

OBSAH

	Summary.....	2
	Souhrn.....	4
1.	Úvod.....	6
2.	Metodika.....	10
3.	Komentář k souboru prací.....	14
3.1.	Výroba vinylchloridu (Příloha 1).....	14
3.2.	Výroba a zpracování černouhelného dehtu (Příloha 2).....	14
3.3.	Expozice tiskárenských dělníků (Příloha 3).....	15
3.4.	Expozice cytostatikům při vývoji a aplikaci (Příloha 4 – 6).	16
3.5.	Expozice v uranových dolech (Příloha 7,8).....	18
.6.3	Expozice 1,3 – butadienu (Příloha 9,10).....	19
.7.3	Spontánní úroveň chromosomových aberací (Příloha 11 – 14).....	20
.8.3	Vztah chromosomových aberací ke vzniku nádorů (Příloha 15 – 17).....	23
.9.3	Využití metody FISH (fluorescenční in situ hybridizace) k hodnocení profesionální expozice karcinogenům (Příloha 18).....	24
4.	Závěr.....	26
5.	Využití výsledků disertace v dalším výzkumu a praxi.....	28
6.	Seznam citované literatury.....	31
7.	Seznam komentovaného souboru prací.....	36
8.	Seznam dalších publikací souvisejících s tématikou disertace.....	38

SUMMARY

Genetic toxicology uses the methods of biomonitoring for the primary prevention of cancer, inborn defects and degenerative diseases. Biomonitoring is used for the persons exposed to mutagens, carcinogens and toxicants for human reproduction. The frequency of chromosomal aberrations is the only practically utilized genotoxic biomarker indicating a carcinogenic risk.

In the Czech Republic biomonitoring represents the important tool used to prove the exposure to genotoxicants and to evaluate the genetic risk for exposed groups and individuals. The standard method of the conventional cytogenetic analysis of peripheral lymphocytes is used for the detection of structural and numerical chromosomal aberrations in human somatic cells. Czech Hygiene Service has used this method as a surrogate indicator for the genetic damage caused by clastogenes in target cells since middle 1970s until present time. The cytogenetic analysis of chromosomal aberrations has been suggested to be a useful tool checking the adherence of safety manipulation with mutagens and carcinogens, and also for vindication the safe maximum allowable concentration (MAC) has really been established. Repeated investigations of occupationally exposed groups enable to follow up the long-term exposed workers and may find individuals with a higher susceptibility and risk for genotoxicants exposure.

The most relevant findings obtained by applicant in the past:

- Cytogenetic analysis of chromosomal aberrations (CH.A.) is the suitable biomarker of exposure and effects of clastogenes.
- If air concentrations of genotoxicants in working place did not exceed a certain concentration then no increase of CH.A. in exposed workers may be detectable (vinyl chloride monomere under 10 mg/m^3 , styrene under 100 mg/m^3). Such concentration should be accepted as MAC.
- Cytogenetic analysis of chromosomal aberrations has been suggested to be useful tool checking the adherence of safety manipulation with mutagens and carcinogens, and also for vindication the safe maximum allowable concentration (MAC) has really been established.
- Workers in coal tar production units exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and benzene were classified as the group with a high genetic risk. Vitamin C supplementation dropped frequency of CH.A. in exposed group to the control level.
- In rotogravure plant workplace the concentrations of toluene ranged between $390 - 4380 \text{ mg/m}^3$ ($\text{MAC}=200 \text{ mg/m}^3$) induced elevated frequency of chromosomal aberrations (3.64 % aberrant cells – AB.C.).
- The genetic risk by newly designed cytostatic drugs was observed in chemists in chemical laboratory. There was found 3.90 % AB.C. This value was substantially higher than that found in control group (1.05 and 1.22 % AB.C.). Vitamin C supplementation did not reduced frequency of AB.C. in exposed group. The most important protection factor was the reduced exposure to cytostatic drugs.
- Occupational exposure in uranium mines was usually understood as radon and its daughter products exposure. But chromosomal aberrations analyzed in miners were

predominantly chromatid types. In mines were found molds as *Aspergillus flavus* producing aflatoxin B₁ and G₁, *Fusarium solani* producing the toxin sterigmatocystine. In the throat swab samples taken from miners molds producing mycotoxins. It was hypothesized that mutagenic mycotoxins might be a new carcinogenic risk in uranium mines.

- The association between occupational exposure to 1,3 – Butadiene (BD) and chromosomal damage was analyzed in BD-monomer production and polymerization units. It was demonstrated that exposure to a very low concentrations of BD (0.53 mg/m³) significantly increased the frequency of AB.C. Although exposures to genotoxicants in modern plants were substantially reduced, significant induction of genetic damage could still be demonstrated.
- Laboratories of the genetic toxicology in the Hygiene Service of Czech Republic have collected for more than 20 years the data on the spontaneous frequency of AB.C. of unexposed (control) subjects. In the period 1980 – 1988 the spontaneous frequency for adults was determined to be 1.77 % AB.C. based on the analysis of 1 201 subject. In the period 1977 – 1999 the frequency of aberrant cells was determined to be 1.59 %, based on 2 801 subject.
- During the 1990s several European countries accumulated sets of data large enough to test the cancer predictivity of the frequency of chromosomal aberrations. The Czech Republic has also contributed to this effort. From the archives of Czech laboratories of genetic toxicology, we retrieved data on approximately 20,000 cytogenetic analyses performed on an occupational group of almost 12,000 individuals. In this context, we would like to emphasize the fact that contrary to other studies, the increase in cancer risk is relatively small. We believe this is also due to the activities of the Czech Hygiene Service, which used cytogenetic data very efficiently to put) through effective preventive measures. Perhaps we may speculate that the low cancer incidence observed in our cohort is the best evidence of the importance of cytogenetic analysis for public health.
- Conventional cytogenetic methods are very laborious and time consuming and are criticized for low sensitivity. Nevertheless, we hope that new methods prove to be at least as viable and useful as the conventional one. By FISH and conventional methods we analyzed 383 subjects exposed to butadiene, acrylonitrile, benzene and PAHs. High sensitivity of FISH method for especially environmental exposure to PAHs was found. The new finding demonstrates the possibility of elimination the lymphocytes bearing translocations.

We are convinced that our original ideas concerning relationship of mutagens and/or carcinogens exposure and induction of chromosomal aberrations were finally justified.

SOUHRN

Genetická toxikologie v oblasti primární prevence nádorových onemocnění, vrozených vad a degenerativních onemocnění u osob profesionálně exponovaných mutagenům, karcinogenům a látkám toxickým pro lidskou reprodukci využívá metod biologického monitorování. Frekvence chromosomových aberací zjišťovaná cytogenetickou analýzou je dosud jediný, prakticky využívaný genotoxický biomarker prokazující sumární karcinogenní riziko. Biologický monitoring v ČR představuje významný nástroj genetické toxikologie sloužící k určení expozice genotoxickým faktorům a k posouzení rizika pozdních následků pro exponované skupiny a jednotlivce. Standardní metoda konvenční cytogenetické analýzy periferních lymfocytů umožňuje detekci, kvalitativní a kvantitativní analýzu chromosomových abnormalit (strukturálních a numerických aberací) v lidských somatických buňkách *in vitro* v optickém mikroskopu. Indukovaná poškození chromosomů somatických buněk prokazatelně zvyšují v lidské populaci riziko vzniku nádorových i degenerativních onemocnění, negativně ovlivňují funkci buněčných reparačních mechanismů a zasahují do procesů apoptózy. Konvenční cytogenetická analýza lidských periferních lymfocytů je již 30 let hygienickou službou v ČR standardně užívaná metoda pro monitorování populace profesionálně exponované genotoxinům, tj. mutagenům a karcinogenům. Výsledky cytogenetické analýzy umožňují posoudit míru expozice a účinnost preventivních opatření zaměřených na snížení expozice pracovníků ať již technického a organizačního charakteru, nebo z hlediska správného používání osobních ochranných prostředků. Opakovaná vyšetření skupin osob profesionálně exponovaných genotoxinům dovolují dlouhodobě sledovat exponované pracovníky a určit jednotlivce se zvýšenou vnímavostí k expozici genotoxickým látkám.

Nejdůležitější poznatky získané uchazečem v minulém období:

- Analýza frekvence aberantních buněk (AB.B.) je vhodným biomarkerem expozice a účinku genotoxickým látkám s klastogenním účinkem (vyvolávajícím zlomy chromozómů).
- Expozice genotoxické látky pod určitou dávku nevyvolává klastogenní účinek (v případě VCM pod 10 mg/m^3 ; styrénu pod 100 mg/m^3 pracovního ovzduší) – existence „biologického prahu“.
- Cytogenetickou analýzu lze používat ke kontrole správnosti navržených hodnot NPK-P a ke kontrole spolehlivosti bezpečnostních opatření na rizikových pracovištích.
- Expozice při výrobě a zpracování dehtu byla hodnocena jako vysoké genetické riziko. Podávání vitamínu C snížilo frekvenci AB.B. u exponovaných osob.
- Vysoké koncentrace toluenu v pracovním ovzduší tiskárny ($390 - 4380 \text{ mg/m}^3$) vyvolaly u exponovaných pracovníků zvýšený počet chromosomových aberací s průměrnou hodnotou 3,64 % AB.B., u administrativních pracovníků 3,32 % AB.B.
- Byla sledována zdravotní rizika vyplývající z profesionální expozice cytostatikům při jejich vývoji a výrobě. Při suplementaci vitamínem C nedošlo k významnému poklesu počtu AB.B. Významným závěrem studie bylo, že samotná profylaxe antioxidanty činnými nestačí k redukci rizika z expozice cytostatikům a nejdůležitější preventivní faktor je významné snížení expozice pracovníků.
- Profesionální expozice horníků v uranových dolech je běžně spojována s expozicí dceřiným produktům rozpadu radonu. Analyzované změny chromosomů však svědčily o expozici chemickým látkám s převahou chromatidových zlomů a počet dicentrických chromosomů byl zvýšen jen nepatrně. Dalšími analýzami byly zjištěny v prostorách dolů plísně rodu *Aspergillus flavus* s produkcí aflatoxinu B₁ a G₁, *Fusarium solani*

s vysoce mutagenními metabolity a *Penicillium versicolor* s produkcí toxinu sterigmatocystinu. Výtěry z krku horníků prokázaly u 27 % z nich 60 druhů toxigenních plísní. Za stávajících hygienických podmínek v uranových dolech představovaly genotoxické riziko expozice plísním, event. odstřelovým zplodinám a výfukovým plynům.

- Pracovníci jsou profesionálně exponováni 1,3-butadienu (BD) při jeho výrobě a při výrobě plastů. Ve vybraném závodě byly provedeny v letech 1992 – 1994 dvě studie zaměřené k získání podkladů pro zařazení BD mezi humánní karcinogeny. Bylo zjištěno, že i velmi nízké koncentrace BD v pracovním ovzduší (medián: 0,53 mg/m³) indukují zvýšenou průměrnou frekvenci AB.B. Tyto výsledky vyvolávají diskusi o způsobu zabezpečení provozů s expozicí mutagenům a karcinogenům, které i ve velmi nízkých koncentracích ovlivňují genetický materiál.
- V ČR jsou řadu let kumulovány údaje o spontánní úrovni chromosomových aberací u různých věkových skupin neexponovaných osob. Průměrná hodnota spontánní frekvence chromosomových aberací u dospělé populace (20 – 63r.) byla stanovena na základě výsledků analýz 1 201 dospělé osoby z období 1980 – 1988 na hodnotu 1,77 % AB.B. Hodnota AB.B. stanovená za roky 1977 – 1999 (N = 2 801) činila 1,59 %, přičemž v letech 1994 – 1997 (N = 1 435) klesla na úroveň 1,16 % AB.B.
- V současné době je konvenční metoda cytogenetické analýzy periferních lymfocytů ve světě je vysoce hodnocena jako biomarker expozice a účinku s významnou asociací s rizikem vzniku nádorů při zvýšených hodnotách AB.B. V uplynulých letech bylo u nás vyšetřeno cytogenetickou analýzou tisíce osob v desítkách provozů s rizikem chemické karcinogenity. Ze získaných údajů jsme vytvořili, dosud největší v mezinárodním měřítku, databázi hodnot chromosomových aberací profesionálně exponovaných i neexponovaných osob. V epidemiologických studiích z r. 2001 a 2002 zpracovávající část shromážděných údajů byla nalezena signifikantní asociace mezi frekvencí chromosomových aberací a incidencí nádorů v dlouhodobě (1975 –1990) a opakovaně sledované skupině horníků z rudného dolu v riziku expozice křemičitého prachu a radonu. Počty profesionálních nádorových onemocnění jsou u nás nižší, než vykazují italské a skandinávské studie. Příčinu lze nalézt ve výsledcích cytogenetické analýzy 80. let, které v mnoha případech přispěly k podstatnému zlepšení pracovních podmínek. Řada z nich posloužila hygienické službě jako podklad pro rozhodnutí k úpravě režimu na rizikových pracovištích (např. vinylchlorid, styren, formaldehyd, asbest, BCME), nebo ke snížení NPK-P (epichlorhydrin). Lze se oprávněně domnívat, že se v ČR na nižším výskytu nádorových onemocnění ve sledovaných expozicích významně podílelo zavádění efektivních opatření na ochranu zdraví osob v 80. letech.
- V polovině 90. let byla vyvinuta a stále zdokonalována metoda fluorescenční in situ hybridizace (FISH), umožňující velmi citlivou analýzu stabilních typů aberací chromosomů, zejména strukturálních translokací. Vyšetřili jsme celkem 383 osob exponovaných butadienu, akrylonitrilu, etylbenzenu, benzenu a PAU jak konvenční tak i metodou FISH, s cílem porovnat citlivost obou metod při hodnocení expozice různým genotoxickým látkám. Výsledky ukázaly vyšší citlivost metody FISH, zejména při environmentální expozici PAU. Novým poznatkem bylo zjištění, že po snížení expozice, klesla jak frekvence AB.B. analyzovaných konvenční metodou, tak i frekvence translokací detekovaných metodou FISH. Na základě našich výsledků se můžeme domnívat, že i lymfocyty nesoucí translokace mohou být eliminovány podobně jako lymfocyty nesoucí zlomy.

