

Maria Pawlaczyk-Szpilowa

BIOINDYKACYJNE METODY OCENY STANU SKAŻENIA WODY NIEKTÓRYMI ZWIĄZKAMI SZKODLIWYMI DLA ZDROWIA

Niniejszy artykuł stanowi syntezę wykładu, wygłoszonego podczas obrad X Jubileuszowej Konferencji Naukowo-Technicznej POSTĘP TECHNICZNY W WODOCIĄGACH pt.: „Poziom zanieczyszczenia wód a możliwości ich oczyszczania”, która odbyła się we Wrocławiu w dniach 7—9 listopada 1985 r.

Ekologiczne uwarunkowania niektórych chorób cywilizacyjnych są dziś faktem naukowo udowodnionym i popartym przez dane epidemiologiczne Światowej Organizacji Zdrowia (WHO). Na pierwsze miejsce, stanowiące przyczynę przedwczesnych zgonów wysuwają się:

- miażdżyca i jej konsekwencje w postaci zawałów i wylewów krwi do mózgu, w coraz młodszym wieku
- choroby nowotworowe pojawiające się coraz częściej u osób młodych
- choroby alergiczne i metaboliczne (otyłość, kamica, cukrzyca)
- teratogeneza i zaburzenia rozwojowe.

Ze względu na stały i bardzo szybki wzrost zachorowań na choroby nowotworowe jak i opinię WHO, iż około 80% przypadków ma swoje źródło w oddziaływaniu szkodliwych czynników środowiskowych, zagadnieniu temu należy poświęcić główną uwagę. Podjęcie tego tematu wynika też z faktu, iż zapoczątkowany proces nowotworowy jest nieodwracalny, a medycyna w większości przypadków jest bezsilna w leczeniu. Dlatego w profilaktyce leży główna możliwość ograniczania zasięgu tej groźnej choroby. W praktyce oznacza to poznanie charakteru i umiejętność wykrywania czynników mutagennych i karcinogennych, nie dopuszczanie do skażenia nimi środowiska naturalnego, opracowanie metod kontroli oraz ustalenie norm, określających dopuszczalne granice zanieczyszczenia wody, powietrza atmosferycznego, gleby, środków spożywczych i pasz.

Wielki postęp w dziedzinie badań podstawowych (zwłaszcza w genetyce), jaki dokonał się w ostatnich kilkudziesięciu latach, pozwala dostrzec jak bardzo złożony jest problem etiopatogenezy chorób nowotworowych. Dokonania

te dotyczą przede wszystkim opracowania i stałego doskonalenia metod analitycznych i bioindykacyjnych, zezwalających na wykrywanie potencjalnych mutagenów i karcinogenów. Zostały już poznane mechanizmy inicjowania procesu nowotworowego na poziomie molekularnym, znaleziono też wiele różnic w zachowaniu się komórki rakowej w porównaniu z innymi normalnymi komórkami. Wreszcie, wykryto pewne możliwości obronne organizmu i poznano działanie ochronne szeregu związków chemicznych, przeciwdziałających procesowi onkogenezy.

Przechodząc do krótkiej charakterystyki czynników rakotwórczych trzeba stwierdzić, że są to przede wszystkim różnorodne zanieczyszczenia chemiczne pochodzenia przemysłowego, powstające w wyniku spalania paliw oraz związki stosowane w rolnictwie i ogrodnictwie. Związki rakotwórcze różnią się między sobą znacznie pod względem siły działania. W wielu przypadkach działanie rakotwórcze jest wynikiem przemian związku wyjściowego w ustroju. Uczestniczą w nim enzymy, zlokalizowane zwłaszcza w wątrobie, a także enzymy mikroflory przewodu pokarmowego. Wiadomo też obecnie, że oprócz karcinogenów sensu stricto, wpływ na wzrost zachorowalności wywierają także związki kokarcinogenne tj. takie, które potęgują przebieg karcinogenezy.

Sytuację pogarsza fakt, że związki rakotwórcze mogą w pewnych warunkach powstawać w środowisku na drodze naturalnej. Odpowiedzialne za to są pewne drobnoustroje, zwłaszcza grzyby toksynotwórcze i niektóre bakterie. Przykładem może być np. wytwarzanie nitrozoamin o silnych właściwościach rakotwórczych. Prekursorami nitrozoamin są liczne związki charakteryzujące się obecnością grupy aminowej, ulegającej nitrozowaniu, a ponadto azotyny, azotany, drugo- i trzeciorzędowe aminy i wiele innych. Znane są też przykłady, w których podczas biodegradacji niektórych substratów, stanowiących zanieczyszczenie wody lub ścieków i nie wykazujących aktywności

mutagennej lub rakotwórczej, powstają produkty końcowe posiadające takie cechy. Stwierdzono to między innymi na fenantrenie i antracenie.

