

Politechnika Gdańska
Wydział Chemiczny
Katedra Chemii Analitycznej

Rozprawa doktorska

**OZNACZANIE WYBRANYCH BIOMARKERÓW NARAŻENIA
NA SKŁADNIKI ŚRODOWISKOWEGO DYMU TYTONIOWEGO
W PRÓBKACH MATERIAŁÓW BIOLOGICZNYCH
POBRANYCH OD CZŁOWIEKA**

mgr inż. Sylwia Narkowicz

Promotor: prof. dr hab. inż. Jacek Namieśnik

Gdańsk 2014

Składam serdeczne podziękowania

Pani dr hab. inż. Zanece Polkowskiej
za cenne rady, poświęcony mi czas i uwagę,
nieocenioną pomoc i wskazówkę na każdym etapie
pracy prowadzenia badań i pisania prac

Panu prof. dr hab. inż. Jackowi Namieśnikowi
za każdą poświęconą chwilę,
wszelkie uwagi i ciągłą motywacją do pracy

Pracownikom, Doktorantom i Dyplomantom
Katedry Chemii Analitycznej
za pomoc, wzajemną życzliwość
i przyjazną atmosferę pracy

Moim Rodzicom i Teściom
za zainteresowanie, podnoszenie
na duchu i wspieranie mnie

Szczególnie dziękuję mojemu Mężowi i Córeczce
Za to, że byliście przy mnie, wspieraliście i
darwaliście siłę, motywację i chęć do pracy

SPIS TREŚCI

Spis skrótów i akronimów	5
WSTĘP	6
I. CZĘŚĆ TEORETYCZNA.....	7
1 Dym tytoniowy	7
1.1 Składniki dymu tytoniowego i ich toksyczność	8
1.2 Rodzaje narażenia na składniki dymu tytoniowego	10
1.3 Skutki narażenia człowieka na składniki dymu tytoniowego.....	10
1.3.1 Skutki narażenia człowieka, kobiet w okresie rozrodczym i okresie ciąży na składniki dymu tytoniowego	11
1.3.2 Skutki narażenia płodu i dziecka na składniki dymu tytoniowego	12
2 Biomonitoring i biomarkery	13
2.1 Wykorzystanie materiałów biologicznych w biomonitoringu substancji toksycznych pochodzących z dymu tytoniowego	14
2.1.1 Charakterystyka materiałów biologicznych pobranych od człowieka, kobiet w ciąży i położnic, płodu i noworodka	14
2.1.2 Rola łożyska w biomonitoringu substancji toksycznych pochodzących z dymu tytoniowego.....	15
2.2 Metabolizm substancji toksycznych obecnych w dymie tytoniowym	23
2.3 Biomarkery narażenia na składniki dymu tytoniowego	26
2.4 Analityka biomarkerów narażenia na składniki dymu tytoniowego w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka	29
2.4.1 Techniki analityczne wykorzystywane w analityce biomarkerów narażenia na składniki dymu tytoniowego	30
2.4.2 Problemy i wyzwania związane z analityką biomarkerów narażenia na składniki dymu tytoniowego.....	32
II CEL PRACY	37
III CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	38
3.1 Charakterystyka dawców próbek biologicznych.....	38

3.2 Odczynniki i aparatura pomiarowa stosowane w trakcie prowadzenia badań.....	40
3.3 Pobieranie, transport i przygotowanie próbek materiałów biologicznych do analizy	42
3.4 Metodyki oznaczania wybranych ksenobiotyków w próbkach materiałów biologicznych	42
3.4.1 Dobór optymalnych warunków prowadzenia badań biomarkerów narażenia na związki obecne w dymie tytoniowym w materiałach biologicznych z wykorzystaniem technik chromatograficznych i spektrofotometrycznych	47
3.4.2 Dobór warunków oraz ocena efektywności ekstrakcji jonów nieorganicznych z próbek łożyska.....	49
3.5 Parametry walidacyjne metodyk analitycznych wykorzystywanych stosowanych do oznaczania wybranych zanieczyszczeń w próbkach materiałów biologicznych pochodzących od człowieka	51
3.6. Zawartość wybranych zanieczyszczeń w próbkach materiałów biologicznych pobranych od aktywnych palaczy, biernych palaczy oraz grupy kontrolnej wraz z analizą statystyczną i chemometryczną zbiorów wyników	54
3.6.1 Wydzielina z jam nosa	56
3.6.2 Mocz.....	64
3.6.3 Ślina.....	71
3.6.4 Pot.....	80
3.6.5 Ślina pobrana od kobiet w ciąży	89
3.6.6 Mleko	94
3.6.7 Łožysko	99
3.6.8 Krew żylna pobrana od kobiet w ciąży	102
3.6.9 Smółka.....	107
3.7 Porównanie oznaczonych zawartości związków chemicznych oraz ocena przydatności poszczególnych materiałów biologicznych wykorzystanych do prowadzenia biomonitoringu ludzkiego (HBM)	111
4 Wnioski i podsumowanie	118

STRESZCZENIE	120
STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM.....	121
LITERATURA	122
DOROBEK NAUKOWY.....	127
ZAŁĄCZNIKI.....	130