Dosažené poznatky prokázaly, že naše počáteční představy o vztahu expozice genotoxickým látkám a chromosomových aberací byly oprávněné.

1. ÚVOD

Předkládaná doktorská disertační práce, založená na komentovaném souboru vybraných uveřejněných vědeckých prací, je výsledkem více než třicetileté profesionální činnosti uchazeče v oblasti genetické toxikologie.

Hlavním tématem práce je zhodnocení cytogenetické analýzy lidských periferních lymfocytů pro využití při biologickém monitorování expozice a účinků osob exponovaných genotoxickým látkám, tj. mutagenům a karcinogenům, tedy faktorům charakterisovanými svými pozdními účinky (biologický monitoring).

Dalším cílem je zodpovědět principiální otázku kladenou od samého počátku používání cytogenetické analýzy pro monitorování vlivu prostředí na člověka:

Je spojena vyšší četnost (frekvence) chromosomových aberací v periferních lymfocytech (vyjadřovaná jako průměrné procento aberantních buněk - % AB.B.) s vyšším rizikem vzniku nádorových onemocnění ?

Ročně přibývá v ČR cca 45 000 nových nádorových onemocnění, z tohoto počtu jsou vyvolány profesionální expozicí chemickým látkám přibližně 2 000 případů. V r. 1997 bylo v ČR profesionálně exponováno prokázaným karcinogenům a podezřelým karcinogenům přibližně 1 milion 400 tisíc osob (Šmerhovský a Kauppinen, 2000). Tento počet sice meziročně kolísá, ale nelze zatím předpokládat, že by byl programově snižován.

Genetická toxikologie využívá k získávání informací metod biologického monitorování jednotlivců i populačních skupin (IPCS, 1993; Taioli a Bonassi, 2002). Vhodnými nástroji hodnocení vlivu xenobiotik jsou biomarkery expozice, účinku a vnímavosti.

Biomarkery expozice mají velký význam při průkazu expozice jednotlivce i skupin osob především látkám s pozdními účinky a zejména jejich směsím. Takto získané informace pak slouží při zajišťování ochrany a bezpečnosti práce osob na rizikových pracovištích. Z prakticky používaných biomarkerů expozice jsou po metodické a interpretační stránce nejvíce propracované metody detekující DNA a proteinové adukty (hemoglobinové, albuminové) a např. specifické adukty s etylénem, propylénem, aromatickými aminy, aflatoxinem B₁, metabolity xenobiotik v moči a cytogenetické metody. V praxi byla nejrozšířenější konvenční cytogenetická analýza lidských periferních lymfocytů, která se dnes na základě současných poznatků řadí i mezi biomarkery účinku.

Biomarkery účinku se používají k průkazu již preklinického poškození nebo nepříznivých zdravotních účinků po expozici a absorpci xenobiotika, pro stanovení nebezpečnosti látky (hazard identification) a pro určení dávkové závislosti účinku (dose response assessment) při stanovení rizika expozice (risk assessment). Jako biomarker účinku je nyní intenzivně využívána cytogenetická analýza lidských periferních lymfocytů, nebo mutace v HPRT lokusu. Frekvence chromosomových aberací zjišťovaná cytogenetickou analýzou je dosud jediný, prakticky využívaný genotoxický biomarker prokazující sumární karcinogenní riziko.

Biomarkery vnímavosti charakterizují vrozené (geneticky podmíněné), nebo získané faktory ovlivňující odpověď organismu na expozici xenobiotiku. Individuální vnímavost (genetický polymorfismus) je ovlivněna např. rozdíly v metabolismu, reparaci DNA, expresi protoonkogenů a tumorsupresorových genů, v imunitních pochodech, rozdíly na úrovni receptorů. Individuální rozdíly v metabolických cestách jsou podmíněny dědičně zakotvenými mutacemi v sekvencích genů kódujících enzymy. Rozdílný metabolický genotyp vede k rozdílnému individuálnímu riziku poškození. V praxi to znamená, že v populaci existují osoby, které mají pro daný enzym jinou alelu. Ta se liší určitou mutací, která se fenotypicky odráží v odlišné aktivitě enzymu. Hodnocení populace pomocí biomarkerů vnímavosti, umožňuje pomocí určení metabolických genotypů vybrat vnímavější, nebo naopak resistantnější jednotlivce vůči účinkům konkrétní látky.

Biologický monitoring v ČR představuje významný nástroj genetické toxikologie sloužící k určení expozice genotoxickým faktorům a k posouzení rizika pozdních následků pro exponované skupiny a jednotlivce. Vzhledem k úzkému vztahu procesu mutagenese a karcinogeneze se předpokládá, že opakované nálezy zvýšených hodnot chromosomových aberací u sledovaných osob upozorňují na zvýšené riziko vzniku nádorových onemocnění (Brogger a kol., 1990; Hagmar a kol., 1994; Bonassi a kol., 1995; Hagmar a kol., 1998 a, b; Liou a kol., 1999; Bonassi a kol., 2000). Z tohoto hlediska má uvedená metoda zásadní význam pro primární prevenci nádorových onemocnění, protože odráží výsledek sumární expozice populace vystavené směsí látek s proměnlivým kvalitativním i kvantitativním složením a velmi časně upozorňuje na jednotlivce s nevhodným metabolickým genotypem pro danou látku a/nebo s hypofunkčními ochrannými mechanismy (reparační systémy, imunitní reakce), které již nedokáží opravovat a kompenzovat genetická poškození vzniklá v důsledku expozice.

Konvenční cytogenetická analýza lidských periferních lymfocytů je již 30 let hygienickou službou v ČR standardně užívaná metoda pro monitorování populace

profesionálně exponované genotoxinům, tj. mutagenům a karcinogenům. Výsledky cytogenetické analýzy chromosomových aberací umožňují posoudit míru expozice a účinnost preventivních opatření zaměřených na snížení expozice pracovníků ať již technického a organizačního charakteru, nebo z hlediska správného používání osobních ochranných prostředků (Šrám, 1978; Šrám a Kulešov; 1980, Šrám, 1981; Rössner a kol., 1995). Opakovaná vyšetření skupin osob profesionálně exponovaných genotoxinům dovolují dlouhodobě sledovat exponované pracovníky a určit jednotlivce se zvýšenou vnímavostí k expozici genotoxickým látkám. U těchto jednotlivců, kteří jsou tak vystaveni vyššímu riziku, než ostatní populace, lze a je třeba uplatňovat řadu opatření ke snížení rizika z expozice.

Cesta ke standardizaci konvenční metody cytogenetické analýzy lidských periferních lymfocytů pro laboratoře genetické toxikologie v hygienické službě byla zahájena ustavením Národní referenční laboratoře pro genetickou toxikologii (NRL) v Institutu hygieny a epidemiologie – IHE (nyní Státní zdravotní ústav – SZÚ) v r. 1977. V roce 1982 byl uchazeč jmenován jejím vedoucím. Vedla přes četné konzultační a metodické návštěvy na terénních pracovištích, studijní týdenní pobyty všech terénních pracovníků v NRL, přes účast na seminářích a školicích akcích ILF a IDVPZ a Pracovních dnů Společnosti pro mutagenézu zevním prostředím AV ČR. NRL poskytuje odzkoušené kultivační roztoky, vypracovala atlas mikrofotografií nejobvyklejších typů chromosomových aberací, který obdržela každá laboratoř genetické toxikologie v HS, pravidelně organizuje mezilaboratorní porovnávací zkoušky kdy laboratoře analyzují mikroskopické preparáty zhotovované v NRL. Vydáním Standardní metodiky v r. 1989 (Rössner, 1989, 2000 a, b) a Standardních operačních postupů (SOP) v r. 2003 (Rössner, 2003), vypracovaných NRL, která od r. 2001 získala akreditaci Českého institutu pro akreditaci, v.p.s. (ČIA) podle ČSN EN ISO/IEC 17025, byla standardizace konvenční metody cytogenetické analýzy lidských periferních lymfocytů v ČR ukončena.

Třicet roků rozvoje genetické toxikologie v ČR bylo ovlivněno několika klíčovými událostmi:

- **1974:** První laboratoř genetické toxikologie vznikla na Krajské hygienické stanici (KHS) Ústí n.L. pro kontrolu expozice osob v provozu epichlorhydrinu a BCME (*bis (chlormethyl)etheru*). Získané výsledky ukázaly na nepříznivé účinky expozice klastogenům (*faktorům způsobujícím strukturální poškození chromosomů – zlomy chromosomů a výměny jejich částí mezi sebou*) a byly impulzem k zakládání dalších laboratoří v hygienické službě (Šrám a kol., 1980, 1981, 1983 b).

- **1975:** Byly vydány základní metodické postupy: „Systém hodnocení mutagenní aktivity chemických látek pro člověka. Základní principy a doporučené metody“ (Šrám, 1975).
- **1977:** Pro koordinaci a standardizaci činnosti laboratoří byla v r.1977 založena Národní referenční laboratoř (NRL) při Institutu hygieny a epidemiologie (IHE, nyní SZÚ). Byla vypracována jednotná kritéria metodik odběru vzorků, kultivace, zpracování kultur, přípravy mikroskopických preparátů, statistického hodnocení a interpretace výsledků a atlas chromosomových aberací. RL organizovala školení pracovníků z terénních laboratoří a pravidelné mezilaboratorní porovnávání kódovaných mikroskopických preparátů. Tyto standardní postupy spolu s poskytováním kultivačních roztoků všem zúčastněným laboratořím zajistily jednotné, standardizované metodiky umožňující porovnávání výsledků analýz z jednotlivých laboratoří a v konečné fázi i jejich agregaci pro statistická hodnocení.
- **1981:** Byla vypracována metodika výběrového úkolu hlavního hygienika ČSR III: „Genetické poškození při profesionální expozici mutageny“ - „Primární prevence nádorových onemocnění - podíl hygienické služby na realizaci onkologického programu“ (Šrám a kol., 1981).
- **1989:** Vyhlášení vybraných metod genetické toxikologie jako standardní metodiky pro hygienickou službu Hlavním hygienikem ČSR : „Metody biologického monitorování genotoxických účinků faktorů prostředí – standardní metodika“ (Rössner, 1989).
- **1989:** Byly publikovány hodnoty spontánní frekvence aberantních buněk (AB.B.) (*tj. lymfocytů nesoucích strukturální poškození chromosomů vyvolané jejich zlomy*), u dospělé populace v ČSR získané analýzou 1201 osoby.: „Příspěvek k problému určení spontánní úrovně chromosomových aberací v populaci ČSR“ (Švandová a Rössner, 1989).
- **2000:** Byla publikována aktualizovaná standardní metodika : „Metody biologického monitorování genotoxických účinků faktorů pracovního prostředí, cytogenetická analýza periferních lymfocytů“ (Rössner, 2000 a, b).
- **2001:** Zapojení do evropského projektu: „Cytogenetic Biomarkers and Human Cancer Risk – EU: QLK4 – CT 2000 – 00628, Program: Quality of Life and Management of Living Resources“ (Šmerhovský a kol., 2001, 2002).
- **2003:** Vydání souboru metodik: „Standardní operační postupy pro biologické monitorování genotoxických účinků faktorů prostředí“ (Rössner, 2003).

2. METODIKA

2.1 Cytogenetická analýza lidských periferních lymfocytů

- Metoda cytogenetické analýzy periferních lymfocytů umožňuje detekci, kvalitativní a kvantitativní analýzu chromosomových abnormalit (strukturálních a numerických aberací) v lidských somatických buňkách *in vitro* v optickém mikroskopu (Hungerford, 1965; Bucton a Evans, 1973; Savage, 1976; Carrano a Natarajan, 1988; Rössner, 1989; Rössner a kol., 1995; Rössner, 2000 a, 2003).
- Poškození genetického materiálu buňky (především jaderné DNA), analyzované jako chromosomové aberace, je projevem biologického efektu genotoxických faktorů (chemických, fyzikálních a biologických) (Šrám a kol., 1981; IPCS, 1993).
- Metoda přímo prokazuje expozici člověka genotoxickým faktorům s klastogenním účinkem, jehož projevem je indukce chromosomových aberací v somatických buňkách. Zlomy a přestavby chromosomů představují riziko aktivace onkogenů a deaktivace tumor supresorových genů. Indukovaná poškození chromosomů somatických buněk prokazatelně zvyšují v lidské populaci riziko vzniku nádorových i degenerativních onemocnění, negativně ovlivňují funkci buněčných reparačních mechanismů a zasahují do procesů apoptózy (IPCS, 1993; Hagmar a kol., 1994; Bonassi a kol., 1995; Hagmar a kol., 1998 a, b; Bonassi a kol., 2000; Taioli a Bonassi, 2002).
- Chromosomové aberace v pohlavních buňkách (obojího pohlaví) významně negativně ovlivňují kvalitu lidského genofondu. Zvyšují reprodukční ztráty a uplatňují se při vzniku některých typů vývojových vad potomků exponovaných jedinců v následných generacích (Šrám a kol., 1981).
- Třicetileté zkušenosti s využitím konvenční metody cytogenetické analýzy v rámci biomonitorování profesionální i neprofesionální expozice v ČR potvrzují, že uvedený metodický přístup je zatím jediný s praktickým využitím pro objektivizaci pozdních účinků genotoxických faktorů na populaci (Šrám a kol., 1981; Černá a Rössner, 1988; Sorsa kol., 1992; Albertini a kol., 1996).
- Hodnocení změn frekvence získaných chromosomových aberací ve vztahu k expozici genotoxickým faktorům v prostředí je v souladu se stanovisky expertních komisí EC, WHO a ILO, doporučujících rozšířit spektrum vyšetřovacích metod o metod molekulární cytogenetiky, např. FISH (Albertini a kol., 2000).

