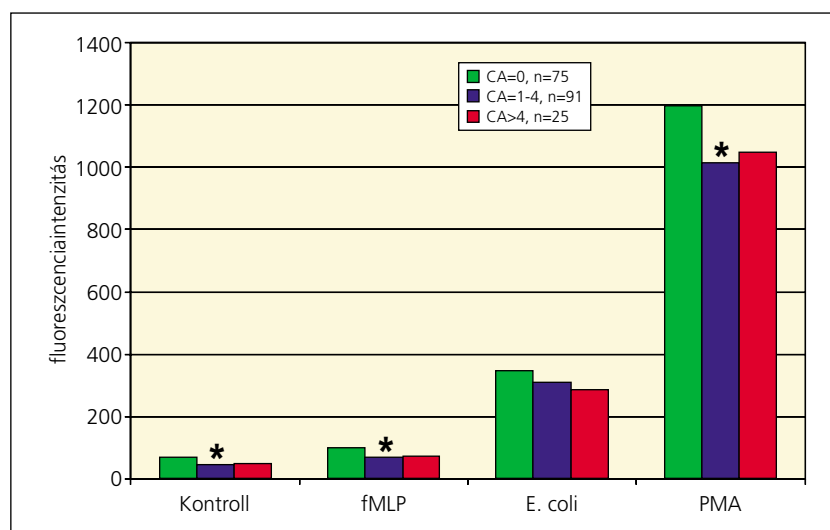


5. táblázat. Immunfenotípus-változások a citosztatikummal exponált nővérek között a géntoxikológiailag érintett és nem érintett csoportban

Vizsgálati paraméterek	Genotoxikológiailag nem érintett	Genotoxikológiailag érintett
Th-sejt (%)	43,79±0,56	46,93±0,90*
NK-sejt (%)	12,21±0,43	10,67±0,65*
Aktivált T-sejt (%)	12,70±0,78	16,30±1,10*
Aktivált Th-sejt (%)	18,53±1,10	23,42±1,10*
Aktivált B-sejt (%)	40,78±2,37	50,62±3,57*
Oxidatív burst (fluoreszcianintenzitás)	526,37±32,67	334,74±17,49*

*szignifikáns különbség a genotoxikológiailag nem érintett csoporthoz képest (Student's t-próba, $p < 0,05$)

8. ábra. A kromoszómaaberrációk emelkedésének hatása az oxidatív burst szintjére; *szignifikáns különbség a CA = 0-hoz képest (Student's t-próba, $p < 0,05$)

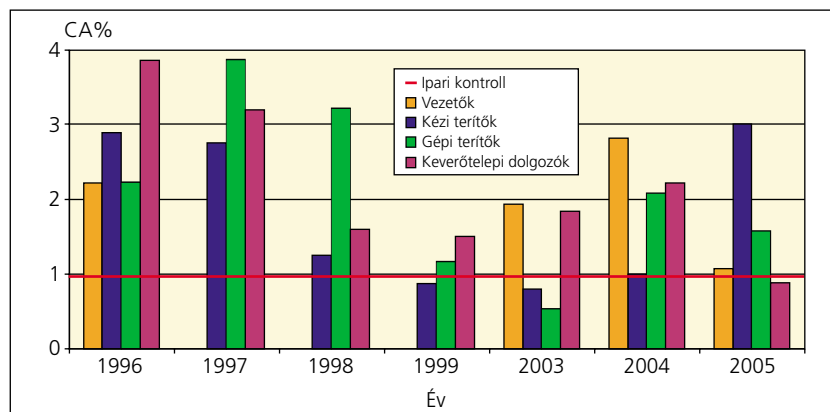


6. táblázat. Aszfaltipari munkások demográfiai adatai

Csoportok	n	Kor (év)	Expozíciós idő (év)	Dohányzik*		Alkoholt fogyaszt*	
				n	%	n	%
Ipari kontroll	33	39,48±2,37	0	15	45,45	20	60,61
Vezetők	23	45,79±1,40	5,97±1,40	9	39,13	19	82,61
Kézi terítők	23	32,98±1,39	9,40±1,11	18	78,26	16	69,57
Gépi terítők	28	38,68±1,05	13,83±1,14	14	50,00	19	67,86
Keverőtelepi dolgozók	15	38,77±1,08	11,64±0,96	13	86,67	12	80,00