Spis skrótów i akronimów

Akronim/ skrót	Rozwinięcie anglojęzyczne	Termin polskojęzyczny
AAS	Atomic Absorption Spectroscopy	Atomowa spektroskopia absorbcyjna
ADHD	Attention Deficit Hyperactivity Disorder	Zespół nadpobudliwości psychoruchowej i deficytu uwagi
ASA	Accelerated solvent extraction	Ekstrakcja przyspieszona za pomocą rozpuszczalnika
CD	Conductometric Detector	Detektor konduktometryczny
CE	Capillary electrophoresis	Elektroforeza kapilarna
CITP	Capillary Isotachopheresis	Izotachoforeza kapilarna
COex	CO Exhaust	CO w wydychanym powietrzu
COHb	Carboxyhemoglobin	Karboxyhemoglobina
CYP	-	Cytochrom P450
DNA	Deoxyribonucleic acid	Kwas deoksyrybonukleinowy
E	-	Kortyzon
ETS	Environmental Tobacco Smoke	Środkowiskowy dym tytoniowy
F	-	Kortyzol
FAD	Flavinadenine Dinucleotide	Dinukleotyd flawinoadeninowy
FD	Fluorescent Detector	Detektor fluorescencyjny
FID	Flame Ionisation Detector	Detektor płomieniowo-jonizacyjny
GC	Gas Chromatography	Chromatografia gazowa
GLC	Gas-Liquid Chromatography	Sprzężona kapilarna chromatografia gazowa z chromatografią cieczową
GST	Glutathione S-transferase	Transferaza s-glutationowa
HBM	Human Biomonitoring	Biomonitoring ludzki
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography	Wysokosprawna chromatografia cieczowa
11 β -HSD	11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase	Enzym dehydrogenazy 11 β -hydroksysteroidowej
IC	Ion Chromtography	Chromatografia jonowa
IR	Infrared	Podczerwień
LLE	Liquid-liquid extraction	Eestrakcja ciecz-ciecz
LOD	Limit of detection	Granica wykrywalności
LOQ	Limit of Quantification	Granica oznaczalności
LTM	Long-time monitoring	Monitoring długoterminowy
MDL	Method Detection Limit	Granica wykrywalności metodyki
MLQ	Method Quantitation Limit	Granica oznaczalności metodyki
MPO	Myeloperoxidase	Mieloperoksydaza
MS	Mass Spectrometer	Spektrometr mas

NNN	N_-Nitrosornicotine	N'-nitrozonornikotyna
NNK	4-(N-Nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone	4-(metylonitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanon
NAT	-	N'-nitrozoanatabina
NAB	-	N'-nitrozoanabazyna
NDS	-	Najwyższe dopuszczalne stężenie
NDSCh	-	Najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe
NPD	Nitrogen Phosphorus Detector	Detektor azotowo-fosforowy
NQO1	Quinone oxireductase	Oksyreduktaza chinonowa
POChP	Chronic obturative pulmonary disease	Przewlekła obturacyjna choroba płuc
R	Recovery	Powtarzalność
RIA	Radioimmunoassay	Radioimmunoanaliza
RSD	Relative Standard Deviation	Względne odchylenie standardowe
RTM	Real-time monitoring	Monitoring w czasie rzeczywistym
SIDS	Sudden infant death syndrome	Zespół nagłej śmierci łóżeczkowej
SPE	Solid-Phase Extraction	Ekstrakcja do fazy stałej
THE		Tetrahydrokortyzon
THF		Tetrahydrokortyzol
UDP	Uridine 5'-diphosphoglucuronosyltransferase	Urydino-5'-difosfo-glukuronylotransferaza
UGT	Glucuronosyltransferase	Glukuronylotransferaza
UV	Ultra-Violet	Ultrafiolet
WWA	Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)	Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne

WSTĘP

Palenie tytoniu jest jednym z najpoważniejszych współczesnych zagrożeń cywilizacyjnych, co wynika zarówno z rozpowszechnienia tego zjawiska, jak i strat ponoszonych przez społeczeństwo. Nałóg palenia pociąga za sobą ogromne koszty, które są związane między innymi z opieką medyczną nad osobami cierpiącymi z powodu chorób odtytoniowych. Oprócz tego, na straty ekonomiczne państwa, borykającego się z nałogiem palenia tytoniu wśród mieszkańców, nakładają się straty, które wynikają z kosztów zatrudnienia pracowników uzależnionych od tytoniu, takie jak

- zwiększona liczba dni niezdolności do pracy;
- zmniejszona produktywność;
- zwiększony koszt ubezpieczenia;
- koszty utrzymywania palarni.

Osoby palące w skali roku znacznie częściej udają się na zwolnienie chorobowe. Wzrost ten jest rzędu 30% w stosunku do członków populacji, w której nałóg palenia tytoniu nie występuje. Innym z kosztownych następstw palenia papierosów są pożary. Około 10% wszystkich ofiar ognia zginęło w pożarach spowodowanych palącym się papierosem [1].

W walce z nałogiem palenia tytoniu ważne są:

- monitorowanie;
- regularne badania;
- oraz informowanie.

Wyniki systematycznych analiz ekonomicznych i zdrowotnych mogą być źródłem solidnych dowodów przeciwko nałogowi, jakim jest palenie tytoniu. Zagrożenia, które wynikają z narażenia człowieka na działanie szkodliwych związków zawartych w dymie tytoniowym, są przyczyną dynamicznego rozwoju nowych procedur analitycznych. Techniki te są wykorzystywane do oznaczania szerokiego spektrum ksenobiotyków zarówno w samym dymie tytoniowym jak i w próbkach różnego typu materiałów biologicznych pobranych od osób palących, jak i od osób narażonych na działanie środowiskowego dymu tytoniowego.

Obecnie na świecie żyje około miliarda osób palących wyroby tytoniowe, z czego ponad 20% stanowią kobiety [2]. Z wyników badań przeprowadzonych przez Instytut Matki i Dziecka można wysnuć wnioski, że odsetek kobiet które aktywnie palą tytoń w trakcie trwania ciąży wynosi od 25-30%, natomiast ponad 60% kobiet niepalących podlega biernej ekspozycji na środowiskowy dym tytoniowy w domu bądź w miejscu pracy [3].

W związku z zagrożeniem wynikającym z palenia tytoniu przez człowieka, w tym przez kobiety w okresie ciąży konieczne jest prowadzenie badań umożliwiających ocenę wielkości narażenia organizmu człowieka na składniki dymu tytoniowego. Wyniki analizy materiałów biologicznych pobranych od człowieka są ważnym źródłem informacji na temat zawartości toksycznych substancji w dymie tytoniowym, dlatego konieczne jest podejmowanie próby wykorzystywania coraz szerszego spektrum materiałów do badań, w celu jak najlepszego oszacowania zagrożenia wynikającego z narażenia na składniki dymu tytoniowego.