- Metoda cytogenetické analýzy chromosomových aberací je celosvětově rozšířena a používána jako biologický skupinový expoziční test a biomarker expozice genotoxickým látkám v pracovním i komunálním prostředí.
- Metoda také slouží jako biomarker účinku genotoxických faktorů na organismus (Carrano a Natarajan, 1988; Brogger a kol., 1990; Hagmar a kol., 1994; Bonassi a kol., 1995; Hagmar a kol., 1998 a, b; Liou a kol., 1999; Bonassi a kol., 2000).
- Konvenční metoda cytogenetické analýzy periferních lymfocytů také umožňuje zhodnocení expozice jednotlivce genotoxickým látkám.

2.1.1 Skupinové a individuální hodnocení profesionální expozice genotoxickým látkám

Na základě našich zkušeností byla vypracována doporučení pro laboratoře genetické toxikologie v hygienické službě ČR (Šrám, 1975; Šrám, 1981; Černá, Rössner, 1988; Rössner, 1989; Švandová, Rössner, 1989; Rössner, 2000 a, 2003).

Je třeba vždy analyzovat expozici genotoxickým látkám, jak kvalitativně, tak i kvantitativně. U řady látek, se kterými přicházejí exponované osoby do styku, však nejsou k dispozici vhodné analytické metody. Zde se projevuje výhoda nespecifity metody cytogenetické analýzy. V případech, a těch je většina, kdy nelze provést cílenou (specifickou) analýzu genotoxických látek v pracovním prostředí, zvýšená frekvence chromosomových aberací je jediným důkazem jak jejich přítomnosti v prostředí, tak i vzájemné interakce genotoxikantů a buněčného genetického materiálu. Zvýšená frekvence chromosomových aberací svědčí také o tom, že v organismu exponovaného jedince vzniklo poškození genetického materiálu, které nebylo opraveno a které může perzistovat s různě dlouhou latencí se všemi důsledky souvisejícími s procesem mutagenese a karcinogeneze.

2.1.1.2 Interpretace výsledků cytogenetické analýzy **SKUPINOVÉ HODNOCENÍ**

Po zjištění průměrné hodnoty procenta aberantních buněk – % AB.B. (nesoucích chromosomové aberace) celé skupiny jsou výsledky interpretovány takto :

- **0 - 2 % AB.B.** : hodnota je shodná se spontánní frekvencí aberací u běžné, profesionálně neexponované populace. Svědčí o biologicky neefektivní expozici genotoxickým látkám – velmi nízké a lidským organismem pravděpodobně tolerované.
- **2 - 4 % AB. B.** : svědčí o zvýšené expozici genotoxickým látkám, organismem již netolerované.

Účelem pravidelných kontrol exponovaných osob je ověřit kvalitu provedených opatření ke snížení expozice celé skupiny a o detekci jedinců s opakovaně vysokými hodnotami (5 a více % AB. B.) a jejich dispenzarizaci.

Pokud je to možné, je třeba přesně definovat expozici (např. pomocí personálních dosimetrů) v provozech s expozicí těm genotoxickým látkám, které lze stanovit kvalitativně a/nebo kvantitativně.

- **4 a více % AB. B.** : tento nálezn svědčí o vysoké expozici genotoxickým látkám; pravděpodobně představuje pro vnímavé jedince zvýšené riziko vzniku nádorového onemocnění a dalších projevů pozdních účinků genotoxických faktorů včetně rizika zvýšeného výskytu vrozených vad u potomků exponovaných jedinců (Šrám a Kulešov, 1980; Šrám, 1981).

Je třeba provést kontrolu dodržování bezpečnostních předpisů, kontrolu technologických zařízení z hlediska emise škodlivin do pracovního ovzduší a provést cytogenetickou analýzu nejméně jednou ročně a vždy při technologických, nebo organizačních změnách na pracovišti.

Pokud je to možné, je třeba přesně definovat expozici genotoxickým látkám (personální dosimetrie).

2.1.1.3 Interpretace výsledků cytogenetické analýzy

INDIVIDUÁLNÍ HODNOCENÍ

Opakování cytogenetické analýzy stejné osoby několikrát za rok v období několika let ukázalo, že individuální průměrná frekvence chromosomových aberací je v průběhu let konstantní. Během roku hodnoty cytogenetické analýzy mohou kolísat v rozmezí 0 – 5 % AB. B., (výjimečně i více), avšak tyto vysoké hodnoty se naleznou jen ojediněle, obvykle 1 x za rok. Při určování frekvence AB.B. u jednotlivce je třeba cytogenetickou analýzu opakovat v průběhu 2 – 4 měsíců. Nalezne-li se opakovaně vysoká hodnota (5 a více %

AB. B.), nejedná se pravděpodobně o statistický jev, ale o důsledek významné expozice genotoxickým faktorům, nebo o osobní dispozici vyšetřované osoby.

- **5 a více % AB. B.** : ukazuje na vysokou expozici genotoxickým látkám a/nebo
 - sníženou kapacitu reparačních mechanismů
 - nedostatečnou aktivitu imunitního systému
 - zvýšenou vnímavost ke genotoxickým látkám (důsledek genetického polymorfismu)
 - exponovaný jedinec vlivem některého z uvedených faktorů ztrácí schopnost tolerovat zátěž genotoxickými látkami z prostředí.
- **Individuální hodnoty do 4 % AB. B.** (zjištění 0 – 4 %), nejsou považovány za zvýšené.
- **Opakované zjištění 5 a více % AB.B.** : zejména je-li doprovázeno nálezem závažných typů aberací např. chromosomových výměn (translokací, polycentrických chromosomů) mělo by být důvodem k okamžitému - někdy jen dočasnému, vyřazení osoby z expozice. Tento nález opravňuje k opakované analýze (po 2 - 4 měsících, včetně šetření z hlediska hygieny práce pro možnost průkazu vysoké expozice genotoxickým látkám a dalších klinických vyšetření).

Opakovaně zjištěnou frekvenci AB.B. 5 a více % je třeba považovat za kontraindikaci pro práci v riziku chemické karcinogenity.

3. KOMENTÁŘ K SOUBORU PRACÍ

3.1 Výroba vinylchloridu (Příloha 1).

Rössner, P., Šrám, R.J., Nováková, J., Lambl, V., Cytogenetic analysis in workers occupationally exposed to vinylchloride. Mutat. Res. 73 (1980) 425-427. IF 2.545

Jedna z prvních prací publikovaných v Československu koncem 70.let v renomovaném zahraničním časopisu byla zaměřena na opakovanou cytogenetickou analýzu periferních lymfocytů mužů exponovaných při výrobě vinylchloridu, prokázaného lidského karcinogenu. První cytogenetická analýza v uvedeném provozu proběhla v r. 1976, kdy byla na novém pracovišti po dva roky dodržována nová nejvyšší přípustná koncentrace (NPK-P) monomeru vinylchloridu (VCM), který je odpovědný za biologické účinky, pod 10 mg/m³ vzduchu – jak stanovila norma. U exponovaných osob byla zjištěna průměrná hodnota 1,60 % AB.B., zatímco v kontrolní skupině 1,12 % AB.B. Při kontrole o rok později byla nalezena průměrná hodnota 1,05 % AB.B.

Výsledky přinesly důkazy o tom, že:

- analýza frekvence AB.B. je vhodným biomarkerem expozice genotoxickým látkám s klastogenním účinkem
- expozice genotoxické látky pod určitou dávku nevyvolává klastogenní účinek (v případě VCM pod 10 mg/m³ vzduchu)
- cytogenetickou analýzu lze proto používat ke kontrole správnosti navržených hodnot NPK- P

Práce vznikla v rámci řešení výzkumného úkolu P17-535-276-06-03, „Genetické riziko chemických látek“.

3.2 Výroba a zpracování černouhelného dehtu (Příloha 2).

Šrám, R.J., Dobiáš, L., Pastorková, A., Rössner, P., Janča, L., Effects of ascorbic acid prophylaxis on the frequency of chromosome aberrations of coal-tar workers. Mutat. Res. 120 (1983) 181-186. IF 2.545

Pro expozice při výrobě dehtu a jeho dalších produktů (smoly, sazí, olejů atd.) je typický účinek směsí látek, z nichž řada je jen obtížně, nebo vůbec definovatelných. Jedna

z nejpočetnějších směsí je tvořena polycyklickými aromatickými uhlovodíky (PAU) a benzenem – lidskými karcinogeny ze skupiny prokázaných a podezřelých. Exponovaná skupina byla sledována od r. 1980 a při cytogenetické analýze byla zjištěna ve skupině 20 osob průměrná hodnota 4,83 % AB.B. vs. 1,50 % AB.B. v kontrole (N = 28). Analýza provedená v r. 1982 ukázala u exponované skupiny ještě vyšší hodnoty : 7,87 % AB.B.

Expozice při výrobě a zpracování dehtu byla hodnocena jako vysoké genetické riziko a proto byla cytogenetická analýza chromosomových aberací zařazena mezi pravidelné preventivní prohlídky těchto exponovaných pracovníků.

Na základě informací v literatuře o ochranném účinku vitamínu C při expozicích PAU byl vybrané skupině podáván 1 g vitamínu C (Celaskon effervesceus, tab., 500 mg) 5 dnů v týdnu po dobu 3 měsíců. Frekvence AB.B. klesla z původní hodnoty 4,83, resp. 7,87 % AB.B. na hodnotu 1,77 % AB.B. U kontrolní skupiny podávání vitamínu C frekvenci AB.B. neovlivnilo. Výsledek podnítil aplikaci vitamínu C i u dalších profesionálně exponovaných skupin.

Práce byla součástí výzkumného úkolu P 17-335-457-05 „Genetické riziko chemických látek“.

3.3 Profesionální expozice tiskárenských dělníků (Příloha 3).

Pelclová, D., Rössner, P., Pícková, J., Chromosome aberrations in rotogravure printing plant workers. Mutat. Res. 245 (1990) 299-303. IF 2.545

Obsluha hlubotiskových strojů a administrativní pracovníci v jedné velké pražské tiskárně byli vyšetřováni koncem 80. let. Kromě expozice hlubotiskovým barvám představujícím směs fenolformaldehydových pryskyřic, různých pigmentů, sazí, asfaltu a tetrachlormethanu byli tiskaři exponováni vysokým koncentracím toluenu (390 – 4 380 mg/m³ - NPK-P=200 mg/m³). Zvýšené koncentraci toluenu byli vystaveni i administrativní pracovníci (816 mg/m³). V tiskárně se denně spotřebovalo 2400 l toluenu a 1000 kg tiskařských barev. Tiskaři pracovali v tomto prostředí v průměru 12 roků. U některých pracovníků se o víkend, nebo dovolené projevovaly abstinenci příznaky z nepřítomnosti toluenu.

Cytogenetickou analýzou tiskařů chromosomových aberací (N = 42) byla zjištěna průměrná hodnota 3,64 % AB.B., u administrativních pracovníků (N = 28) : 3,32 % AB.B. a u kontrolní skupiny (N = 32) mimo tiskárnu, ale ze stejné lokality : 2,09 % AB.B.

Přestože toluen nepatří mezi významné genotoxické látky, je pravděpodobné, že v průběhu biotransformace v organismu, v závislosti na individuálním metabolickém genotypu, vznikají malá množství biologicky aktivních meziproductů. Při vysokých koncentracích toluenu v ovzduší (několikanásobně převyšujících NPK-P), pravděpodobně vzniká i biologicky významné množství aktivních meziproductů odpovědných za klastogenní účinky. Jako další přichází v úvahu aditivní, event. potenciační účinek směsi chemikálií působících na obsluhu v proměnlivých podmínkách (např. pigmenty a saze).

Spoluautoři vyšetřovali skupinu tiskařů z téže tiskárny ještě koncem 90. let, kdy se koncentrace toluenu v ovzduší pohybovaly ještě okolo 600 mg/m³ a cytogenetickou analýzou chromosomových aberací určili průměrnou hodnotu 2,30 % AB.B. vs. 1,46 % AB.B. v kontrole (Pelclová a kol., 2000). Problém vysokých koncentrací toluenu v ovzduší byl vyřešen v r. 1992 uzavřením provozu.