*valaha dohányzó; *kevesebb, mint 80 g tiszta alkohol

9. ábra Aszfaltipari munkások követéses vizsgálata (CA)



7. táblázat. Az aszfaltipari munkások citogenetikai adatai

Csoportok	Vizsgálat /donor	CA (%)	SCE (1/mitózis)
		átlag±SE	átlag±SE
Ipari kontroll	33/33	1,03±0,26	6,29±0,16
Vezetők	57/23	2,02±0,32*	6,36±0,13
Kézi terítők	45/23	1,82±0,29*	6,92±0,16*
Gépi terítők	76/28	1,89±0,24*	6,46±0,10
Keverőtelepi dolgozók	53/15	2,08±0,28*	6,69±0,14*

*Szignifikáns különbség az ipari kontrollhoz képest (Student's t-próba, p<0,05)

8. táblázat. Aszfaltipari munkások követéses vizsgálata (EH az ipari kontroll donorok adataihoz viszonyítva)

Betegségek	EH			
	Vezetők	Kézi terítők	Gépi terítők	Keverőtelepi dolgozók
Magas vérnyomás	13,2	4,8	8,7	15,9
Ízületi kopás	2,4	1,1	3,4	2,6
Emelkedett szérumszint	1,4	0,5	0,8	4,9
Emelkedett szérumszint	1,5	4,4	2,4	4,2
Emelkedett szérumszint	3,3	2,6	6,3	8,9
Veseproblémák	13,2	13,9	20,7	15,9
Emelkedett fehérvérsejtszám	2,9	6,7	10,7	36,5

gosan 10-13 év, míg a vezetőknél csak 4-6 év volt. Tehát több ciklusban változó munkakörülmények között végeztek a munkájukat.

Az aszfaltipari munkások követéses vizsgálatának eredményeit a 9. ábrán mutatjuk be. A CA értékek időbeni változásai jelentős ingadozást mutatnak. Egyébként a mintavételi időpontok szerint elvégzett vizsgálatok két szakaszra bonthatók. Az egyik periódus 1996-1999 között zajlott, a másik 2003-2006 között. Ez utóbbiban a géntoxikológiai paraméterek meghatározása mellett immunotoxikológiai vizsgálatokat is végeztünk. Összesen 89 aszfalt-exponált személyt vizsgáltunk meg (23 vezetőt, 23 kézi terítőt, 28 gépi terítőt és 15 aszfaltkeverőt). A vizsgálatok eredményeit 33 nem exponált ipari kontrollhoz hasonlítottunk, akiket korban és nemben egyeztetünk a fizikai állománnyal.

A legmagasabb arányú kromoszóma-rendellenességet a rosszul szellőző zárt kabinban dolgozó gépi terítők és a keverőtelepi dolgozók között találtuk 1997-ben (3,8%) és 1998-ban (3,2%). Később a munkakörülmények fokozott javításával jelentősen csökkent a CA érték és 2003-ra elérte az ipari kontroll szintjét, majd enyhén újra emelkedni kezdett. A kézi terítők között 1996-ban közel 3%-os csoportátlagot találtunk, ami egyenletesen csökkent 2003-ig, majd újra emelkedni kezdett. Ennek oka minden bizonnyal a gázolaj használata, amit időszakosan környezetbarát oldószerrel helyettesítettek. Hasonló javulás, majd romlás következett be az aszfaltkeverők körében is, bár ez utóbbi csapat sokat tett a technológiai fegyver megújításáért. A vizsgálataink során a donorok általános egészségi állapotát és krónikus betegségeit is számba vettük. Megállapítottuk, hogy a nyári forróságban, és a szélsőséges időjárási viszonyok mellett az oldószerként használt gázolaj és a gépek üzemeltetése kapcsán felszabaduló kárpufogógázok képezik a legfőbb veszélyforrást. Az alacsony bitumentartalmú aszfalt közepes hőmérsékleten nem oka az egészségkárosodásnak, erre utal az a jelenség, hogy az aszfalt-expozíciónak alig kitett vezetők CA értékei igen hasonlóak voltak a fizikai dolgozókéhoz. A különbség abban mutatkozott meg, hogy a vezetőknél az SCE érték nem emelkedett, míg a kézi terítőknél és a keverőtelepi dolgozóknál az SCE érték átlaga is szignifikánsan emelkedett (7. táblázat). A különbség másik oka lehet az, hogy a vezetők 8-10 évvel idősebbek voltak a fizikai állománynál, és a rendszeres orvosi alkalmassági vizsgálat során náluk nem volt kizáró ok bizonyos mozgásszervi, vagy keringési betegségek megléte, amire rendszeresen gyógyszereket szedtek. Ezt a jelenséget hívja az irodalom „egészséges munkás” hatásnak (healthy worker effect) (44).