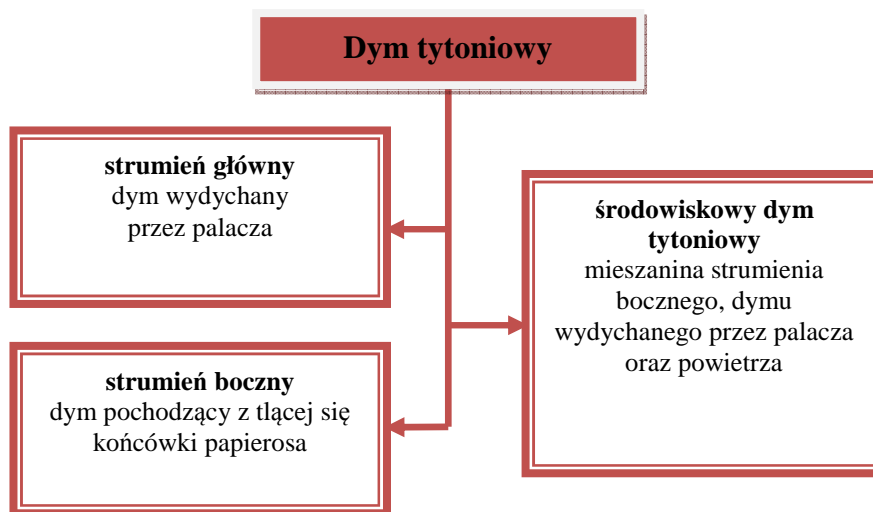
I. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

1 Dym tytoniowy

Dym tytoniowy jest dynamiczną mieszaniną dwóch faz: fazy stałej oraz fazy gazowej [4,5]. W roku 1959 znanych było około 400 związków będących składnikami liści tytoniu oraz wchodzących w skład dymu tytoniowego. Dzisiaj znanych jest ponad 4000 związków chemicznych obecnych w dymie tytoniowym [6], a w wynikach najnowszych badań szacunkowych podana jest już liczba 5600 substancji chemicznych [5,7,8].

W dymie tytoniowym, który powstaje w trakcie palenia papierosa, wyróżnia się dwa rodzaje strumienia: strumień główny oraz strumień poboczny [9-11]. Dym tytoniowy miesza

się z powietrzem, skutkiem czego jest powstanie mieszaniny zwanej środowiskowym dymem tytoniowym. Na Rysunku 1 przedstawiono w sposób schematyczny informacje o poszczególnych strumieniach dymu tytoniowego.



Rysunek 1 Informacje o poszczególnych typach strumieni dymu tytoniowego

1.1 Składniki dymu tytoniowego i ich toksyczność

Większość związków chemicznych obecnych w dymie tytoniowym można przypisać do kilku głównych grup chemicznych. W Tabeli 1 zebrano informacje dotyczące ilości związków chemicznych znajdujących się w dymie tytoniowym przynależących do poszczególnych grup chemicznych [12,13].

Tabela 1 Informacje dotyczące ilości związków chemicznych pochodzących z dymu tytoniowego należących do poszczególnych grup chemicznych

Grupa związków	Liczba związków obecnych w dymie tytoniowym (z danej grupy związków chemicznych)
Amidy, imidy, laktamy	237
Kwasy karboksylowe	227
Aldehydy	108
Ketony	521
Alkohole	379
Fenole	282
Aminy	196
Węglowodory	705
Etery	311
Związki nieorganiczne	50

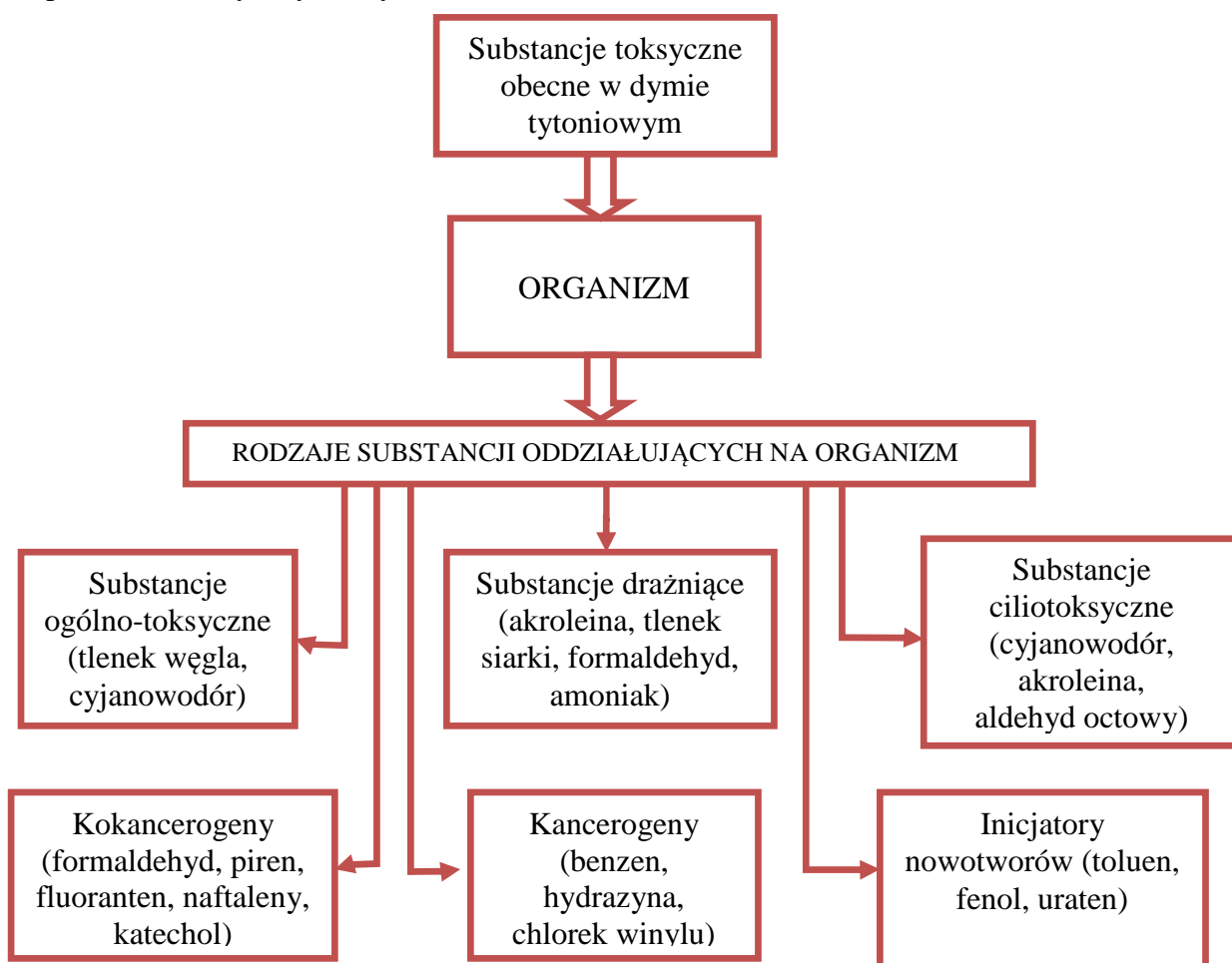
W dymie tytoniowym znajduje się 158 substancji chemicznych określanych mianem „substancji toksycznych dymu tytoniowego”[5,14]. Aż 80 związków chemicznych ma działanie kancerogenne [15].