Práce byla součástí výzkumného úkolu P 17-335-457-05 „Genetické riziko chemických látek“.

3.4 Expozice cytostatikům při vývoji a aplikaci (Příloha 4-6).

Pohlová, H., Černá, M., Rössner, P., Chromosomal aberrations, SCE and urine mutagenicity in workers occupationally exposed to cytostatic drugs. Mutat. Res. 174 (1986) 213-217. IF 2.545

Rössner, P., Černá, M., Pokorná, D., Hájek, V., Petr, J., Effect of ascorbic acid prophylaxis on the frequency of chromosome aberrations, urine mutagenicity, and nucleolus test in workers occupationally exposed to cytostatic drugs. Mutat. Res. 208 (1988) 149-153. IF 2.545

Sessink, P.J.M., Černá, M., Rössner, P., Pastorková, A., Bavorová, H., Franková, K., Anzion, R.B.M., Bos, R.P., Urinary cyclophosphamide excretion and chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes after occupational exposure to antineoplastic agents. Mutat. Res. 309 (1994) 193-199. IF 2.545

Na zdravotní rizika vyplývající z profesionální expozice cytostatikům při jejich výrobě a zejména aplikaci se zaměřili pracovníci laboratoří genetické toxikologie v hygienické službě (HS) již počátkem 80. let, když IARC v r. 1981 zařadila cytostatika mezi humánní karcinogeny.

Vyšetřovali jsme 38 osob exponovaných při vývoji a výrobě nových cytostatik (Příloha 4). Zjištěná průměrná hodnota činila 3,90 % AB.B., z toho u 8 pracovníků z výrobní části provozu byla zjištěna průměrná hodnota 5,70 % AB.B. V kontrole (N=18)

bylo nalezeno 1,05% AB.B. Pro celou skupinu bylo významné, že počet výměn chromosomů a to jak chromatidového, tak i chromosomového typu byl více než 3 krát vyšší, než v kontrole. O rok později byla vyšetřována stejná skupina, když po 6 měsících před odběrem byla suplementována vitamínem C (1 g/denně 5 dnů v týdnu). Zjištěná frekvence AB.B. se významně nelišila od předchozí hodnoty (3,90 % AB.B. vs. 3,65 % AB.B. (Příloha 5). Nedošlo tedy k významnému poklesu % AB.B. při suplementaci vitamínem C. Výsledek jsme si vysvětlovali skutečností, že vývojoví pracovníci byli vystaveni působení určitého spektra látek, především s alkylačními účinky. O některých z nich je známo, že patří do kategorie přímo působících mutagenů, nevyžadujících ke svému účinku metabolickou aktivaci. Antimutagenní účinek vitamínu C (kyseliny L-askorbové) je převážně založen na ovlivnění biotransformačních procesů v organismu. Proto se jeho účinek na přímo působící mutageny a karcinogeny projevuje jen slabě. Toto vysvětlení lze opřít o výsledky Šráma a kol. (1986).

Významným závěrem studie bylo, že samotná profylaxe antioxidantními činidly nestačí k redukci rizika z expozice cytostatikům a nejdůležitější preventivní faktor je významné snížení expozice pracovníků.

Práce vznikla v rámci řešení výzkumného úkolu P17-335-457-05 „Genetické riziko chemických látek“.

V roce 1994 byla publikovány výsledky společné studie NRL a Department of Toxicology, University of Nijmegen analyzující frekvenci AB.B. jak u zdravotnického personálu aplikujícího cytostatika, tak i bez kontaktu s cytostatiky (Příloha 6). Analyzované skupiny byly vybrány z pracovišť v obou zemích. Zjištěné hodnoty ve všech souborech nepřekročily průměrnou hodnotu 2 % AB.B., kromě podskupin kuřáků. *(Kuřáctví se i v řadě jiných expozic chemickým látkám ukázalo jako aditivní či potenciační faktor ovlivňující frekvenci AB.B.)*. Nízké hodnoty % AB.B. na obou pracovištích svědčily o zlepšené kultuře práce s cytostatiky a dodržování předepsaných bezpečnostních opatření. V případě ČR bylo možné tento fakt přisoudit nejen mnohaleté osvětě ve zdravotnických pracovištích, ale i dodržování pokynů uvedených IARC (1979), ve Směrnici MZ č. 64 (1984) a v „Metodickém návodu hlavního hygienika ČR k posuzování pracovišť s cytostatiky ve zdravotnických zařízeních“ uveřejněném v r. 1989, na jehož tvorbě se významně podíleli pracovníci NRL a laboratoří genetické toxikologie hygienické služby.

Analýzy provedené v minulých deseti letech v řadě zdravotnických pracovišť s aplikací cytostatik však ukazují nepříznivý zvrát ve vnímání rizika. Se zvyšujícím se

množstvím aplikovaných cytostatik na různých odděleních zdravotnických pracovišť, klesá kvalita péče o vlastní bezpečnost ze strany aplikujícího personálu a opět jsou opakovaně zjišťována pracoviště se zvýšenou frekvencí AB.B. u personálu aplikujícího cytostatika.

Práce vznikla v rámci řešení výzkumného úkolu P12-335-87-31.5 „Genetické účinky chemických látek v prostředí“.

3.5 Expozice v uranových dolech (Příloha 7,8).

Šrám, R.J., Binková, B., Dobiáš, L., Rössner, P., Topinka, J., Veselá, D., Veselý, D., Stejskalová, J., Bavorová, H., Řeřicha, V., Monitoring the genotoxic exposure in uranium miners. *Environ. Health Perspect.* 99 (1993) 303-305. IF 3.137

Šrám, R.J., Dobiáš, L., Rössner, P., Veselá, D., Veselý, D., Rakusová, R., Řeřicha, V., Monitoring genotoxic exposure in uranium mines. *Environ. Health Perspect.* 101 (Suppl.3) (1993) 155-158. IF 3.13

Profesionální expozice horníků v uranových dolech je běžně spojována s expozicí dceřiným produktům rozpadu radonu, event. dalším radionuklidům. Tomu také odpovídají cytogenetické nálezy s charakteristickými di- a polycentrickými chromosomy. Na žádost hornické odborové organizace a výboru Federálního shromáždění ČSFR začátkem r. 1990 zahájila laboratoř genetické ekotoxikologie ÚEM ČSAV, NRL genetické toxikologie a genotoxikologická laboratoř KHS v Ostravě cytogenetickou analýzu horníků z uranových dolů Hamr, Tachov a Příbram. Zjištěná frekvence AB.B. byla statisticky významně zvýšena oproti kontrole (Praha): 3,44 % AB.B. Hamr; 2,69 % AB.B. Tachov; 2,65 % AB.B. Příbram vs. 1,52 % AB.B. Praha. Zcela proti očekávání, analyzované změny chromosomů svědčily o expozici chemickým látkám s převahou chromatidových zlomů a počet dicentrických chromosomů byl zvýšen jen nepatrně. Dalšími analýzami v dolech byl zjištěn výskyt plísní prakticky ve všech částech dolů. Výkonná ventilace vzduchu sice snížila koncentrace radonu a jeho dceřiných produktů pod povolené limity, ale byla patrně příčinou rozptýlu plísní v dole. Příznivé podmínky, které v hloubce přes 1 000 m panují, (26 °C, 90 % vlhkost vzduchu) podporovaly jejich růst na stěnách, dřevěných i kovových konstrukcích. Ve stěrech byly prokázány mimo jiné plísně rodu *Aspergillus flavus* s produkcí aflatoxinu B₁ a G₁, *Fusarium solani* s vysoce mutagenními metabolity a *Penicillium versicolor* s produkcí toxinu sterigmatocystinu. Výtěry z krku horníků prokázaly u 27 % z nich 60 druhů toxinogenních plísní (31 vykazovalo různý stupeň embryotoxicity), z toho 42 rodu *Penicillium* a *Aspergillus* u kterých byla prokázána

produkce 9 mykotoxinů z nichž nejvýznamnější byly mutagenní sterigmatocystin, rugulusin a citrinin s podezřením na karcinogenní účinek (Bautybanes a kol., 1984; IARC, 1987). U kontrolní skupiny byly plísně prokázány jen v 5% výtěrů ve kterých byly izolovány 4 kmeny plísní a žádný z nich nevykazoval embryotoxické účinky. V závěrečné zprávě bylo konstatováno, že za stávajících hygienických podmínek v uranových dolech představovaly zvýšené genotoxické riziko expozice plísním, event. odstřelovým zplodinám a výfukovým plynům, nikoliv radonu a jeho dceřinným produktům. Závěry byly překvapivé také pro autority v oblasti radiačního dozoru a ochrany v dolech akceptující pouze riziko ze záření. K dalšímu vývoji nedošlo vzhledem k uzavření uranových dolů začátkem 90. let.

3.6. Expozice 1,3-butadienu (Příloha 9,10).

Šrám, R.J., Rössner, P., Peltonen K., Podrazilová K., Mračková G., Demopoulos N.A., Stephanou G., Vlachodimitropoulos D., Darroudi F., Tate A.D., Chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges, cells with high frequency of SCE, micronuclei and comet assay parameters in 1,3-butadiene-exposed workers. Mutat. Res. 419 (1998) 145-154. IF 2.545

Sorsa, M., Autio, K., Demopoulos, N.A., Järventaus, H., Rössner, P., Šrám, R.J., Stephanou, G., Vlachodimitropoulos, D. Human cytogenetic biomonitoring of occupational exposure to 1,3-butadiene. Mutat. Res. 309 (1994) 321 – 326. IF 2.545

Pracovníci jsou profesionálně exponováni 1,3-butadienu (BD) při jeho výrobě a při výrobě plastů. BD byl v současné době zařazen pro své účinky do kategorie 2A IARC – podezřelý humánní karcinogen. Ve vybraném závodě byly provedeny v letech 1992 – 1994 dvě studie zaměřené k získání podkladů pro zařazení BD mezi humánní karcinogeny. Bylo zjištěno, že i velmi nízké koncentrace BD v pracovním ovzduší (medián: 0,53 mg/m³) indukují zvýšenou průměrnou frekvenci AB.B. (3,11 %) oproti kontrole (medián: 0,013 mg BD/m³) u které byla analyzována průměrná hodnota 2,03 % AB.B.

Tyto výsledky vyvolávají diskusi o způsobu zabezpečení provozů s expozicí mutagenům a karcinogenům, které i ve velmi nízkých koncentracích ovlivňují genetický materiál. Často se jedná o moderní provozy, kde technologicky již nelze kontaminaci pracovního prostředí účinně snížit na bezpečnou koncentraci. Za bezpečnou koncentraci látky je považována taková, která nezvyšuje frekvenci AB.B. nad úroveň spontánní frekvence profesionálně neexponované populace.

Tato práce vznikla jako součást CEC DGXII projektu STEP (CT-910152) a EC grantu ERBCIPA-CT93-0228 a grantu EC ERBCIPA-CT93-0228.

3.7 Spontánní úroveň chromosomových aberací (Příloha 11 - 14).

Binková, B., Lewtas, J., Míšková, I., Rössner, P., Černá, M., Mračková, G., Peterková, K., Mumford, J., Meyer, S., Šrám, R., Biomarkers studies in Northern Bohemia. Environ. Health Perspect. 104 Suppl.3 (1996) 591-597. IF 2.545

Černá, M., Spěváčková, V., Čejchanová, M., Beneš, B., Rössner, P., Bavorová, H., Očadlíková, D., Šmíd, J., Kubínová, R., Population-based biomonitoring in the Czech Republic—the system and selected results. Sci. Total Environ. 204 (1997) 263-270. IF 1.396

Rössner P., Šrám R.J., Bavorová H., Očadlíková D., Černá M., Švandová E., Spontaneous level of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of control individuals of the Czech Republic population, Toxicol. Lett. 96, 97 (1998) 137 – 142. IF 1.587

Rössner, P., Bavorová, H., Očadlíková, D., Švandová, E., Šrám, R.J., Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of children as biomarkers of environmental exposure and life style. Toxicol. Lett. 134 (2002) 79-85. IF 2.242

V ČR jsou pracovišti genetické toxikologie řadu let kumulovány údaje o spontánní úrovni chromosomových aberací u různých věkových skupin neexponovaných osob získané jak z analýz kontrolních skupin, tak z projektů zaměřených na komplexní sledování zdravotního stavu obyvatelstva ve vztahu k expozici toxickým látkám ze zevního prostředí. Nejdůležitější z nich jsou Program Teplice I a Teplice II – „Důsledky znečištěného životního prostředí na zdravotní stav populace v modelové oblasti Teplice“, řešený ve spolupráci US EPA a začleněný do projektu PHARE II, jako projekt EC/HEA/18-CZ (Příloha 11) a „Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ve vztahu k životnímu prostředí“ - projekt MZ ČR (Monitoring) (Příloha 12).