A 8. táblázat adatai ezt a feltételezést részben igazolják, hiszen a vezetők hipertónia esélyhányadosa (EH) 13,2, ami a kézi és gépi terítők esetében alacsonyabb. A keverőtelepi dolgozóknál viszont már ez az érték szintén magas. A többi laboratóriumi paraméter az ipari kontrollhoz képest valamennyi csoportban emelkedett. Különösen szembetűnő az ízületi problémák emelkedett

Csoportok	n	Aktivált T	Aktivált Th	Aktivált Tc	CD71+ T-sejt	CD71+ B-sejt
		CD25+/CD3+	CD25+/CD4+	CD25+/CD8+	CD71+/CD3+	CD71+/CD19+
Ipari kontroll	33	16,9±1,7	26,1±2,3	6,0±1,5	3,70±1,48	50,6±4,8
Vezetők	16	25,0±3,3*	34,2±3,2	9,7±3,0	2,10±0,33	56,0±4,5
Kézi terítők	5	22,4±1,6	36,2±1,6*	3,9±0,6	1,79±0,42	70,7±7,3*
Gépi terítők	16	18,9±2,0	31,0±2,6	3,3±0,6	1,84±0,34	69,3±4,5*
Keverőtelepi dolgozók	12	22,5±2,9	35,6±2,8*	5,7±1,9	1,85±0,23	70,1±6,2*

*Szigorú különbség az ipari kontrollhoz képest (Student's t-próba, p<0,05)

EH értéke. Az emelkedett szérumban csak a keverőtelepi dolgozókra volt jellemző. A magas szérumban-lipid- és cukorszint is ebben a csoportban volt a legmagasabb. A hipertóniával összefüggésben még érdemes kiemelni a vesebántalmakat, melyek vesekövesség, magas NAG érték és mikrohematuria, gennyivizelés formájában mutatkoztak. A fehérvérsejtszám valamennyi csoportban magasabb volt a kontrollnál, melyre további vizsgálatok adhatnak magyarázatot.

Az immunológiai paraméterek közül a T-sejtek aránya, mind a citotoxikus (Tc), mind a segítő (Th) sejtek aktivációja fokozódott (9. táblázat). A B-limfocita-aktiváció viszont csak a fizikai állományra volt jellemző (CD71 + CD19+). Lehetőség, hogy a kiugróan magas fehérvérsejtszámot ez a jelenség is magyarázhatja.

Olajipari munkások követéses géntoxikológiai vizsgálata

Magyarországon évente kb. 100 ezer tonna benzolt gyártanak, ami fontos vegyipari- és gyógyszeralapanyag. A benzolt a kőolaj-finomítás kapcsán állítják elő. A benzol rákkeltő anyag, az IARC-besorolás szerint A1-es kategóriába tartozik, amivel a bizonyítottan humán rákkeltőket jelölik. A gyártási folyamat a termék veszélyességére való tekintettel többnyire zárt rendszerben, automatikusan történik, mégis a minőség ellenőrzése kapcsán emberi expozíció is előfordulhat. Ennek megakadályozására személyi védelem (gázálar, vegyvédelmi ruházat, kesztyű, stb.) áll rendelkezésre, a biológiai és környezeti monitorozás mellett. A rejtett expozíciók kimutatására 15 éve rendszeresen végzünk citogenetikai monitorozást a legveszélyeztetettebb dolgozóknál. A benzol gátolja a topoizomeráz aktivitását, amit a P53 gén szabályoz. Ennek eredményeként a kromoszóma-rendellenességek száma és a korai centroméra-szétválás esélye megnő. Fokozott expozíció hatására a strukturális kromoszóma-rendellenességek (CA), az SCE és a pontmutációk száma is emelkedik.