W roku 2008 eksperci Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) sporządzili listę priorytetowych związków toksycznych pochodzących z dymu tytoniowego. Lista została opublikowana, jako załącznik do Ramowej Konwencji w Sprawie Kontroli Wyrobów Tytoniowych (Tabela 2) [8,16,17].

Tabela 2 Lista priorytetowych związków toksycznych pochodzących z dymu tytoniowego sporządzona przez Światową Organizację Zdrowia

Związki toksyczne pochodzące z dymu tytoniowego		
Aldehyd octowy	4-aminobifenyl	Benzo(a)piren
Akrolein	2-aminonaftalen	1,3-butadien
Akrylonitryl	Benzen	Kadm
Tlenek węgla	Katechol	Krotonaldehyd
Formaldehyd	Cyjanowodór	Hydrochinon
Tlenki azotu	NNK	NN

Substancje toksyczne obecne w dymie tytoniowym można podzielić ze względu na sposób ich oddziaływania na organizm człowieka. Informacje o sposobach oddziaływania substancji toksycznych na organizm wraz z przykładami tych substancji przedstawiono w sposób schematyczny na Rysunku 2 [18,19].



Rysunek 2 Informacje o sposobach oddziaływania substancji toksycznych na organizm wraz z przykładami tych substancji

1.2 Rodzaje narażenia na składniki dymu tytoniowego

Intensywność ekspozycji na toksyczne składniki dymu tytoniowego jest zależna od takich czynników jak [20]:

- liczba osób palących tytoń przebywających w danych pomieszczeniach;
- ilość wypalanych papierosów;
- wielkość pomieszczenia;
- wentylacja pomieszczenia;
- czasu ekspozycji.

Człowiek może być narażony na składniki dymu tytoniowego w wyniku aktywnego palenia wyrobów tytoniowych, bądź poprzez bierną ekspozycję.

Aktywni palacze wchłaniają dym wraz z wdychanym powietrzem w trakcie zaciągania się, w niewielkim stopniu jest on również absorbowany w ślinie. Wchłanianie składników fazy gazowej i fazy parowej dymu przez płuca jest procesem zachodzącym szybko i z dużą wydajnością. Substancje lotne dobrze rozpuszczalne w wodzie, takie jak amoniak, formaldehyd czy chlorowódz wchłaniają się w całości w górnych drogach oddechowych, przede wszystkim przez oddychanie nosowe. Słabo rozpuszczalne składniki dymu, m.in. tlenek węgla, tlenki azotu i benzen, trafiają prawie w całości do pęcherzyków płucnych. Tam substancje dymu tytoniowego osiągają stan równowagi między powietrzem a krwią przepływającą przez naczynia włosowate [21].

Termin „bierne palenie” jest wykorzystywany do określenia procesu mimowolnego wdychania dymu tytoniowego obecnego w środowisku, który powstaje w wyniku tlenia się papierosa (rozcieńczony strumień boczny-57-85%) oraz wydychanego przez osobę palącą (rozcieńczony strumień główny-15-43%) [22]. W tej grupie osób narażonych na szkodliwe działanie dymu tytoniowego należy wyróżnić dzieci, ze względu na to, że są one szczególnie wrażliwe na toksyczne działanie związków chemicznych. Dzieje się tak między innymi za sprawą mniej rozwiniętego układu odpornościowego. Poza tym, dzieci mają szybszy oddech, co sprawia, że narażone są na większą dawkę substancji toksycznych w przeliczeniu na masę ciała w porównaniu z dorosłymi[21]. Z wyników badań epidemiologicznych wynika, że na wdychanie dymu tytoniowego może być narażonych od 39 aż do 71% dzieci [23].

1.3 Skutki narażenia człowieka na składniki dymu tytoniowego

Palenie tytoniu jest jednym z najczęściej obserwowanych zachowań wpływających negatywnie na zdrowie człowieka. Uzależnienie to jest przyczyną zgonów przedwczesnych,

czyli następujących przed przekroczeniem 65-tego roku życia. Wśród grupy aktywnych palaczy wyodrębnić należy kobiety w ciąży. Jest to szczególna grupa, ze względu na fakt, iż paląca kobieta naraża na szkodliwe działanie związków toksycznych nie tylko siebie, ale i swoje potomstwo [21,24].

1.3.1 Skutki narażenia człowieka, kobiet w okresie rozrodczym i okresie ciąży na składniki dymu tytoniowego

Palenie tytoniu skutkuje narażeniem na szkodliwe działanie związków toksycznych obecnych w dymie tytoniowych najważniejszych układów w organizmie człowieka: układu sercowo-naczyniowego, oraz układu oddechowego. Choroby wywoływane przez związki pochodzące z dymu tytoniowego można podzielić na dwa rodzaje, są to [25-28]:

- choroby nowotworowe, do których zalicza się między innymi: raka jamy ustnej, krtani, gardła i przełyku, raka pęcherze moczowego i nerek, raka trzustki, raka jelita, raka szyjki macicy;
- choroby nienowotworowe, do których zalicza się: zawał mięśnia sercowego, zakrzepowo-zarostowe zapalenie tętnic, przewlekłą obturacyjną chorobę płuc, nowotwór macicy.