Shromáždit dostatečně velký soubor osob profesionálně neexponovaných genotoxinům, jejichž hodnoty AB.B. by mohly reprezentovat „Referenční kontrolu ČR“, bylo předpokladem pro určení průměrné hodnoty spontánní frekvence chromosomových aberací různých populačních skupin v ČR. Do té doby se za spontánní úroveň aberací v ČR považovala hodnota do 2 % AB.B. na podkladě empirie z provedených analýz. Z deseti laboratoří genetické toxikologie v HS byly v roce 1988 získány údaje od 1 344 kontrolních osob za období 1980 – 1988 (Švandová a Rössner, 1989). Po použití výběrových kritérií na

vstupní data vznikl soubor 1 201 osoby s průměrným věkem 37 roků, 43 % kuřáků a 65 % mužů.

skupina	počet osob	% AB.B. ø
celkem	1201	1,77
muži	776	1,75
ženy	425	1,80
kuřáci muži	362	1,74
nekuř. muži	414	1,76
kuřáci ženy	157	1,83
nekuř. ženy	268	1,77

V roce 1999 byly zpracovány údaje od 5 430 osob ve věku 0 – 63 roků (Černá a kol., 1997; Rössner a kol., 1998) (Příloha 13).

věk	počet osob	% AB.B. ø
0 - 63	5430	1,38
0 (novorozenci)	551	1,10
5 – 6	105	0,71
7 – 15	1734	1,20
16 – 19	239	1,25
20 – 63	2801	1,59

Průměrná hodnota spontánní frekvence chromosomových aberací u dospělé populace (20 – 63 r.), která nebyla profesionálně exponovaná genotoxickým látkám, byla stanovena na základě výsledků analýz 1 201 dospělé osoby z období 1980 – 1988 na hodnotu 1,77 % aberantních buněk (Švandová a Rössner, 1989). Hodnota AB.B. stanovená za roky 1977 – 1999 (N = 2 801) činila 1,59 % (Binková a kol., 1996; Černá a kol., 1997; Rössner a kol., 1998) přičemž v letech 1994 – 1997 (N = 1435) klesla na úroveň 1,16 % AB.B. (Rössner, 2000 a).

Tato hodnota vznikla jako průměrná z hodnot aberantních buněk získaných v různých oblastech ČR. Ukazuje se, že jednotlivých lokalitách se tyto hodnoty liší

v závislosti na kontaminaci prostředí např. lokálním zdrojem znečištění ovzduší v menších městech kombinovaném s nepříznivou lokalizací v kotlině (Prachatice), blízkostí velkých chemických závodů (Kralupy), nebo intenzivní autodopravou (Praha).

Frekvence AB.B. zjištěná u poštovních doručovatelek a učitelek v mateřské školce v Prachaticích v letech 1992 - 1994 byla vyšší, než v odpovídající věkové skupině kontrolních osob pro celou ČR (2,59 % AB.B. vs. 1,59 % AB.B.). Také spektrum chromosomových aberací bylo nepříznivé – u této skupiny byla zjištěna cca 3 x vyšší frekvence dicentrických chromosomů, než je obvyklá hodnota v ČR. Další podrobné šetření ukázalo, že ovzduší v Prachaticích svým obsahem karcinogenních PAU převyšuje i srovnávanou lokalitu Teplice. Zdrojem znečištění byl zastaralý a špatně seřízený kotel v prachatickém nábytkářském podniku Jitona (Bureš a Novák, 1999).

Při analýze frekvence AB.B. u osob profesionálně exponovaných akrylonitrilu (ACN) v chemickém provozu v Kralupech n.Vlt. v r. 2000 bylo zjištěno, že kontrolní skupina neexponovaných osob z Kralup má obdobnou frekvenci AB.B. jako exponovaní pracovníci (1,96 % AB.B. v kontrole vs. 2,06 % AB.B. exp.). Obě hodnoty převyšovaly úroveň referenční kontroly ČR pro toto období (1,16 % AB.B.). Příčinu vidíme v možné expozici osob jiným směsí látek unikajícím z chemických závodů v Kralupech do okolního prostředí (Šrám a kol., 2004 b).

Také kontrolní skupina osob z Prahy měla vyšší frekvenci AB.B. (1,73 % AB.B.) než referenční kontrola. Na tomto poškození chromosómů se mohou podílet vyšší koncentrace PAU jejichž zdrojem je převážně automobilový provoz v Praze (Farmer a kol., 2003; Šrám a kol., 2004 b).

Data byla shromažďována s cílem vytvořit základ pro kvantifikaci expozice genotoxickým látkám v životním prostředí, s ohledem na vliv životního stylu (stravovací návyky, spotřeba alkoholu, léků, kouření) a na kvalitě prostředí.

V roce 2002 byly publikovány údaje o spontánní frekvenci AB.B. u dětské a dospívající populace ve věku 0 – 18 roků (Rössner a kol., 2002) (Př.14).

Dětská populace pro svoji vysokou vnímavost k vnějším podnětům je vhodná ke sledování vlivů faktorů životního prostředí a životního stylu na lidské zdraví. U dětí se nepředpokládá profesionální expozice genotoxinům, přítomnost chronických onemocnění vyžadujících medikamentosní terapii, nevhodné stravovací návyky, příjem alkoholu, kofeinu, drog a kouření. Lze tedy předpokládat, že indukované změny mají svůj původ převážně ve faktorech prostředí, především ve znečištěném ovzduší včetně expozice pasivnímu kouření v rodinách kuřáků..

Při porovnání hodnot AB.B. za období 1984 – 1993 s údaji v letech 1994 – 1999, byl zaznamenán signifikantní pokles frekvence AB.B. u dětské populace v druhé polovině 90. let. Tento pokles koresponduje s výrazným snížením znečištění ovzduší v tomto období, se snížením koncentrace sledovaných toxických prvků Cd, Hg, Pb a naopak zvýšením koncentrace benefitních prvků Se, Zn, Cu a vitaminů C a E v dětském organismu patrně v důsledku zlepšených stravovacích návyků a kvalitnější stravy.

Domníváme se, že monitorování spontánní frekvence AB.B. dětské populace v 5 letých intervalech přispěje k přesnějšímu hodnocení kvality prostředí v ČR.

Práce vznikla za podpory grantu EC QLK4-2000-00628 – CancerRiskBiomarkers; IGA MZ ČR-2764-3; projekt MZ ČR (Monitoring): „Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ve vztahu k životnímu prostředí“ ; „Teplice I“ a laboratoří genetické toxikologie v HS.

3.8 Vztah chromosomových aberací (AB. B.) ke vzniku nádorů (Příloha 15 - 17).

Šmerhovský, Z., Landa, K., Rössner, P., Brabec, M., Zudová, Z., Holá, N., Pokorná, Z., Marečková, J., Hurychová, D., Risk of cancer in an occupationally exposed cohort with increased level of chromosomal aberrations. Environ. Health Perspect. 109 (2001) 41-45. IF 3.137

Šmerhovský, Z., Landa, K., Rössner, P., Juzová, D., Brabec, M., Zudová, Z., Holá, Z., Žárská, H., Nevšimalová, E., Increased risk of cancer in radon-exposed miners with elevated frequency of chromosomal aberrations. Mutat. Res. 514 (2002) 165-176. IF 3.158

Šrám, R.J., Rössner, P., Šmerhovský, Z., Cytogenetic analysis and occupational health in the Czech Republic. Mutat. Res. 566 (2004) 21-48. IF 7.085

V současné době je konvenční metoda cytogenetické analýzy periferních lymfocytů ve světě vysoce hodnocena jako biomarker expozice a účinku (Carrano a Natarajan, 1988; Sorsa a kol., 1992; Albertini a kol., 2000) s významnou asociací s rizikem vzniku nádorů při zvýšených hodnotách AB.B. (Brogger a kol., 1990; Hagmar a kol., 1994; Bonassi a kol., 1995; Hagmar a kol., 1998 a, b; Liou a kol., 1999; Bonassi a kol., 2000).

Review z r. 2004 (Příloha 17) sumarizuje dostupné publikované práce pracovníků genotoxikologických laboratoří v hygienické službě ČR od poloviny 70. let do současnosti provedené touto metodou. Práce shromážděné v review zúročují činnost všech pracovníků laboratoří genetické toxikologie spolupracujících s NRL za uplynulých 30 roků jejich

činnosti. V uplynulých letech bylo u nás vyšetřeno cytogenetickou analýzou tisíce osob v desítkách provozů s rizikem chemické karcinogenity. Ze získaných údajů jsme vytvořili, dosud největší v mezinárodním měřítku, databázi hodnot chromosomových aberací profesionálně exponovaných i neexponovaných osob, takže bylo možné přikročit k epidemiologické analýze s cílem odpovědět na principiální otázku kladenou od samého počátku používání cytogenetické analýzy pro monitorování vlivu prostředí na člověka:

Je spojena vyšší četnost (frekvence) chromosomových aberací (vyjadřovaná jako průměrné procento AB.B.) s vyšším rizikem vzniku nádorových onemocnění ?

Archivy dosud existujících laboratoří poskytly po použití výběrových kritérií soubor 11 991 profesionálně exponovaných i neexponovaných osob z období 7.5.1975 – 7.4.2000, u kterých bylo provedeno celkem 20 783 cytogenetických vyšetření (Šmerhovský, 2003). Ve všech laboratořích se postupovalo podle jednotné, standardní metodiky a srovnatelnost výsledků byla zajišťována poskytováním kontrolovaných kultivačních roztoků, pravidelným školením všech pracovníků a mezilaboratorními porovnávacími zkouškami pomocí analýzy kódovaných preparátů připravovaných v NRL (Šrám, 1975; Šrám, 1981; Rössner, 1989; Švandová a Rössner, 1989). Údaje o incidenci zhoubných novotvarů a mortalitě byly získány z Národního onkologického registru.

První epidemiologické studie z r. 2001 a 2002 (Př.15, 16) zpracovávající část shromážděných údajů se týkaly analýzy 8 962 hodnot cytogenetické analýzy od 3 973 osob. Byla nalezena signifikantní asociace mezi frekvencí chromosomových aberací a incidencí nádorů v dlouhodobě (1975 – 1990) a opakovaně sledované skupině horníků z rudného dolu v riziku expozice křemičitého prachu a radonu. Počty profesionálních nádorových onemocnění jsou však u nás nižší, než ukazovaly italské a skandinávské studie. Vysvětlení je možné hledat v efektivním snížení expozic genotoxickým látkám v důsledku opatření nařízených hygienickou službou v minulých letech, když byly v rizikových provozech prokázány zvýšené hodnoty chromosomových aberací. Lze předpokládat, že naše dlouholetá snaha o dosažení co nejnižších koncentrací a úprav nejvyšších přípustných koncentrací v pracovním prostředí (NPK-P) pro genotoxické látky na rizikových pracovištích se projevila nižším počtem profesionálních nádorů, než bylo možné očekávat vzhledem k expozici karcinogenům na pracovištích v uplynulých letech.

Práce vznikla za podpory grantu EU QLK4-CT-2000-00628.

3.9 Využití metody FISH (fluorescenční in situ hybridizace)

k hodnocení profesionální expozice karcinogenům (Příloha 18)

Šrám, R.J., Beskid, O., Binková, B., Rössner, P., Šmerhovský, Z., Cytogenetic analysis using fluorescence in situ hybridization (FISH) to evaluate occupational exposure to carcinogens. Toxicol. Lett. 149 (2004) 335-344. IF 2.242

Konvenční cytogenetická analýza periferních lymfocytů byla využívána jako biomarker expozice genotoxickým faktorům od počátku 70. let. V hygienické službě České republiky byl akceptován teoretický předpoklad, že periferní lymfocyty představují náhradní indikátor, pro genetické poškození cílových buněk a tkání. Od poloviny 90. let, na základě množství získaných údajů a propracování metodiky analýzy a interpretace výsledků, je metoda používána také jako biomarker účinku. V současné době, na podkladě výsledků italsko skandinávské studie (Brogger a kol., 1990; Hagmar a kol., 1994, 1998 a, b; Bonassi a kol., 1995, 2000) doplněné o analýzu české kohorty (Šmerhovský a kol., 2001, 2002) převažuje názor, že vysoká frekvence chromosomových aberací v periferních lymfocytech předpovídá zvýšené riziko vzniku nádoru.

Konvenční metoda detekuje převážně nestabilní typy chromosomových aberací. V polovině 90. let byla vyvinuta a stále zdokonalována metoda fluorescenční in situ hybridizace (FISH), umožňující velmi citlivou analýzu stabilních typů aberací chromosomů, zejména translokací. Metoda FISH byla primárně používána pro detekci expozice záření, které specificky indukuje vznik translokací a přestaveb chromosomů. Při expozici chemickým látkám se vhodnost této metody pro monitorování s použitím barvicích sond začíná ověřovat.

Koncem 90. let Rubeš a kol. (1998) analyzovali skupinu zdravotníků profesionálně exponovaných při aplikaci cytostatik, Verdorfer a kol. (2001) studovali účinek vojenských odpadů a Tucker a kol. (2003) sledovali účinky pesticidů. V poslední době jsme vyšetřili celkem 383 osob exponovaných butadienu, akrylonitrilu, etylbenzenu, benzenu a PAU (polycyklické aromatické uhlovodíky) jak metodou FISH, tak i konvenční technikou s cílem porovnat citlivost obou metod při hodnocení expozice různým genotoxickým látkám.

Výsledky ukázaly vyšší citlivost metody FISH při detekci poškození, zejména při environmentální expozici PAU. Novým poznatkem bylo zjištění, že po zavedení účinných opatření v provozech ke snížení expozice, klesla jak frekvence AB.B. analyzovaných konvenční metodou, tak i frekvence translokací detekovaných metodou FISH. Dosud se uvádí, že stabilní aberace (translokace) přetrvávají v lymfocytech po zbytek jejich

existence. Na základě našich výsledků se můžeme domnívat, že i lymfocyty nesoucí translokace mohou být eliminovány podobně jako lymfocyty nesoucí zlomy.