A 10. táblázatban mutatjuk be az olajipari munkások demográfiai adatait az expozíciós ágens szerinti csoportosításban. 85 benzol-, 16 sztirol-, 20 PAH- és 40 vegyes oldószer-exponáltat követtünk nyomon, és a citogenetikai vizsgálatok eredményét 87 ipari kontroll mintájához hasonlítottuk. A csoportok átlagéletkora 38 és 43 év között változott, tehát jelentős korbeltérítés

nem mutatkozott. A kromoszómaaberrációk és az SCE értékek átlagait a 11. táblázat mutatja. Ennek értelmében a legmagasabb CA értéket a benzol-exponáltak között találtuk, de valamennyi exponált csoportban az SCE érték is szignifikánsan emelkedett.

Követéses vizsgálataink jól mutatják, hogy a több-végpontos humán géntoxikológiai monitorozás időben képes jelezni a limfocitákban bekövetkező géntoxikus hatásokat. Ezek az elváltozások megszűnhetnek, ha a munkakörülmények javulnak. Ezért a követéses jellegű vizsgálatok nem csupán a baj korai felismerését, a kockázatok felmérését, hanem a pozitív változásokat is képesek kimutatni.

Az évenkénti vizsgálatokat mindig nyár elején, május-június hónapban végezzük. Átlagosan 20 fő vett részt a vizsgálatban, férfiak és nők vegyesen. A munkatérben uralkodó benzol-expozíció a mért adatok alapján 1 ppm alatti értéket mutatott az elmúlt 3 évben. Korábban voltak kiugrások, mint az a 10. ábrán látható, összefüggésben a kromoszómaaberrációkkal.

9. táblázat.
Aktivált limfociták
aránya a kontrollok
és aszfaltipari
munkások
vérmintáiban

10. táblázat.
Az olajipari munkások
demográfiai adatai

Csoportok	n	Kor (év)	Expozíciós idő (év)	Dohányzik*	Alkoholt fogyaszt†
		átlag±SE		%	
Ipari kontroll	87	38,6±1,1	–	42,5	40,2
Benzol	85	38,3±0,4	14,8±0,4	40,0	63,5
Sztirol	16	41,1±0,7	8,6±0,3	62,5	81,3
PAH	20	43,5±0,8	21,7±0,7	50,0	65,0
Vegyes oldószer	40	41,3±0,8	16,8±0,9	35,0	42,5

*valaha dohányzó; †kevesebb, mint 80 g tiszta alkohol

11. táblázat. Az olajipari munkások citogenetikai adatai

Csoportok	Vizsgálat /donor	CA (%)	SCE (1/mitózis)
		átlag±SE	
Ipari kontroll	87/87	1,58±0,24	5,71±0,12
Benzol	381/85	3,08±0,18*	6,59±0,06*
Sztirol	163/16	3,03±0,22*	6,86±0,08*
PAH	121/20	2,71±0,24*	6,69±0,29*
Vegyes oldószer	118/40	2,67±0,23*	6,60±0,12*

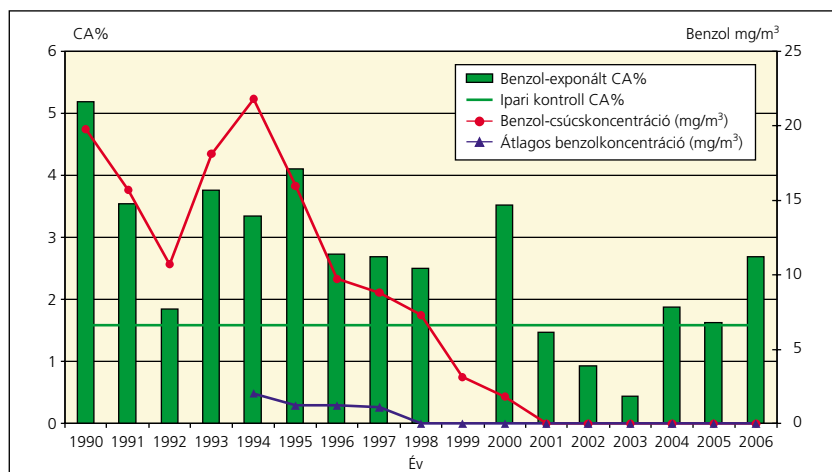
*Szigorú különbség az ipari kontrollhoz képest (Student's t-próba, p<0,05)