Wyniki przeprowadzonych badań pozwalają na stwierdzenie, że od 47 do 72 % kobiet aktywnie palących wyroby tytoniowe, należących do różnych grup wiekowych, cierpi na bolesne miesiączkowanie . Jest to powszechny problem wśród aktywnych palaczek w wieku rozrodczym [29]. Oprócz zaburzeń miesiączkowania, zarówno aktywne jak i bierne palenie tytoniu może niekorzystnie wpływać na płodność. Związki chemiczne obecne w dymie tytoniowym mogą być odpowiedzialne za osłabienie żeńskiej i męskiej płodności [30].

Palenie papierosów ma wpływ nie tylko na organizm kobiety, może wywierać także niekorzystny wpływ na przebieg samej ciąży. Ten negatywny wpływ jest widoczny już w bardzo wczesnych etapach ciąży, jeszcze przed zagnieżdżeniem zapłodnionej komórki jajowej. Ponadto podwyższone jest ryzyko poronienia oraz wystąpienia ciąży pozamacicznej [31].

Dym tytoniowy zawiera substancje toksyczne, które są łatwo rozpuszczalne w wodzie, a więc są w stanie przenikać przez barierę łożyskową. Składniki dymu tytoniowego mogą doprowadzić do morfologicznego uszkodzenia łożyska oraz do jego martwicy [31]. Związki takie jak nikotyna i tlenek węgla bardzo szybko pokonują barierę łożyskową, ich stężenie w tkankach płodu jest przez to wyższe niż w tkankach matki [32].

1.3.2 Skutki narażenia płodu i dziecka na składniki dymu tytoniowego

Ciąża oraz wczesne dzieciństwo są to okresy w czasie których dzieci powinny być najbardziej chronione przed działaniem dymu tytoniowego, ponieważ wtedy są najbardziej podatne na jego działanie, szczególnie jeżeli chodzi o rozwój mózgu dziecka i jego układ nerwowy. Prenatalne narażenie na składniki dymu tytoniowego ma większy wpływ na zdrowie dzieci we wczesnych latach, niż narażenie postnatalne. W zależności od okresu w którym dziecko narażone jest na szkodliwe działanie składników ETS, różne struktury mogą ulec uszkodzeniu i zaburzeniom w rozwoju [33,34]. Dym tytoniowy zawiera wiele związków toksycznych o niskiej masie cząsteczkowej oraz dobrej rozpuszczalności w wodzie, co powoduje, że bez trudu przenikają przez łożysko [35].

Efekty narażenia na działanie substancji toksycznych pochodzących z dymu tytoniowego w trakcie ciąży obejmują również te skutki, które występują u noworodka, oraz u dziecka w późniejszych latach jego życia [36]. Młodsze dzieci są najbardziej narażone na szkodliwe działanie składników środowiskowego dymu tytoniowego. Co więcej, efekt ekspozycji jest silniejszy, jeśli osoba aktywnie paląca jest matką dziecka. Wynika to z faktu spędzania przez dziecko większości czasu właśnie z matką [37]. Ludzie, którzy są biernymi palaczami już w wieku dziecięcym, mogą w wieku dorosłym uzależnić się od aktywnego palenia tytoniu [32,33]

Składniki środowiskowego dymu tytoniowego są głównym czynnikiem odpowiedzialnym za wzrost zachorowań i przypadków zgonów wśród dzieci [38]. Zauważono również, że dzieci, których chociaż jedno z rodziców pali, częściej zapadają na choroby układu oddechowego oraz mają zmniejszoną objętość płuc w stosunku do rówieśników, których rodzice nie palą. Zwiększeniu ulega również ryzyko wystąpienia w przyszłości raka płuc [40].

Narażenie kobiet w ciąży na działanie składników obecnych w ETS może wywołać zaburzenia neurorozwojowe u dzieci. Są one uznawane za efekt zmian w mózgu dziecka, wywołanych na skutek niedotlenienia płodu. Związkiem odpowiedzialnym za to jest tlenek węgla obecny w dymie tytoniowym [41]. Innym skutkiem aktywnego palenia bądź biernego narażenia na składniki toksyczne pochodzące z dymu tytoniowego przez kobietę w ciąży jest zmniejszona masa urodzeniowa płodu. Efekt ten jest mniejszy w przypadku narażenia tylko w pierwszym trymestrze ciąży, i nasila się w miarę postępu ciąży. Najsilniejszy jest w trzecim trymestrze [41]. Do efektów widocznych w fazie postnatalnej zaliczyć także można: nadpobudliwość, zmniejszoną koncentrację, słabą reakcję na bodźce słuchowe u dzieci w pierwszym tygodniu życia, niższą inteligencję w wieku przedszkolnym [41].

Informacje dotyczące skutków narażenia na działanie szkodliwych substancji obecnych w dymie tytoniowym kobiet w wieku rozrodczym, kobiet w ciąży oraz ich potomstwa zebrano w Tabeli 3.

Tabela 3 Informacje dotyczące skutków narażenia na działanie szkodliwych substancji obecnych w dymie tytoniowym kobiet w wieku rozrodczym, kobiet w ciąży oraz ich potomstwa

Grupa narażona na działanie szkodliwych związków obecnych w dymie tytoniowym	Skutki narażenia na związki obecne w dymie tytoniowym
Kobiety w wieku reprodukcyjnym	-zaburzenia miesiączkowania -zaburzenia płodności
Kobiety w ciąży	-samoistne poronienia -przedterminowy poród -patologie łożyska -łożysko przodujące -przedwczesne pęknięcie błon płodowych -zwiększona podatność na infekcje pochwy
Płód	-nieodżywienia płodu, wskutek zmniejszonej ilości dostarczanego tlenu (mniej do 25 %). -niższa masa urodzeniowa płodu (nawet o 150-300 g) -podwyższone ciśnienie krwi -zmiany w metabolizmie białek -opóźnienie w rozwoju płuc
Noworodek i dziecko w późniejszym okresie życia	-zakłócenie proporcji pomiędzy masą ciała a wzrostem dziecka -SIDS -ADHD -zaburzenia koncentracji -zwiększone ryzyko palenia tytoniu w wieku dorosłym -słabszy odruch ssania -zwiększone ryzyko raka -trudności w uczeniu się -świszczący oddech -choroby układu oddechowego (astma oskrzelowa, zapalenie oskrzeli, zapalenie płuc)

2 Biomonitoring i biomarkery

Termin biomonitoring ludzki (HBM) jest wykorzystywany do określenia zespołu działań mających na celu ochronę zdrowia i życia człowieka. Służy do oceny narażenia człowieka na związki toksyczne obecne w środowisku, w tym na składniki dymu tytoniowego. Wykorzystywanie tego narzędzia zapewnia możliwość uzyskiwania informacji o poziomach zawartości tych substancji [42].