Trzeba tu podkreślić, że procesy te zachodzą w środowisku zdegradowanym, przyrodniczo zmienionym, obciążonym licznymi rodzajami zanieczyszczeń, o zniekształconej i silnie uszkodzonej biocenozie. Nie mniej jednak, powstaje w tych warunkach sytuacja paradoksalna. Postęp biodegradacji zanieczyszczeń upoważnia do stwierdzenia, iż nastąpiło oczyszczenie danego środowiska, a równocześnie pojawił się w nim czynnik o szczególnej szkodliwości.

Stan tła chemicznego środowiska i jego udział w inicjowaniu i stymulowaniu zachorowań byłby niepełny gdyby nie dodać, że zarówno nadmiar pewnych pierwiastków lub związków jak również niedobór innych, stwarza sytuację niebezpieczną dla zdrowia. Gospodarcza działalność człowieka powoduje zachwianie tych proporcji. Znany antagonizm jonowy powoduje, że nadmiar jednego pierwiastka wypiera ze środowiska inne. Nadmiar np. potasu, azotu lub fosforu eliminuje ze środowiska magnez, mangan, żelazo, miedź.

Wieloletnie badania Otto Striebela z Bazylei ale również ośrodka Akademii Medycznej w Krakowie pod kierunkiem prof. J. Aleksandrowicza bardzo silnie podkreślają znaczenie prawidłowego stosunku wapniowo-magnezowego. Niedobór magnezu sprzyja rozrostowi nowotworowemu na drodze różnych mechanizmów, z których dopiero nieliczne dotąd poznano. Dziś już ponad wszelką wątpliwość stwierdzono, że karmiąc szczury rasy Wistar karmą bezmagnezową można doświadczalnie wywołać mięsaki grasicy i białaczki (przeważnie limfatyczne), natomiast rzadziej szpikowe.

Są też liczne doświadczenia o doniosłej roli niektórych pierwiastków w podwyższaniu obronności organizmu, które to zagadnienie jest oddzielnym wielkim i złożonym problemem. I tak na przykład wskazuje się na poważną rolę seleniu, który okazał się nieswoistym czynnikiem ochronnym przed różnymi czynnikami rakotwórczymi.

W sumie można stwierdzić, że profilaktyka chorób współczesnej cywilizacji jest konieczna i że może ona być urzeczywistniona jedynie poprzez taką ochronę środowiska przyrodniczego człowieka, w którym będzie przywrócona i utrzymana równowaga chemiczno-biologiczna.

Przechodząc do bardzo skrótowego przedstawienia momentu inicjacji procesu nowotworowego należy podkreślić, że zostały już dość dobrze poznane mechanizmy, które w nim uczestniczą. Zainicjuje ten proces czynnik rakotwórczy, który wnika do komórki, dociera do DNA i dokonuje głębokich zmian tak, że prawidłowa komórka somatyczna ulega przekształceniu w komórkę przedrakową. Reaguje ona w pełni na bodźce regulacyjne organizmu. Proces inicjacji jest nieodwracalny, lecz tak zmieniona komórka może zachowywać się normal-

nie przez większość życia. Druga faza procesu, tak zwana promocja, jest okresem wielostopniowym i nie w pełni poznany, który doprowadza do jej przekształcenia w autonomiczną komórkę rakową. Nie podlega ona już regulacji ustrojowej, względnie reaguje tylko przejściowo na bardzo silne bodźce regulacyjne. Typowe komórki rakowe cechuje przede wszystkim niekontrolowane rozmnażanie, swoista autonomia i utrata zdolności do różnicowania się.

Należy podkreślić, że proces ten odbywa się na poziomie molekularnym, jest więc niezauważalny i jest też nieodwracalny. Objawy choroby występują znacznie później i z takim też opóźnieniem może się zacząć dopiero leczenie. Fakty te nie wyczerpują oczywiście całokształtu zagadnienia. Uzasadniają one jedynie tezę, że istnieje zależność pomiędzy stopniem skażenia i degradacji środowiska a wzrostem zachorowań na choroby nowotworowe.

Wszystkie elementy środowiska naturalnego są dziś bardzo silnie zanieczyszczone, ale chyba najbardziej drastyczna sytuacja wytworzyła się w ekosystemach wodnych. Użytkowane jako odbiorniki ścieków i wód opadowych służą niejednokrotnie również celom wodociągowym. Tak jest również we Wrocławiu. Woda rzeki Oławy jest jak wiadomo ujmowana przez MPWiK.