Megbeszélés

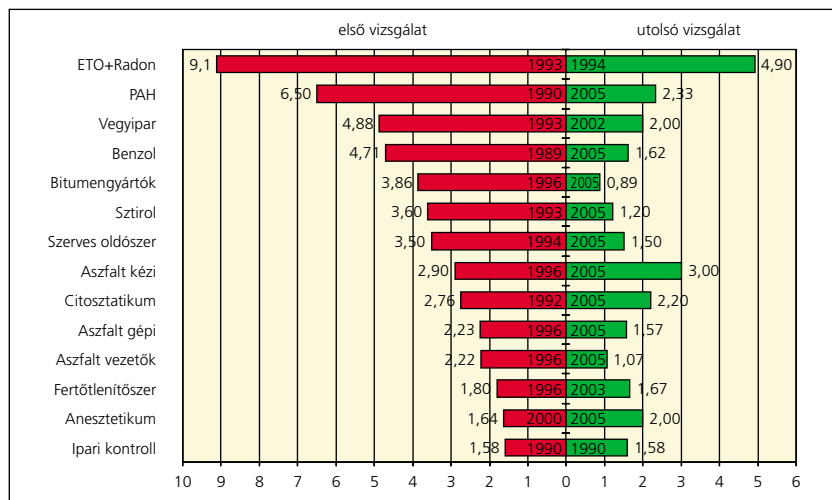
Az elmúlt 25 év során egyre bővülő metodikai skála segítségével közel 8 ezer donor géntoxikológiai vizsgálatát végeztük el. Az utóbbi 6 évben 1800 olyan donort vizsgáltunk, akiknél a géntoxikológiai paraméterek mellett az immuntokológiai fenotípust is meghatároztuk. A jelen közleményben csupán 3 expozíciós csoport eredményeit ismertetjük részletesen, a benzol-, az aszfalt-bitumen-exponáltakét és a kórházi nővéreket, melyek közül a legnagyobb csoportot az onkológiai osztályokon dolgozó, citosztatikumos infúziót és kezeléseket végző nővérek csoportja jelenti. Ezeknél a követéses vizsgálat során az eredmények önkontrollos értékelésére is lehetőség nyílt. A 11. ábra oszlopdiagramja bemutatja az elmúlt 25 évben végzett vizsgálatok közül azokat, amelyeknél ismételt vizsgálatokra is lehetőség nyílt. A vizsgálatban szereplő exponált donorokat a csoport-szintű kromoszóma-rendellenességek %-os arányainak csökkenő sorrendjében mutatjuk be. A legfelső oszlopban az egri nővérek adatai szerepelnek, akiknél az etilénoxid-expozíció mellett az ivóvíz radon-expozíciója is szerepet játszhatott a daganatos betegségek halmozódásában. A kromoszóma-aberrációk átlaga az eddig vizsgált donorok közül ebben a csoportban volt a legmagasabb (9,1%), mint azt a korábbi publikációkban már ismertettük

10. ábra.