2.1 Wykorzystanie materiałów biologicznych w biomonitoringu substancji toksycznych pochodzących z dymu tytoniowego

Termin „materiał biologiczny” obejmuje próbki płynów ustrojowych, takich jak: ślina, mocz, sperma, pot, krew, płyn mózgowo-rdzeniowy, płyn owodniowy, żółć, limfa; oraz tkanek stałych, takich jak: paznokcie, łożysko, włosy i wątroba. W literaturze pojawia się coraz więcej informacji na temat nowych metodyk analitycznych opracowanych do badania płynów i materiałów biologicznych, zakresów stężeń dla szerokiego spektrum analitów oraz oceny wpływu narażenia środowiskowego na związki chemiczne wykrywane i oznaczane ilościowo w próbkach materiałów biologicznych w wyniku zastosowania odpowiednich procedur analitycznych [35].

2.1.1 Charakterystyka materiałów biologicznych pobranych od człowieka, kobiet w ciąży i położnic, płodu i noworodka

Ostatnio powszechnie stosowanym podejściem w ocenie narażenia człowieka na substancje toksyczne jest wykorzystywanie materiałów pobranych od kobiet ciężarnych oraz położnic, a także ich potomstwa [43,44]. Substancje toksyczne, na które narażona jest kobieta w trakcie ciąży mają negatywny wpływ również na rozwijający się płód. Na Rysunku 3 w sposób schematyczny przedstawiono drogi przenikania substancji toksycznych od matki do płodu. Substancje toksyczne, które są wchłaniane do organizmu mogą po nim krążyć wraz z płynami ustrojowymi, ulegać akumulacji w tkankach, bądź zostać wydalone jako polarne metabolity lub też w formie niezmienionej.

Próbki materiałów biologicznych mogą być pobierane na dwa sposoby: inwazyjny, który wymaga ingerencji w organizm człowieka (jak krew, płyn owodniowy) lub nieinwazyjny (jak mocz, ślina) [45]. Materiały biologiczne stanowią trudny materiał do badań, ze względu na złożoną budowę i możliwości występowania interferencji [45-50].

Wybór materiału biologicznego oraz substancji toksycznej do badań jest determinowany przez takie czynniki jak:

- ilość ksenobiotyku- związek powinien występować w ilości umożliwiającej jego oznaczenie za pomocą dostępnych technik analitycznych;
- dostępność materiałów biologicznych-materiały biologiczne powinny być dostępne i łatwe do pobrania i przechowywania do czasu analizy;
- właściwości fizyczne substancji;
- właściwości chemiczne substancji;
- drogi wchłaniania substancji;

- przemiany metaboliczne, którym podlegają substancje w organizmie człowieka;

Czynniki te w istotny sposób wpływają na szybkość absorpcji oraz rozprzestrzeniania się substancji po organizmie [43,44].

Na Rysunku 4 przedstawiono informacje o materiałach biologicznych pobranych od człowieka, kobiet ciężarnych, położnic oraz ich potomstwa [43,44,51]. W Tabeli 4 zestawiono podstawowe informacje o tych materiałach biologicznych, które są wykorzystywane jako materiał do badań analitycznych w celu oznaczenia biomarkerów narażenia na składniki dymu tytoniowego.

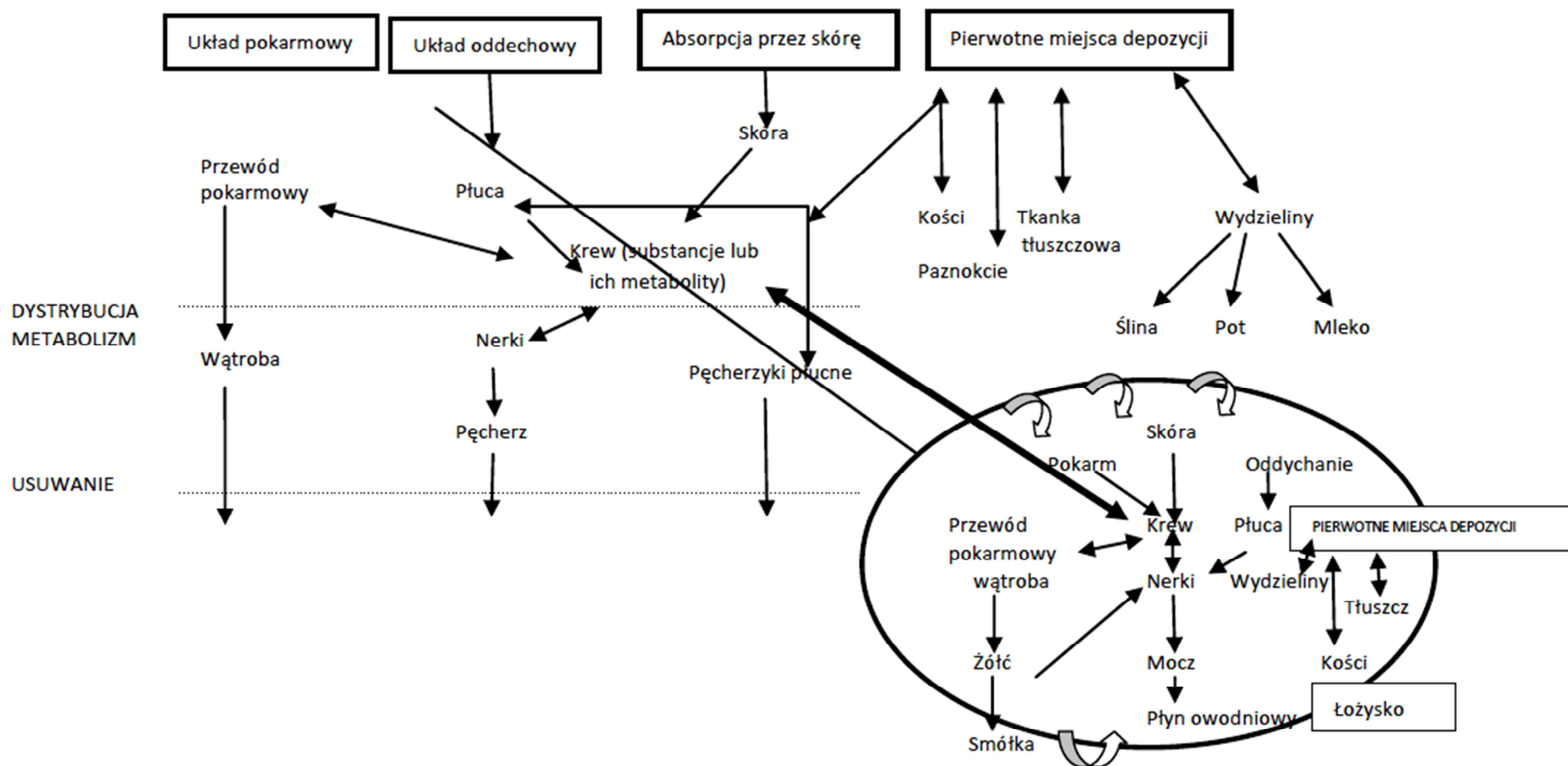
2.1.2 Rola łożyska w biomonitoringu substancji toksycznych pochodzących z dymu tytoniowego