Jako przykład można podać wyniki badań dotyczących dwóch grup związków zanieczyszczających rzekę Oławę, a mianowicie: policyklicznych węglowodorów aromatycznych oraz metali ciężkich. Badania te były prowadzone w okresie pięcioletnim na stanowisku usytuowanym na wysokości kompleksu przemysłowego w Siechnicy, w ramach tematu zleconego i koordynowanego przez Komitet Mikrobiologiczny PAN.

Wyniki podane w tabeli 1 i 2 są wartościami najniższymi i najwyższymi, jakie ustalono dla poszczególnych związków w okresie jednego cyklu rocznego.

Biorąc pod uwagę fakt, że w obu badanych grupach znajdują się związki o działaniu mutagennym i rakotwórczym należy stwierdzić, że jakość wody w rzece Oławie ocenianej w aspekcie jej zdrowotności jako surowca pobieranego

Tabela 1
ZAWARTOŚĆ WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH (WWA) W WODZIE POWIERZCHNIOWEJ RZEKI OŁAWY W CYKLU ROCZNYM

Badany węglowódor	Jednostki	Zakres stężeń w cyklu rocznym	Norma Światowej Organizacji Zdrowia
benzo/a/piren	ng/dm ³	12,5— 55,2	5,0
fluoranten	ng/dm ³	206,2—1110,9	—
beunzo/k/fluoranten	ng/dm ³	15,0— 101,2	—
benzo/B/fluoranten	ng/dm ³	30,0— 112,5	—
benzo/g h i/perylen	ng/dm ³	45,0— 139,7	—
indenopiren	ng/dm ³	52,5— 141,2	—
suma WWA	ng/dm ³	368,7—1587,0	200,0

Tabela 2

WYSTĘPOWANIE METALI CIĘŻKICH W WODZIE RZEKI OŁAWY

Metal	Jednostki	Zakres stężeń występujących w rzece Oławie	Średnia	Norma dla wód powierzchniowych		
				I klasy czystości	II klasy czystości	III klasy czystości
ołów	mg/dm ³	0,07 — 0,09	0,045	0,1	0,1	0,1
cynk	mg/dm ³	0,04 — 0,77	0,15	0,01	0,1	0,2
miedź	mg/dm ³	0,06 — 0,15	0,037	0,01	0,1	0,2
nikiel	mg/dm ³	0,01 — 0,11	0,02	1,0	1,0	1,0
żelazo	mg/dm ³	0,11 — 4,25	1,75	1,0	1,5	2,0
mangan	mg/dm ³	0,04 — 0,50	0,19	0,1	0,3	0,8
chrom (całk.)	mg/dm ³	0,005 — 0,03	0,013	Cr ⁺³ 0,5 Cr ⁺⁶ 0,05	0,5	0,5
Suma metali ciężkich	mg/dm ³	—	2,207	1,0	1,0	1,0

na cele wodociągowe, jest niewłaściwa. Problem ten pogarsza fakt braku norm dla określenia bezpiecznych stężeń niektórych związków oraz braku metod, pozwalających na stwierdzenie mutagennej i karcinogennej aktywności zanieczyszczeń występujących w wodzie. Metody te ogólnie zwane bioindykacyjnymi, polegają na obserwacji skutków ingerencji danego związku w strukturę DNA żywej komórki lub innych skutków świadczących o rakotwórczości.

Szereg metod bioindykacyjnych już opracowano i stosuje się je najczęściej do oceny rakotwórczości określonego związku. Można te metody zebrać w trzy oddzielne grupy:

— badania epidemiologiczne populacji narażonych na działanie określonych karcinogenów. Metoda ta pozwala wyciągać statystyczne wnioski na temat zwiększonej zachorowalności na nowotwory ludności na terenach zagrożonych w stosunku do ludności na terenach kontrolnych,

— badania „in vivo” na zwierzętach eksperymentalnych. Są to jak dotychczas najpewniejsze metody wykrywania substancji rakotwórczych polegające na indukcji nowotworów u zwierząt. Wadą metody jest długi okres trwania eksperymentu (od 2—3 lat),

— badania „in vitro”, pozwalające na określenie potencjalnej mutagenności i rakotwórczości badanych związków.

Są to szybkie metody, które można podzielić na:

— metody wykrywające mutacje genowe. Obiektem w tych badaniach są bakterie, mikroorganizmy eukariotyczne i hodowle komórek ssaków,

— metody biochemiczne wykrywające uszkodzenia i reperacje DNA. Badania prowadzone są na bakteriach i komórkach zwierzęcych „in vivo” i „in vitro”,

— metody polegające na wywołaniu transformacji nowotworowej prowadzone na hodowlach tkankowych (zwierzęcych).