A munkahelyi benzolkoncentráció és a kromoszómaaberrációs gyakoriság összefüggése benzol-exponált dolgozók követéses vizsgálata során



11. ábra. A vizsgálati csoportok CA-átlagai az első és az utolsó időpontban



(21, 22, 37). Az ismételt vizsgálatnál, amikor az ETO-expozíció már 1 éve szünetelt, a CA értékek csökkentek (4,9%). A második csoportban a policiklikus aromás szénhidrogén (PAH) exponált bitumenalapanyag-gyártók szerepeltek. Náluk a vizsgálat kezdetén 6,5%-os CA értéket mutattunk ki, ami az utolsó vizsgálatnál némi ingadozás után 2,3%-ra csökkent. A sorrendben a harmadik csoport a vegyipari munkások voltak, akiknél több vegyszertől származó, hosszú expozíciós idő (8-10 év) eredményeként kialakuló 4,88%-os CA értéket figyelhetünk meg. A követés végén ez az érték 2%-ra csökkent. A benzol-exponáltak csoportját részletesen is ismertetjük. Az exponáltak CA-csoportátlaga kezdetben 4,71% volt, ami a legutolsó, 2005-ös vizsgálatra az ipari kontroll szintjére csökkent (1,62%). Hasonló jó eredmények mutatkoztak az aszfaltkeverők között, ahol 3,86%-ról 0,89%-ra csökkent a CA érték. A sztirol előállítók körében 3,6%-ról 1,2%-ra, a vegyes oldószerrel exponáltaknál 3,5-ről 1,5%-ra csökkent a CA érték. A kézi aszfaltozók körében, akiknek vizsgálati eredményeit szintén részletesebben ismertettük, némi javulás után a géntoxicitás újra emelkedett. Az aszfaltipari vezetők körében is csökkent a CA érték 2,2-ről 1,07-re, ami megfelel a várt értéknek. Tehát a vizsgált csoportok döntő többségében a munkakörülmények javításával, az expozíció csökkentésének eredményeként néhány év alatt jelentős javulás következett be. Csúpn a kézi aszfaltozók és a citosztatikum-exponált nővéreknél lehetett tapasztalni ingadozást, ami részben abból adódott, hogy az ismételt vizsgálatokban újabb exponált dolgozók kerültek be a csoportba, másrészt a munkavédelem időről-ídrőre fellazult. Érdekes az aszfaltipari munkások vezérkarának vizsgálati eredménye, ahol a vártnál magasabb értékeket találtunk az első vizsgálatnál. Ennek pontos magyarázata még nem teljesen tisztázott, de lehetséges, hogy az ún. „healthy worker effect” náluk is érvényesült (44). Ezt a fogalmat a foglalkozás-egészségügy jól ismeri. Röviden azt jelenti, hogy veszélyes munkakörökből az alkalmassági vizsgálatok a krónikus nem fertőző betegségek bizonyos csoportját kizárhatják, ezért nem kerülnek be az exponáltak körébe. A vezetők esetében ilyen szigorú ellenőrzés nincs. Tehát előfordulhat, hogy a vezetői réteg egészségi állapota rosszabb, mint az exponált dolgozóké. A másik ok lehet az életkor, hiszen a vezetők átlagosan 8-10 évvel idősebbek a fizikai állományánál. Valamennyi vizsgálati csoportnál megállapítottuk, hogy a munkakörülmények optimalizálásával a géntoxikológiai paraméterek javulnak, így a prevenció hatékony eszközeként alkalmazható a gyakorlatban.

Köszönetnyilvánítás

A kézirat előkészítéséért és a statisztikai számításokért köszönetemet fejezem ki Magyar Baláznak, és az Országos Kémiai Biztonsági Intézet munkatársainak: Major Jenőnek, Biró Annának, Jakab Mátyásnak, Klupp Tibornak, Briski Krisztinának, Fodor Zoltánnak, Rétháti Istvánnak, Töllyhi Pálnak, Szép Kiss Sándornak, Szeremlei Szabóné B. Tündének, Bárdi Miklósnak és Czifra Évának.