W biomonitoringu substancji toksycznych przenikających od matki do płodu kluczową rolę odgrywa łożysko ludzkie. Dzieje się to za sprawą funkcji, które pełni ten organ, jego budowy oraz procesów w nim zachodzących. Łožysko jest narządem, który łączy ze sobą dwa oddzielne organizmy: matkę, oraz rozwijający się płód [52]. Narząd ten pełni takie funkcje jak:

- transport substancji odżywczych od matki do płodu;
- transport i wydalanie produktów przemiany materii;
- wytwarzanie hormonów;
- zapewnienie odrębności układu krążenia matki i płodu (krew matki nie miesza się z krwią płodu)

Można wyróżnić kilka mechanizmów, które są odpowiedzialne za proces transportu przez łożysko substancji toksycznych wchłanianych przez matkę. Większość tych związków dyfunduje przez łożysko w sposób bierny, bez użycia energii, zgodnie z prawem Ficka. Szybkość tego transportu uzależniona jest od [52,53]:

- gradientu stężenia ksenobiotyków pomiędzy układem krwionośnym matki i dziecka;
- powierzchni błony;
- grubości błony;
- przepływu krwi przez łożysko;
- pH krwi matki oraz płodu;
- właściwości fizyko-chemicznych charakteryzujących poszczególne związki chemiczne;
- stanu zdrowia matki i dziecka;
- szybkości metabolizmu ksenobiotyków.



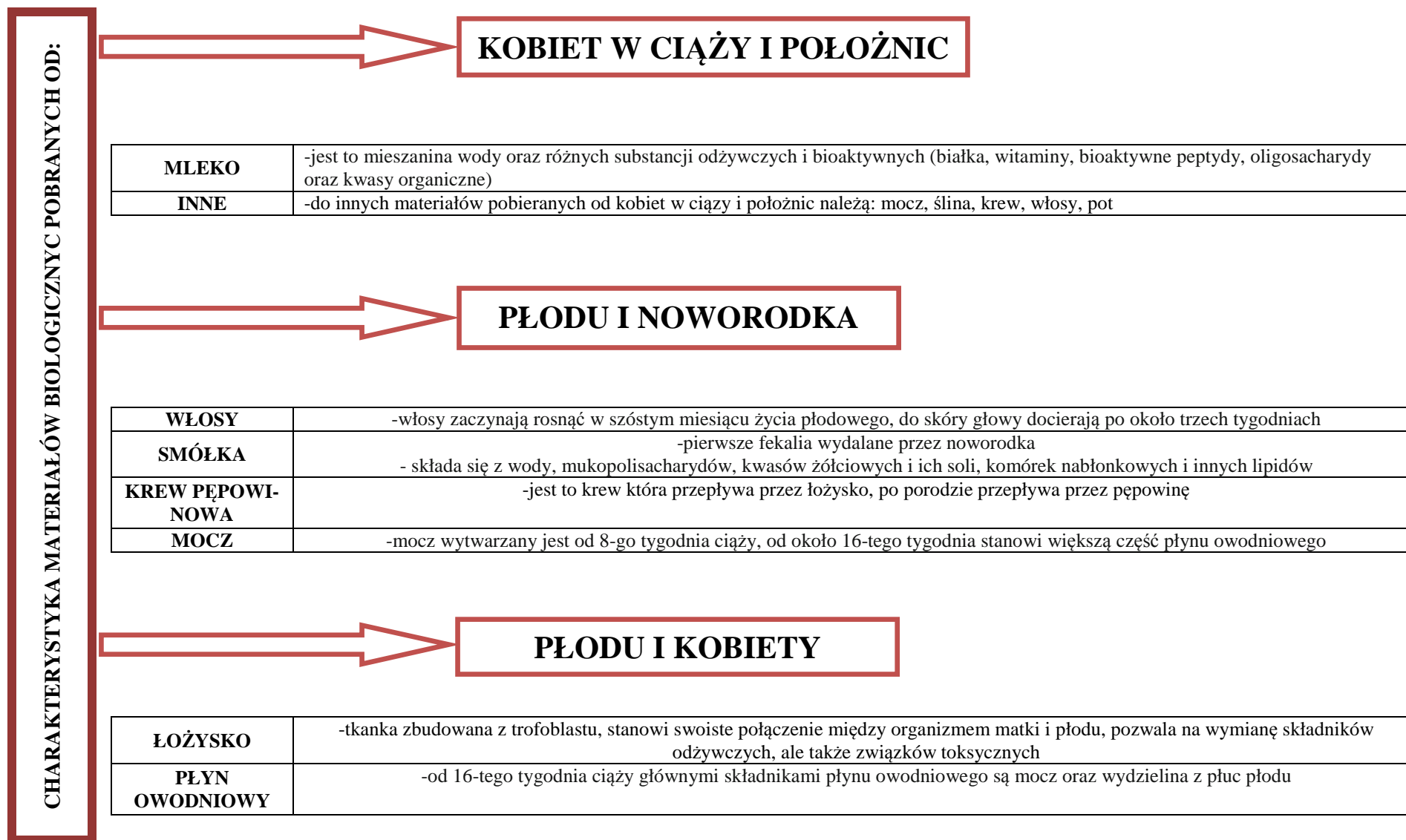
Rysunek 3 Schematyczne przedstawienie dróg przenikania ksenobiotyków od matki do płodu