Práce vznikla za podpory grantu EU QLK4-CT-2000-00091, QLK4-CT-2000-02381 a grantu MŽP VaV/340/2/00.

4. ZÁVĚR

Závažným projevem expozice některým chemickým látkám jsou jejich pozdní účinky, pro které je typická dlouhá doba latence mezi expozicí a manifestací poškození. Ve svých důsledcích se projevují sníženou kvalitou života jako projev urychleného stárnutí organismu, stoupajícím počtem nádorových onemocnění a výskytem vrozených vad. Pozdní účinky chemických látek nabývají rozhodujícího významu při posuzování zdravotního rizika expozice škodlivinám v životním a pracovním prostředí člověka. Karcinogenním faktorům je v ČR exponováno téměř 1,5 milionu osob.

Biologický monitoring představuje významný nástroj genetické toxikologie sloužící k určení expozice genotoxickým faktorům a k posouzení rizika pozdních následků pro exponované skupiny a jednotlivce (Rössner, 1989, 2000 a, b, 2003). Vzhledem k úzkému vztahu procesu mutagenese a karcinogeneze opakované nálezy zvýšených hodnot chromosomových aberací u sledovaných osob upozorňují na riziko vyšší frekvence nádorových onemocnění (Brogger a kol., 1990; Hagmar a kol., 1994; Bonassi a kol., 1995; Hagmar a kol., 1998 a, b; Liou a kol., 1999; Bonassi a kol., 2000; Šmerhovský a kol., 2001, 2002). Metoda konvenční cytogenetické analýzy je celosvětově rozšířena a používána jako biologický skupinový expoziční test a jako biomarker expozice a účinku genotoxickým látkám v pracovním i komunálním prostředí. Metoda umožňuje zhodnocení expozice i jednotlivců genotoxickým látkám. Z tohoto hlediska má uvedená metoda zásadní význam pro primární prevenci nádorových onemocnění, protože odráží výsledek sumární expozice populace vystavené směsí látek s proměnlivým kvalitativním i kvantitativním složením a velmi časně upozorňuje na jednotlivce s nevhodným metabolickým genotypem pro danou látku a/nebo s hypofunkčními ochrannými mechanismy (reparační systémy, imunitní reakce), které již nedokáží opravovat a kompenzovat genetická poškození vzniklá v důsledku expozice.

Třicetileté zkušenosti s využitím metody cytogenetické analýzy v rámci biomonitorování profesionální i neprofesionální expozice v zahraničí i v ČR potvrzují, že uvedený metodický přístup je zatím jediný s praktickým využitím pro objektivizaci vlivu faktorů prostředí (pracovního i komunálního) na lidský organizmus z hlediska pozdních účinků genotoxických faktorů na populaci. V polovině 80. let existovalo 22 laboratoří

genetické toxikologie v HS pokrývajících svojí kapacitou většinu průmyslových oblastí ČR. V uplynulých letech bylo v těchto laboratořích vyšetřeno cytogenetickou analýzou tisíce osob v desítkách provozů s rizikem chemické karcinogenity. Cytogenetická analýza v mnoha případech přispěla k podstatnému zlepšení pracovních podmínek. Řada získaných výsledků posloužila hygienické službě jako podklad pro rozhodnutí k úpravě režimu na rizikových pracovištích (např.: vinylchlorid, styren, formaldehyd, asbest, BCME), nebo ke snížení NPK-P (epichlorhydrin). Zjištění zvýšené frekvence chromosomových aberací tak většinou iniciovalo nápravná opatření zaměřená na snížení, nebo eliminaci expozice genotoxickým látkám v pracovním prostředí. Lze se oprávněně domnívat, že se v ČR na nižším výskytu nádorových onemocnění ve sledovaných expozicích významně podílelo zavádění efektivních opatření na ochranu zdraví pracujících v 80. letech. Výsledky cytogenetické analýzy chromosomových aberací jsou komplexně interpretovány především ve vztahu k riziku karcinogenních faktorů prostředí, a to v souvislosti s detekcí a hodnocením externí expoziční zátěže, odhadu míry rizika, včetně posouzení efektivnosti možných opatření ke snížení vlivu faktorů s genotoxickým účinkem a kontroly účinnosti přijatých nápravných opatření. Použití cytogenetických metod jako biomarkeru pro účely epidemiologie nádorových onemocnění a ochrany zdraví před účinkem genotoxických faktorů prostředí vyžaduje standardizovaný laboratorní postup a komplexní vyhodnocení výsledků.

V oblasti cytogenetických metod posunula možnosti genetické toxikologie kupředu technika FISH (fluorescenční *in situ* hybridizace) umožňující detekci závažných typů aberací jako jsou translokace, inverse, inserce a aneuploidie. Možnost detekce genových segmentů zvyšuje naše možnosti porozumět procesu vzniku nádorů. Genetická toxikologie využívá poznatků, že nádorové onemocnění je genetické onemocnění s mnoha stupni (kroky), z nichž každý vyžaduje mutaci. Identifikace chromosomových aberací, které jsou zahrnuty do tvorby nádorů, je tak výrazně podpořena použitím metody FISH.

Poznatky o vztahu jak k expozici genotoxickým látkám a počtu indukovaných chromosomových aberací, tak i o souvislosti počtu chromosomových aberací s úrovní rizika vzniku nádorů získané v uplynulých letech, potvrdily správnost našich původních představ o těchto vztazích a oprávněnost našich dlouholetých snah o využívání konvenční cytogenetické analýzy chromosomových aberací v periferních lymfocytech osob profesionálně exponovaných mutagenům a karcinogenům. Vzhledem k tomu, že výsledky cytogenetické analýzy v mnoha případech přispěly ke zlepšení pracovních podmínek v 80. letech, lze se oprávněně domnívat, že se výsledky cytogenetické analýzy podílely na nižším

výskytu nádorových onemocnění ve sledovaných expozicích mutagenům a karcinogenům v ČR.

5. VYUŽITÍ VÝSLEDKŮ DISERTACE V DALŠÍM VÝZKUMU A PRAXI

Konvenční metoda cytogenetické analýzy lidských periferních lymfocytů je již 30 let hygienickou službou v ČR standardně užívaná metoda pro monitorování populace profesionálně exponované genotoxinům, tj. mutagenům a karcinogenům. Výsledky cytogenetické analýzy umožňují posoudit míru expozice a účinnost preventivních opatření zaměřených na snížení expozice pracovníků ať již technického a organizačního charakteru, nebo z hlediska správného používání osobních ochranných prostředků. Opakovaná vyšetření skupin osob profesionálně exponovaných genotoxinům dovolují dlouhodobě sledovat exponované pracovníky a určit jednotlivce se zvýšenou vnímavostí k expozici genotoxickým látkám. U těchto jednotlivců, kteří jsou tak vystaveni vyššímu riziku, než ostatní populace, lze a je třeba uplatňovat řadu opatření ke snížení rizika z expozice.

Pro koordinaci a standardizaci činnosti laboratoří byla v r.1977 založena referenční laboratoř (RL) při Institutu hygieny a epidemiologie (IHE, nyní SZÚ). Byla vypracována jednotná kritéria metodik odběru vzorků, kultivace, zpracování kultur, přípravy mikroskopických preparátů, statistického hodnocení a interpretace výsledků a atlas chromosomových aberací. RL organisovala školení pracovníků z terénních laboratoří a pravidelné mezilaboratorní porovnávání kódovaných mikroskopických preparátů. Tyto standardní postupy spolu s poskytováním kultivačních roztoků všem zúčastněným laboratořím zajistily jednotné, standardizované metodiky umožňující porovnávání výsledků analýz z jednotlivých laboratoří a v konečné fázi i jejich agregaci pro statistická hodnocení.

Koncem 70. a v průběhu 80. let přibývalo důkazů o tom, že snížení expozice genotoxickým látkám na pracovišti je následováno snížením frekvence AB.B. u exponovaných osob (např. pracoviště s expozicí monomeru vinylchloridu, styrenu, formaldehydu, epichlorhydrinu, cytostatikům). Tyto nálezy vedly k upravení pracovních podmínek v některých rizikových provozech (Šrám a Kulešov, 1980; Šrám, 1981).

Od 70. do konce 90. let nashromáždila pracoviště genetické toxikologie největší množství použitelných dat na světě, takže bylo možné přikročit k epidemiologické analýze.

Lze se oprávněně domnívat, že se v ČR na nižším výskytu nádorových onemocnění ve sledovaných expozicích ve srovnání s jinými státy významně podílelo zavádění efektivních opatření na ochranu zdraví pracujících v 80. letech.

Konvenční metoda detekuje převážně nestabilní typy chromosomových aberací. V polovině 90. let byla vyvinuta a stále zdokonalována metoda fluorescenční in situ hybridizace (FISH), umožňující velmi citlivou analýzu stabilních typů aberací chromosomů, zejména strukturálních translokací, inverzí, insercí a aneuploidií. Možnost detekce genových segmentů zvyšuje naše možnosti porozumět procesu vzniku nádorů.

- **Využití našich výsledků v legislativě**

Množství a zejména kvalita výsledků získaných naším pracovištěm v minulém období, a v neposlední řadě i uznání zahraničních partnerů, napomohla zásadním způsobem při tvorbě nových předpisů v ČR souvisejících s ochranou a bezpečností práce s karcinogeny a mutageny.

Ve spolupráci s členy výborů Společnosti pracovního lékařství a České a Slovenské společnosti pro mutageny a zevním prostředím byly naše poznatky o významu cytogenetické analýzy periferních lymfocytů pro hodnocení expozice osob při profesionální expozici karcinogenům a mutagenům včleněny do měnící se legislativy ustanovení, vytvářejících legislativní rámec pro použití cytogenetických metod pro hodnocení profesionální expozice:

- Vyhláška 432 / 2003 Sb., kterou se stanoví podmínky pro zařazování prací do kategorií,...podmínky odběru biologického materiálu pro provádění biologických expozičních testů. Podle Přílohy č. 1, odst. 2 „...lze pro hodnocení expozice cytostatikům označeným IARC jako karcinogeny skupiny 1 nebo skupiny 2A použít cytogenetická vyšetření exponovaných osob“.
- „...Cytogenetická vyšetření lze dále použít pro hodnocení expozice karcinogenům zařazeným podle NV č. 178 / 2001 Sb., ve znění NV č. 523 / 2002 Sb., do 1. a 2. skupiny a mutagenům 2. skupiny, pokud nejsou pro hodnocení expozice dané látky k dispozici standardní metody, např. měření inhalační expozice, nebo biologické expoziční testy...“.
- „...Cytogenetická vyšetření lze dále použít pro hodnocení expozice látkám označeným podle NV č. 25 / 1999 Sb., ve znění NV č. 258 / 2001 Sb., větami R 45, R 49

(karcinogeny); R 46 (mutageny); R 60, R 61 (látky toxické pro reprodukci) a jejich kombinacemi...“.

- Podle Zákona č. 274 / 2003, § 86, odst. 1, „Zdravotní ústavy mohou v hlavní činnosti... provádět genotoxikologická a cytogenetická laboratorní vyšetření...“.

Tato ustanovení umožňují uzavírat smlouvy Zdravotních ústavů se zdravotními pojišťovnami (především s VZP) k uhrazení nákladů na preventivní pracovně lékařské hodnocení expozice genotoxickým látkám cytogenetickou analýzou chromosomových aberací u osob v riziku karcinogenů a mutagenů, jako podkladu pro hodnocení zdravotního rizika.

6. SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY

1. Albertini, R. J., Nicklas, J. A., O'Neill, J. P., Future research directions for evaluating human genetic and cancer risk from environmental exposures. *Environ. Health Perspect.* 104 suppl. 3 (1996) 503–510.
2. Albertini, R.J., Anderson, D., Douglas, G.R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, A.T., Norppa H., Shuker, D.E., Tice, R., Waters, M.D., Aiton, A., IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutat. Res.* 463 (2000) 111–172.
3. Bautybannes, P., Aufray, Y., Malherbe, C., Kogbo, W., Marais, C., Propriétés antibacteriennes et genotoxiques de 33 mycotoxines. *Mycopathologia* 87 (1984) 43-49.
4. Binková, B., Lewtas, J., Míšková, I., Rössner, P., Černá, M., Mračková, G., Peterková, K., Mumford, J., Meyer, S., Šrám, R., Biomarkers studies in Northern Bohemia. *Environ. Health Perspect.* 104 Suppl.3 (1996) 591-597.
5. Bonassi, S., Abbondandolo, A., Camurri, L., Dal Pra, L., De Ferrari, M., Degrassi, F., Forni, A., Lamberti, L., Lando, C., Padovani, P., et al., Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans? Preliminary results of an Italian cohort study. *Cancer Genet. Cytogenet.* 79 (1995) 133–135.
6. Bonassi, S., Hagmar, L., Strömberg, U., Huisi Montagud, A., Tinnerberg, H., Forni, A., Heikkilä, P., Wanders, S., Wilhardt, P., Hansteen, I.L., Knudsen, L., Norppa, H., Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. *Cancer Res.* 60 (2000) 1619–1625.
7. Brogger, A., Hagmar, L., Hansteen, I.L., Heim, S., Hogstedt, B., Knudsen, L., Lambert, B., Linainmaa, K., Mitelman, F., Nordenson, I., et al., An inter-Nordic prospective study on cytogenetic endpoints and cancer risk: Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosome Damage. *Cancer Genet. Cytogenet.* 45 (1990) 85–92.
8. Bucton, K. E., Evans, H. J., Methods for the analysis of human chromosome aberrations. WHO, Geneva, (1973) 66 pp.
9. Bureš, V., Novák, J., Hodnocení emisí polyaromatických uhlovodíků z vybraných zdrojů v Programu Teplice – Prachatice. *Ochrana ovzduší* 5-6 (1999) 6-10.
10. Carrano, A.V., Natarajan, A.T., Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat. Res.* (1988) 204 379 – 406.
11. Černá, M., Rössner, P., Využití krátkodobých metod k monitorování genotoxických účinků faktorů životního a pracovního prostředí. *Čs. Hyg.* 33 (1988) 105-109.
12. Černá M., Spěváčková V., Čejchanová M., Beneš B., Rössner P., Bavorová H., Očadlíková D., Šmíd J., Kubínová R., Population-based biomonitoring in the Czech Republic—the system and selected results. *The Science of the Total Environment* 204 (1997) 263-270.
13. Farmer, P.B., Singh, R., Kaur, B., Sram, R.J., Binkova, B., Kalina, I., Popov, T.A., Garte, S., Taioli, E., Gabelova, A., Cebulska-Wasilewska, A., Molecular epidemiology studies of cyrcinogenic environmental pollutants, Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental pollution on exogenous and oxidative DNA damage. *Mutat. Res* 544 (2003) 397-402/.