Zdecydowanie najwięcej doświadczeń prowadzi się na bakteriach, a następnie potwierdza wyniki na hodowlach tkankowych lub zwierzętach laboratoryjnych.

Bakterie są najprostszym modelem doświadczalnym ze względu na otrzymywanie odpowiedzi w bardzo krótkim — kilkudziesięciogodzinnym — czasie. Najbardziej reprezentatywnym i przez opinię światową uznanym za najlepszy, jest tzw. test Ames'a, przeprowadzany na genetycznie zmienionych bakteriach *Salmonella typhimurium*.

Posługując się tą metodą przeprowadzono badania 70 próbek wody rzeki Oławy. Otrzymane wyniki wskazywały, że około 80% przebadanych prób było dodatnich, co oznacza, że potencjalna aktywność mutagenna i rakotwórcza składników chemicznych wody była wystarczająca aby stan ten był wykrywalny. Test ten dla wody wymaga jeszcze dokładnego przebadania, ale wydaje się, że może być on w niedalekiej przyszłości zaproponowany do kontroli jakości wody ujmowanej i uzdatnionej.

Zasygnalizowany problem wymaga bardzo energicznych działań w zakresie ochrony środowiska i w związku z tym nasuwają się następujące wnioski:

— bezwzględny priorytet w ochronie środowiska powinny mieć wszystkie te działania, które mają na celu likwidację zagrożenia zdrowia ludności, zwłaszcza w zakresie skażeń związkami mutagennymi i rakotwórczymi,

— istnieje konieczność wprowadzenia — w szerokim rozumieniu — monitoringu biologicznego wraz z niezbędnymi metodami bioindykacyjnymi do kontroli jakości wody przeznaczonej do picia,

— szkodliwe dla zdrowia związki chemiczne występujące w wodzie powinny być objęte normami.

LITERATURA

1. B. N. AMES, P. SIMS, P. L. GROVER: Epoxides of carcinogenic Polycyclic hydrocarbons are frame-shift mutagens. *Science*, 201, 47—49, 1978.
2. B. N. AMES, J. J. Mc CANN, E. YAMASAKI: Methods for detecting carcinogenes and mutagenes with the *Salmonella*. *Mutab. Res.* 31, 343—374, 1975.
3. J. BARTACEK: Kancerogeni latky ve vodach. *Sborn. Vysoke Skoly Chem-Technolog.* w Praze F 22, 1978.
4. J. BORNEFF, H. KUNTE: Cancerogenic substances in water and soil. Part XIX. The effect of sewage purification on PAH. *Arch. Hyg. Bakt.* 151, 202—212, 1967.
5. J. W. DOBROWOLSKI: Badania nad środowiskowymi uwarunkowaniami chorób proliferacyjnych ze szczególnym uwzględnieniem białaczek bydła. *Zeszyty Nacz. Wyd. Nauk. Akademii Gór.-Hutn. Kraków* 1981.
6. E. GAŁKIEWICZ, M. SIKORA, J. CHROMI-CZEWSKI, T. GÓRSKI: Wpływ wybranych związków chemicznych na indukcję rewersji histydynowych mutantów szczepów *Salmonella typhimurium*. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 32, 243—251, 1980.

7. J. GROCHMALNICKA-MIKOŁAJCZYK, J. R. OCHOCKA, J. LULEK: Wpływ ozonowania na zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w wodach. *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* 53, 74, 1979.
8. J. Mc CANN, N. E. SPINGARN, J. KOBORI, B. N. AMES: Detection of carcinogens as mutagens: bacterial tester strains with R factor plasmids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 72, 979—983, 1975.
9. F. E. MÜLLER, J. K. REICHERT: Carcinogenic substances in water and soil. Part. XXV Examination through animal test of the carcinogenicity of chlorinated derivatives of BP. *Arch. Hyg. Bakt.* 153, 26—35, 1969.

M. Pawlaczyk-Szpilowa

ESTIMATING WATER CONTAMINATION FROM SOME PATHOGENIC COMPOUNDS BY THE BIOINDICATOR METHOD

The ecological aspects of the incidence of some civilizational ailments are discussed, particular consideration being given to hazardous substances which

persist in tap water. The carcinogenic and mutagenic effect of these substances on the human organism is studied on the example of nitroso amines, polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals. The concentration values measured in the water supplied to the agglomeration of Wrocław are subject to a detailed discussions. The investigations have revealed that the water quality does not meet the health standards.