Irodalom

1. Basu A, Haldar S. Apoptosis, antiapoptosis and Bcl2. *EOS J Immunol Immunopharmacol* 16:41-47, 1996
2. Biró A, Pállinger E, Major J, et al. Lymphocyte phenotype analysis and chromosome aberration frequency of workers occupationally exposed to styrene, benzene, polycyclic aromatic hydrocarbons or mixed solvents. *Immunol Lett* 81:133-140, 2002
3. Biró A, Pállinger E, Falus A, Tompa A. Immuntokológiai vizsgálatok alkalmazása a kockázati csoportok jellemzésében. *Magyar Onkológia* 48:137-139, 2004
4. Blagosklonny MV. Molecular theory of cancer. *Cancer Biol Ther* 4:621-627, 2005
5. Bolognesi C, Nucci MC, Colacci AM, et al. Biomonitoring of nurses occupationally exposed to antineoplastic drugs: the IMEPA Project. *Epidemiol Prev* 29(5-6 Suppl): 91-95, 2005
6. Carrano AV, Natarajan AT. Considerations on population monitoring using cytogenetic techniques. *ICPEMC Publ. No.14. Mutat Res* 204:379-406, 1988
7. Cavallo D, Ursini CL, Perniconi B, et al. Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees. *Mutat Res* 587:45-51, 2005
8. Esteller M. Epigenetics provides a new generation of oncogenes and tumour suppressor genes. *Br J Cancer* 94:179-183, 2006
9. Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. Ed. by World Cancer Research Fund American Institute for Cancer Research, Diet and Cancer Process 1997, pp. 54-71
10. Gorecka D, Gorski T. The influence of cigarette smoking on sister chromatid exchange frequencies in peripheral lymphocytes among nurses handling cytostatic drugs. *Pol J Occup Med Environ Health* 6:143-148, 1993
11. Hagmar L, Brogger A, Hansteen IL, et al. Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic Study Group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Res* 54:2919-2922, 1994
12. Hussain SP, Harris CC. TP53 Tumor suppressor gene: at the crossroads of the cellular-stress response pathway and molecular carcinogenesis. In: *Environmental and Occupational Medicine*. Ed: Rom WN, LWW, 2007, pp.101-108
13. Jacobson-Kram D, Albertini RJ, Branda FR, et al. Measurement of chromosomal aberrations, SCE, hprt mutants and DNA adducts in peripheral lymphocytes at increased risk for cancer. *Environ Health Perspect* 101(Suppl 3):121-125, 1993
14. Jakab MG, Major J, Tompa A. Follow-up genotoxicological monitoring of nurses handling antineoplastic drugs. *J Toxicol Environ Health A* 62:307-318, 2001
15. Jensen OM, Knudsen JB, McLaughlin JK, Sorensen BL. The Copenhagen case-control study of renal pelvis and ureter cancer: role of smoking and occupational exposures. *Int J Cancer* 41:557-561, 1988
16. Kardos L, Szeles G, Gombkoto G, et al. Cancer deaths among hospital staff potentially exposed to ethylene oxide: an epidemiological analysis. *Environ Mol Mutagen* 42:59-60, 2003
17. Krueger KE, Srivastava S. Biomarkers. In: *Environmental and Occupational Medicine*. Ed: Rom WN, LWW, 2007, pp.109-119
18. Langlois NE, Eremin O, Heys SD. Apoptosis and prognosis in cancer: rationale and relevance. *J R Coll Surg Edinb* 45:211-219, 2000
19. Lieu PT, Heiskala M, Peterson PA, Yang Y. The roles of iron in health and disease. *Mol Aspects Med* 22:1-87, 2001
20. Magyar Gallup Intézet. Gyorsjelentés az országos lakossági egészségfelmérésről. IV. Egészségi állapot. <http://www.gallup.hu/olef/4.html>
21. Major J, Jakab MG, Tompa A. Genotoxicological investigation of hospital nurses occupationally exposed to ethylene oxide: I. Chromosome aberrations, sister-chromatid exchanges, cell cycle kinetics, and UV-induced DNA synthesis in peripheral blood lymphocytes. *Environ Mol Mutagen* 27:84-92, 1996
22. Major J, Jakab MG, Tompa A. Genotoxicological investigation of hospital nurses occupationally exposed to ethylene oxide: II. HPRT mutation frequencies. *Central Eur J Occupat Environ Med* 7:195-208, 2002
23. Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, et al. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 20:613-616, 1960
24. Norppa H, Sorsa M, Vainio H, et al. Increased sister chromatid exchange frequencies in lymphocytes of nurses handling cytostatic drugs. *Scand J Work Environ Health* 6:299-301, 1980
25. Oesch F, Hengstler JG, Arand M, Fuchs J. Detection of primary DNA damage: applicability to biomonitoring of genotoxic occupational exposure and in clinical therapy. *Pharmacogenetics* 5 Spec No:S118-122, 1995
26. Olayioye MA, Neve RM, Lane HA, Hynes NE. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J* 19: 3159-3167, 2000
27. Országos Gyógyszerészeti Intézet. A citosztatikus keverék-infúziók előállítása. Módszertani levél (OGYI-P-64-2004). *Gyógyszereink* 54:135-144, 2004
28. Peták I, Houghton JA, Kopper L. Molecular targeting of cell death signal transduction pathways in cancer. *Curr Sign Transduct Ther* 1:113-131, 2006
29. Perry P, Wolff S. New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature* 251:156-158, 1974
30. Rácz A, Tompa A. Citosztatikumokkal dolgozók egészségvédelme. *Primer Prevenció Füzetek. Munkahelyi egészség és biztonság. No. 2. A Rák Ellen az Emberért, a Holnapért Alapítvány, Budapest, 1994*
31. Rácz A, Major J. Citosztatikumokkal dolgozók egészségvédelme. Országos Kémiai Biztonsági Intézet Módszertani Közlemények No. 5, Budapest, 2006
32. Rice SC, Vacek PM, Homans AH, et al. Comparative analysis of HPRT mutant frequency in children with cancer. *Environ Mol Mutagen* 42:44-49, 2003
33. Sebestyén A, Hajdu M, Kopper L. TGFβ – a Janus arcú citokin: a TGFα tumorsuppresszor és tumorpromoter szerepének kettőssége. *Orvosképzés* 3:169-183, 2006
34. Sejersen T, Jin P, Rahm M, Ringertz NR. Changes in c-onc expression during embryonal carcinoma cell differentiation. *Environ Health Perspect* 80:247-256, 1989
35. Tompa A, Sapi E. Detection of 6-thioguanine resistance in human peripheral blood lymphocytes (PBL) of industrial workers and lung cancer patients. *Mutat Res* 210:345-351, 1989
36. Tompa A, Major J, Jakab M. A perifériás limfocita genotoxikológiai markereinek változása a vegyipari expozíciók kapcsán. (Genotoxikológiai monitor). *Magyar Onkológia* 37:169-180, 1993
37. Tompa A, Major J, Jakab MG. Is breast cancer cluster influenced by environmental and occupational factors among hospital nurses in Hungary? *Pathol Oncol Res* 5:117-121, 1999
38. Tompa A, Major J, Jakab M, Biró A. Géntoxikológiai és immuntokológiai vizsgálatok az egészségkockázat meghatározásában. *Egészségtudomány* 45:213-227, 2001
39. Tompa A. A humán géntoxikológiai biomarkerek prediktivitása a betegségek megelőzésében. *Magyar Onkológia* 48:117-120, 2004
40. Tompa A, Jakab M, Biró A, et al. Chemical safety and health conditions among Hungarian hospital nurses. *Ann NY Acad Sci* 1076:635-648, 2006
41. Tompa A, Magyar B, Tóth F, et al. Citosztatikumokkal exponált nővérek egészségi állapotának jellemzése gén- és immuntokológiai módszerekkel. *Magyar Onkológia* 50:153-161, 2006
42. Tsao AS, Kim ES, Ki Hong W. Chemoprevention of cancer. *CA Cancer J Clin* 54: 150-180, 2004
43. Várkonyi E, Pintér F, Peták I. Epidermális növekedési faktor receptor család szerepe hámreredetű daganatok molekulárisan célzott gyógyszeres kezelésében és diagnosztikájában. *Orvosképzés* 3:37-244, 2006
44. Wen CP, Tsai SP, Gibson RL. Anatomy of the healthy worker effect: a critical review. *J Occup Med* 25:283-289, 1983
45. Weis BK, Van Houten B. Toxicogenomics and exposure assessment. In: *Environmental and Occupational Medicine*. Ed: Rom WN, LWW, 2007, pp. 943-953
46. World Cancer Report. Eds. Steward BW, Kleinhues P. IARC Press, Lyon, 2003
47. Xu SJ, Wang JX, Yang DP. An investigation on the chromosomal damage in nurses occupationally exposed to antineoplastic drugs. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 37:119-120, 2003