14. Hagmar, L., Brogger, A., Hansteen, I.-L., Heim, S., Högstedt, B., Knudsen, L., Lambert, B., Linnainmaa, K., Mitelman, F., Nordenson, I., Reuterwall, C., Salomaa, S., Skerfving, S., Sorsa, M., Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosome aberrations in lymphocytes: Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosome Damage. *Cancer Res.* 54 (1994) 2919–2922.
15. Hagmar, L., Bonassi, S., Stromberg, U., Brogger, A., Knudsen, L., Norppa, H., Reuterwall, C., Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Res.* 58 (1998 a) 4117–4121.
16. Hagmar, L., Bonassi, S., Stromberg, U., Mikoczy, Z., Lando, C., Hansteen, I.L., Montagud A.H., Knudsen, L., Norppa, H., Reuterwall, C., Tinnerberg, H., Brogger, A., Forni, A., Högstedt, B., Lambert B., Mitelman, F., Nordenson, I., Salomaa, S., Skerfving, S., Cancer predictive value of cytogenetic markers used in occupational health surveillance programs: a report from an ongoing study by the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Mutat. Res.* 405 (1998 b) 171–178.
17. Hungerford, D. A., Leukocyte cultured from small inocula of whole blood and preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl. *Stain Technol.* 40 (1965) 333 – 338.
18. IARC, Handling chemical carcinogens in the laboratory, problems of safety. IARC Sci.Publ. No. 33 (1979).
19. IARC Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Some antineoplastic and immunosuppressive agents. IARC Monographs, vol. 26. (1981).
20. IARC Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, An updating of IARC Monographs vols. 1- 42, Suppl. 7 (1987).
21. IPCS - Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles. Environmental Health Criteria 155, WHO, Geneva, (1993).
22. Liou, S.H., Lung, J.C., Chen, Y.H., Yang, T., Hsieh, L.L., Chen C.J., Wu, T.N., Increased chromosome-type chromosome aberration frequencies as biomarkers of cancer risk in a blackfoot endemic area. *Cancer Res.* 59 (1999) 1481–1484.
23. Metodický návod hlavního hygienika ČR k posuzování pracovišť s cytostatiky ve zdravotnických zařízeních. HEM-340.2-31.10.89, ze dne 16.11.1989 97-99.
24. Pelclová, D., Rössner, P., Pícková, J., Chromosome aberrations in rotogravure printing plant workers. *Mutat. Res.* 245 (1990) 299–303.
25. Pelclová, D., Černá, M., Pastorková, A., Vrbíková, V., Procházka, B., Hurychová, D., Dlasková, Z., Hornychová, M., Study of genotoxicity of toluene. *Arch. Environ. Health* 55 (2000) 268-273.
26. Pohlová, H., Černá, M., Rössner, P., Chromosomal aberrations, SCE and urine mutagenicity in workers occupationally exposed to cytostatic drugs. *Mutat. Res.* 174 (1986) 213– 217.
27. Rössner, P., Šrám, R.J., Nováková, J., Lambl, V., Cytogenetic analysis in workers occupationally exposed to vinyl chloride. *Mutat. Res.* 43 (1980) 425–427.
28. Rössner, P., Černá, M., Pokorná, D., Hájek, V., Petr, J., Effect of ascorbic acid prophylaxis on the frequency of chromosome aberrations, urine mutagenicity and

- nucleolus test in workers occupationally exposed to cytostatic drugs. *Mutat. Res.* 208 (1988) 149–153.
29. Rössner, P., Metody biologického monitorování genotoxických účinků faktorů prostředí – standardní metodika. Příloha *Acta Hyg. Epidem. Microbiol.* 20 (1989) 1 – 56.
 30. Rössner, P., Černá, M., Bavorová, H., Pastorková, A., Očadlíková, D., Monitoring of human exposure to occupational genotoxicants. *Centr. Europ. J. Publ. Hlth.* 3 (1995) 219-223.
 31. Rössner, P., Šrám, R.J., Bavorová H., Očadlíková, D., Černá, M., Švandová, E., Spontaneous level of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of control individuals of the Czech Republic population. *Toxicol. Lett.* 96–97 (1998) 137 –142.
 32. Rössner, P., Metody biologického monitorování genotoxických účinků faktorů pracovního prostředí, cytogenetická analýza periferních lymfocytů. *České pracovní lékařství, Supplementum Novinky v průmyslové toxikologii* 1 (2000 a) 134-39.
 33. Rössner, P., Metody biologického monitorování genotoxických účinků faktorů prostředí, cytogenetická analýza periferních lymfocytů. *Acta Hyg. Epidem. Microbiol.* 5 (2000 b) 1 – 33, ISSN 0862-5956 .
 34. Rössner, P., Bavorová, H., Očadlíková, D., Švandová, E., Šrám R.J., Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of children as biomarkers of environmental exposure and life style. *Toxicol. Lett.* 134/1-3 (2002) 79-85.
 35. Rössner, P., Standardní operační postupy pro biologické monitorování genotoxických účinků faktorů prostředí. *Acta Hyg. Epidem. Microbiol.*, 3 (2003) 1 – 180, ISSN 0862-5956.
 36. Rubeš, J., Kuchařová, S., Vozdová, M., Musilová, P., Zudová, Z., Cytogenetic analysis of peripheral lymphocytes in medical personnel by means of FISH. *Mutat. Res.* 412 (1998) 293-298.
 37. Savage, J. R. K., Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *J. Med. Genet.* 13 (1976) 103 – 122.
 38. Sessink, P.J.M., Černá, M., Rössner, P., Pastorková, A., Bavorová, H., Franková K., Anzion, R.B.M., Bos, R.P., Urinary cyclophosphamide excretion and chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes after occupational exposure to antineoplastic agents. *Mutat Res.* 309 (1994) 193-199.
 39. Směrnice o hygienických zásadách pro práci s chemickými karcinogeny č. 64, Hygienické předpisy, svazek 56 (1984) s. 1-17.
 40. Sorsa, M., Wilbourn, J., Vainio, H., Human cytogenetic damage as a predictor of cancer risk. Mechanism of carcinogenesis in risk identification. *IARC Scientific Publ. No. 16 / (1992) 543 – 554.*
 41. Sorsa, M., Autio, K., Demopolous, N.A., Järventaus, H., Rössner, P., Šrám, R.J., Stephanou, G., Vladimirooulos, D., Human cytogenetic biomonitoring of occupational exposure to 1,3-butadiene. *Mutat. Res.* 309 (1994) 321–326.
 42. Šmerhovský, Z., Kauppinen, T., CAREX - International information system on occupational exposure to carcinogens: Occupational exposure to carcinogens in the Czech Republic, Report of Finnish Institute of Occupational Health, Helsinki (2000).

43. Šmerhovský, Z., Landa, K., Rössner, P., Brabec, M., Zudová, Z., Holá, N., Pokorná, Z., Marečková, J., Hurychová, D., Risk of cancer in an occupationally exposed cohort with increased level of chromosomal aberrations. *Environ. Health Perspect.* 109 (2001) 41–45.
44. Šmerhovský, Z., Landa, K., Rössner, P., Jůzová, D., Brabec, M., Zudová, Z., Holá, N., Žárská, H., Nevšimalová, E., Increased risk of cancer in radon-exposed miners with elevated frequency of chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* 514 (2002) 165–176.
45. Šmerhovský, Z., Chromosómové aberace stanovené konvenční cytogenetickou analýzou v periferních lymfocytech a riziko zhoubných novotvarů. *Disertační práce, Karlova universita, Praha (2003), 1 – 149.*
46. Šrám, R.; Systém hodnocení mutagenní aktivity chemických látek pro člověka. Základní principy a doporučené metody. Příloha *Acta Hyg. Epidem. Microbiol.* 16 (1975) 1 – 25.
47. Šrám, R.J., Current status and future trends in the estimation of human genetic risk from environmental chemicals in the Czech Socialist Republic. *Czech Med.* 1 (1978) 193–202.
48. Šrám, R.J., Kuleshov, N.P., Monitoring of the occupational exposure to mutagens by the cytogenetic analysis of human peripheral lymphocytes in vivo. *Arch. Toxicol. Suppl.* 4 (1980) 11–18.
49. Šrám, R., J., Rössner, P., Černá, M., Koudela, K., Landa, K., Samková, I., Dobiáš, L., Paulíková, H., Janča, L., Genetické poškození při profesionální expozici mutageny. Příloha *Acta Hyg. Epidem. Microbiol.* 1 (1981) 1-14.
50. Šrám, R.J., Cytogenetic analysis of peripheral lymphocytes as a method for monitoring environmental levels of mutagens, in: I. Gut, M. Cíkr, G.L. Plaa (Eds.), *Industrial and Environmental Xenobiotics: Metabolism and Pharmacokinetics of Organic Chemicals and Methods*, Springer-Verlag, Berlin (1981) 187–193 .
51. Šrám, R.J., Dobiáš, L., Pastorková, A., Rössner, P., Janča, L., Effect of ascorbic acid prophylaxis on the frequency of chromosome aberrations in the peripheral lymphocytes of coal-tar workers. *Mutat. Res.* 120 (1983 a) 181–186.
52. Šrám, R.J., Landa, K., Samková, I., Effect of occupational exposure to epichlorohydrine on the frequency of chromosome aberrations in peripheral lymphocytes. *Mutat. Res.* 122 (1983 b) 59–64 .
53. Šrám, R.J., Černá, M., Holá, N., Effect of ascorbic acid prophylaxis in groups occupationally exposed to mutagens, in: Ramel, C., Lambert, B., Magnusson, J. (Eds.), *Genetic toxicology of environmental chemicals, Part B: Genetic effects and applied mutagenesis*. Liss, A.R., New York (1986) 327-335.
54. Šrám, R.J., Dobiáš, L., Rössner, P., Veselá, D., Veselý, D., Rakusová, R., Řeřicha, V., Monitoring genotoxic exposure in uranium mines. *Environ. Health Perspect.* 101 (Suppl. 3) (1993 a) 155–158
55. Šrám, R.J., Binková, B., Dobiáš, L., Rössner, P., Topinka, J., Veselá, D., Veselý, D., Stejskalová, J., Bavorová, H., Řeřicha, V., Monitoring genotoxic exposure in uranium miners. *Environ. Health Perspect.* 99 (1993 b) 303–305 .
56. Šrám, P. Rössner, K. Peltonen, K. Podrazilová, G. Mračková, N.A. Demopoulos, G. Stephanou, D. Vladimirovopoulos, F. Darroudi, A.D. Tate, Chromosomal aberrations,

- sister-chromatid exchanges, cells with high frequency of SCE, micronuclei and comet assay parameters in 1,3-butadiene exposed workers. *Mutat. Res.* 419 (1998) 145–154.
57. Šrám, R.J., Binková, B., Dejmek, J., Rössner, P., Rubeš, J., Topinka, J.; Molecular epidemiology studies in Northern Bohemia. In: *Human Monitoring after Environ. and Occupational Exposure to Chemical and Physical Agents* (eds. Anderson, D., Karakaya, A.E., Šrám, R.J.), NATO Sci.Ser., Vol.13, IOS Press Amsterdam (2000) 119-126.
 58. Šrám, R., Rössner, P., Šmerhovský Z., Cytogenetic analysis and occupational health in the Czech Republic. *Mutat. Res.* 566 (2004 a) 21-48.
 59. Šrám, R.J., Beskid, O., Binková, B., Rössner, P., Šmerhovský, Z., Cytogenetic analysis using fluorescence in situ hybridization (FISH) to evaluate occupational exposure to carcinogens. *Toxicol. Lett.* 149 (2004 b) 335-344 .
 60. Švandová, E., Rössner, P., Příspěvek k problému určení spontánní úrovně chromosomových aberací v populaci ČR. *Pracov. Lék.* 41 (1989) 216-219.
 61. Taioli, E., Bonassi, S., Methodological issues in pooled analysis of biomarker studies. *Mutat. Res.* 512 (2002) 85-92.
 62. Tucker, J.D., Moore, I.I., Ramsey, M.J., Kato, P., Langlois, R.G., Burroughs, B., Long, L., Garry, V.F., Multi-endpoint biological monitoring of phosphine workers. *Mutat. Res.* 536 (2003) 7-14.
 63. Verdorfer, I., Neubauer, S., Letzel, S., Angerer, J., Arutyunyan, R., Martus, P., Wucherer, M., Gebhart, E., Chromosome painting for cytogenetic monitoring of occupationally exposed and non exposed groups of human individuals. *Mutat. Res.* 491 (2001) 97-109.

7. SEZNAM KOMENTOVANÉHO SOUBORU PRACÍ (přílohy č: 1-18)

1. Rössner, P., Šrám, R.J., Nováková, J., Lambl, V., Cytogenetic analysis in workers occupationally exposed to vinylchloride. *Mutat. Res.* 73 (1980) 425-427. IF 2.545
2. Šrám, R.J., Dobiáš, L., Pastorková, A., Rössner, P., Janča, L., Effects of ascorbic acid prophylaxis on the frequency of chromosome aberrations of coal-tar workers. *Mutat. Res.* 120 (1983) 181-186. IF 2.545
3. Pelclová, D., Rössner, P., Pícková, J., Chromosome aberrations in rotogravure printing plant workers. *Mutat. Res.* 245 (1990) 299-303. IF 2.545
4. Pohlová, H., Černá, M., Rössner, P., Chromosomal aberrations, SCE and urine mutagenicity workers occupationally exposed to cytostatic drugs. *Mutat. Res.* 174 (1986) 213-217. IF 2.545
5. Rössner, P., Černá, M., Pokorná, D., Hájek, V., Petr, J., Effect of ascorbic acid prophylaxis on the frequency of chromosome aberrations, urine mutagenicity, and nucleolus test in workers occupationally exposed to cytostatic drugs. *Mutat. Res.* 208 (1988) 149-153. IF 2.545
6. Sessink, P., J., M., Černá, M., Rössner, P., Pastorková, A., Bavorová, H., Franková, K., Anzion, R., B., M., Bos, R., P., Urinary cyclophosphamide excretion and chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes after occupational exposure to antineoplastic agents. *Mutat. Res.* 309 (1994) 193-199. IF 2.545
7. Šrám, R.J., Binková, B., Dobiáš, L., Rössner, P., Topinka, J., Veselá, D., Veselý, D., Stejskalová, J., Bavorová, H., Řeřicha, V., Monitoring the genotoxic exposure in uranium miners. *Environ. Health Perspect.* 99 (1993) 303-305. IF 3.137
8. Šrám, R.J., Dobiáš, L., Rössner, P., Veselá, D., Veselý, R., Rakusová, R., Řeřicha, V., Monitoring genotoxic exposure in uranium mines. *Environ. Health Perspect.* 101 (Suppl.3) (1993) 155-158. IF 3.13
9. Šrám, R.J., Rössner, P., Peltonen K., Podrazilová K., Mračková G., Demopoulos N.A., Stephanou G., Vlachodimitropoulos D., Darroudi F., Tates A.D., Chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges, cells with high frequency of SCE, micronuclei and comet assay parameters in 1,3-butadiene-exposed workers. *Mutat. Res.* 419 (1998) 145-154. IF 2.545
10. Sorsa, M., Autio, K., Demopoulos, N.A., Järventaus, H., Rössner, P., Šrám, R.J., Stephanou, G., Vlachodimitropoulos, D., Human cytogenetic biomonitoring of occupational exposure to 1,3-butadiene. *Mutat. Res.* 309 (1994) 321 – 326. IF 2.545
11. Binková, B., Lewtas, J., Míšková, I., Rössner, P., Černá, M., Mračková, G., Peterková, K., Mumford, J., Meyer, S., Šrám, R., Biomarkers studies in Northern Bohemia. *Environ. Health Perspect.* 104 Suppl.3 (1996) 591-597. IF 2.545
12. Černá, M., Spěváčková, V., Čejchanová, M., Beneš, B., Rössner, P., Bavorová, H., Očadlíková, D., Šmíd, J., Kubínová, R., Population-based biomonitoring in the Czech Republic—the system and selected results. *Sci. Total Environ.* 204 (1997) 263-270. IF 1.396
13. Rössner P., Šrám R.J., Bavorová H., Očadlíková D., Černá M., Švandová E., Spontaneous level of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of

- control individuals of the Czech Republic population. *Toxicol.Lett.* 96,97 (1998) 137 – 142. IF 1.587
14. Rössner, P., Bavorová, H., Očadlíková, D., Švandová, E., Šrám, R.J., Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of children as biomarkers of environmental exposure and life style. *Toxicol.Lett.* 134 (2002) 79-85. IF 2.242
 15. Šmerhovský, Z., Landa, K., Rössner, P., Brabec, M., Zudová, Z., Holá, N., Pokorná, Z., Marečková, J., Hurychová, D., Risk of cancer in an occupationally exposed cohort with increased level of chromosomal aberrations. *Environ.Health Perspect.* 109 (2001) 41-45. IF 3.137
 16. Šmerhovský, Z., Landa, K., Rössner, P., Juzová, D., Brabec, M., Zudová, Z., Holá, Z., Žárská, H., Nevšímalová, E., Increased risk of cancer in radon-exposed miners with elevated frequency of chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* 514 (2002) 165-176. IF 3.158
 17. Šrám, R.J., Rössner, P., Šmerhovský, Z., Cytogenetic analysis and occupational health in the Czech Republic. *Mutat. Res.* 566 (2004) 21-48. IF 7.085
 18. Šrám, R.J., Beskid, O., Binková, B., Rössner, P., Šmerhovský, Z., Cytogenetic analysis using fluorescence in situ hybridization (FISH) to evaluate occupational exposure to carcinogens. *Toxicol. Lett.* 149 (2004) 335-344. IF 2.242

8. SEZNAM DALŠÍCH PUBLIKACÍ SOUVISEJÍCÍCH S TÉMATIKOU DISERTACE

V IMPAKTOVANÝCH ČASOPISECH

1. Rössner, P., Mutagenic effect of sodium arsenite in Chinese hamster cell line DeDe. *Mutat. Res.* 46 (1977) 234-235. IF 2.545
2. Šrám, R., J., Rössner, P., Zhurkov, V., S., Kodýtková, I., Mutagenicity studies with nitrofurans. I. Mutagenicity of nitrofurylacrylic acid for mammals. *Mutat. Res.* 68 (1979) 367-380. IF 2.545
3. Chebotarev, A.N., Rössner, P., Selezneva, T.G., Frequency of chromosome-aberrations in hinese-hamster cell-culture under a prolonged action of thiophospamide. *Genetika* 16 (1980) 1307-1310. IF 1.063
4. Černá, M., Rössner, P., Angelis, K., Nováková, J., Šrám, R., J., Mutagenicity studies with nitrofurans. III. Mutagenicity testing of nitrofurylacrylic acid in human blood and urine. *Mutat. Res.* 77 (1980) 13-20. IF 2.545
5. Černá, M., Lepší, P., Rössner, P., Pohlová, H., Mutagenicity of some substituted 1-phenyl-3,3-dimethyltriazenes. I. The Salmonella/mammalian microsome assay and repair test. *Mutat. Res.* 190 (1987) 172-182. IF 2.545
6. Rössner, P., Černá, M., Lepší, P., Pohlová, H., Mutagenicity of some substituted 1-phenyl-3,3-dimethyltriazenes. II. Chromosomal aberrations in human peripheral lymphocytes in vitro. *Mutat. Res.* 190 (1987) 183-186. IF 2.545
7. Kočíšová, J., Rössner, P., Binková, B., Bavorová, H., Šrám, R., J., Mutagenicity studies on Paracetamol in human volunteers. I. Cytogenetic analysis of peripheral lymphocytes and lipid peroxidation in plasma. *Mutat. Res.* 209 (1988) 161-165. IF 2.545
8. Dobiáš, L., Černá, M., Rössner, P., Šrám, R., J., Genotoxicity and carcinogenicity of Metronidazole. *Mutat. Res.* 317 (1994) 177-194. IF 2.545
9. Tates A.D., van Dam F.J., de Zwart F.A., Darroudi F., Natarajan A.T., Rössner P., Peterková K., Peltonen K., Demopoulos N.A., Stephanou G., et al., Biological effect monitoring in industrial workers from Czech Republic exposed to low levels of butadiene. *Toxicology* 113 (1996) 91 – 99. IF 1.752
10. Šrám, R.J., Binková, B., Rössner, P., Rubeš, J., Topinka, J., Dejmek, J., Adverse reproductive outcomes from exposure to environmental mutagens. *Mutat. Res.* 428 (1999) 203-215. IF 2.545

V NEIMPAKTOVANÝCH ČASOPISECH

1. Šrám, R., J., Rössner, P., Černá, M., Koudela, K., Landa, K., Samková, I., Dobiáš, L., Paulíková, H., Janča, L., Genetické poškození při profesionální expozici mutageny. Příloha *Acta Hyg. Epidem. Microbiol.* 1 (1981) 1-14.
2. Hrouda, M., Rössner, P., Genetické efekty kovů. *Biol. Listy* 47 (1982) 1-16.
3. Hanzl, J., Rössner, P., Klementová, H., Cytogenetická analýza u pracovníků profesionálně exponovaných formaldehydu. *Čs. Hyg.* 30 (1985) 403-410.

4. Pohlová, H., Rössner, P., Indirect mutagen assay in human lymphocytes in the presence of a metabolic activation system. *J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immunol.* (Praha) 30 (1986) 371-376.
5. Rössner, P., Pozdní účinky chemických látek. Příloha *Acta Hyg. Epidem. Microbiol.* 5 (1986) 1-5.
6. Pelclová, D., Rössner, P., Pícková, J., Cytogenetická analýza periferních lymfocytů pracovníků profesionálně exponovaných toluenu. *Pracovní lék.* 39 (1987) 356-361.
7. Dobiáš, L., Hanzl, J., Rössner, P., Janča, L., Rulišková, H., Hodnocení klastogenního účinku formaldehydu u dětí v předškolních a školních zařízeních. *Čs.Hyg.* 33 (1988) 596-604.
8. Pelclová, D., Rössner, P., Pícková, J., Hykeš, P., Frekvence chromosómových aberací u tiskařů rotačního hlubotisku. *Pracovní lék.* 40 (1988) 256-261.
9. Černá, M., Rössner, P., Využití krátkodobých metod k monitorování genotoxických účinků faktorů životního a pracovního prostředí. *Čs.Hyg.* 33 (1988) 105-109.
10. Tuček, M., Rössner, P., Krýsl, S., Švandová, E., Cytogenetická analýza periferních lymfocytů pracovníků exponovaných mořidlům osiv. *Čs.Hyg.* 33 (1988) 226-237.
11. Rössner, P., Metody biologického monitorování genotoxických účinků faktorů prostředí – standardní metodika. Příloha *Acta Hyg. Epidem. Microbiol.* 20 (1989) 1 – 56.
12. Švandová, E., Rössner, P., Příspěvek k problému určení spontánní úrovně chromosomových aberací v populaci ČSR. *Pracov. Léč.* 41 (1989) 216-219.
13. Pelclová, D., Rössner, P., Pícková, J., Hornychová, M., Hykeš, P., Tříleté sledování chromosomálních aberací u pracovníků tiskárny a kontrolních skupin v průmyslové oblasti. *Pracov.Lék.* 42 (1990 a) 14-19.
14. Pelclová, D., Rössner, P., Pícková, J., Hykeš, P., Chromosomální aberace u pracovníků tiskárny. *Čas. Léč. Čes.* 129 (1990 b) 1002-1003.
15. Srb, V., Rössner, P., Zudová, Z., Pohlová, H., Koudela, K., Účinek formaldehydu a toluenu na vybrané cytogenetické ukazatele u učňovské mládeže. *Čs.Hyg.* 35 (1990) 66-75.
16. Rössner, P., Bavorová, H., Franková, K., Lepší, P., Švandová, E., Výsledky cytogenetického šetření u novorozenců. Příloha *Acta Hyg.Epidem.Microbiol.* 1 (1992) 59-61.
17. Bavorová, H., Franková, K., Očadlíková, D., Rössner, P., Švandová, E., Výsledky cytogenetické analýzy periferních lymfocytů u primipar a novorozenců v Programu Teplice. *Hygiena* 39 (1994) 358-360.
18. Rössner, P., Černá, M., Bavorová, H., Pastorková, A., Očadlíková, D., Monitoring of human exposure to occupational genotoxicants. *Centr. Europ. J. Publ. Hlth.* 3 (1995) 219-223.
19. Rössner, P., Cytogenetická analýza lidských periferních lymfocytů v systému biologického monitorování expozice osob genotoxinům. *Hygiena* 41 (1996) č.3 159-166.
20. Rössner, P., Jirková, H., Riziko práce při aplikaci cytostatik. *Pracov. Léč.* 48 (1996) č.3 119-122.

21. Rössner, P., Metody biologického monitorování genotoxických účinků faktorů prostředí, cytogenetická analýza periferních lymfocytů. Acta Hyg. Epidem. Microbiol. 5 (2000) 1 – 33 ISSN 0862-5956.