CZŁOWIEKA

MOCZ	-płyn biologiczny najczęściej wykorzystywany w badaniach: prosta procedura pobierania próbki, duża objętość próbki -analiza moczu dostarcza wielu informacji na temat stanu zdrowia człowieka, funkcjonowania organizmu oraz narażenia na szkodliwe substancje obecne w środowisku -próbkę moczu uzyskać można w sposób nieinwazyjny, a wyniki oznaczania związków obecnych w moczu odzwierciedlają różnicę między aktywnymi palaczami a osobami niepalącymi -aby uzyskać najlepszą korelację między ekspozycją a wydalaniem substancji i ich metabolitów z organizmu stosuje się korektę diurezy, czyli przeliczanie wyników na względną gęstość moczu, bądź na gram kreatyniny
KREW	-wraz z limfą, płynem międzykomórkowym oraz płynem mózgowo-rdzeniowym tworzą środowisko wewnętrzne ustroju -jest materiałem rzadko wykorzystywanym w badaniach, co spowodowane jest inwazyjnym procesem pobierania próbki oraz trudnościami w uzyskaniu zgody na prowadzenie badań -dostarcza niezbędne substancje odżywcze oraz tlen do komórek, zapewnia także transport metabolitów
ŚLINA	-wydzielana jest przez gruczoły ślinowe zwane śliniankami -ślina jest płynem łatwo dostępnym do badań, zwykle pobiera się ok. 6-8 ml próbki -ze śliną wydalane są z organizmu liczne substancje organiczne oraz nieorganiczne.
POT	-wytwarzany jest przez gruczoły potowe leżące w głębi skóry właściwej, zwinięte na końcu w kształcie kłęбка, które występują zarówno na owłosionej jak i nieowłosionej części skóry, brak ich jedynie na wargach sromowych oraz na napletku i części prącia -wydzielanie potu odbywa się stale i ma duże znaczenie dla utrzymania stałej temperatury ciała
ŻÓŁĆ	-wytwarzana jest w wątrobie, dobową objętość wynosi 1,5 litra, jest płynem ciągnącym się, barwy żółtobrunatnej lub zielonkawej o charakterze słabo zasadowym, wraz z żółcią z organizmu wydalane są szkodliwe związki, które ulegają biotransformacji w wątrobie
SPERMA	-20% płynnej części nasienia wydzielane jest przez gruczoł krokowy -plazma nasienia chroni męskie komórki rozrodcze przed zakażeniem oraz hamuje odpowiedź immunologiczną przeciwko plemnikom w męskim narządzie rozrodczym
WŁOSY	-jeden z najbardziej cenionych materiałów stosowanych do oceny narażenia na działanie substancji toksycznych -substancje toksyczne gromadzą się we włosach w trakcie wzrostu, dlatego są w nich długotrwale skumulowane

Rysunek 4 Charakterystyka materiałów biologicznych pobieranych od człowieka, kobiet ciężarnych i położnic, płodu i noworodka



Rysunek 4 Charakterystyka materiałów biologicznych pobieranych od człowieka, kobiet ciężarnych i położnic, płodu i noworodka

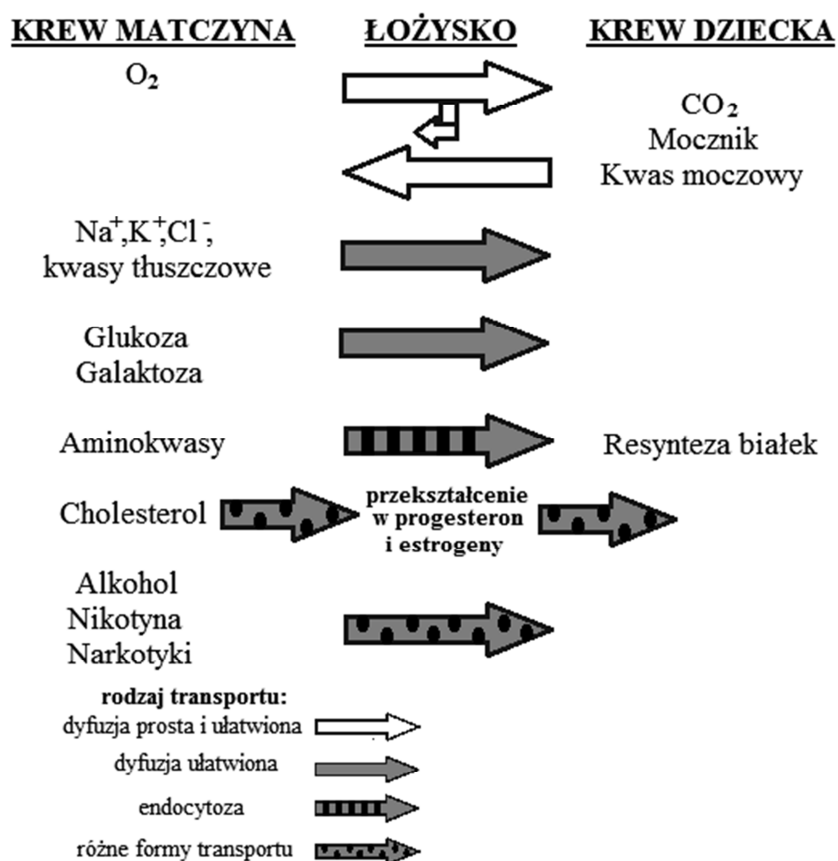
Tabela 4 Ocena przydatności materiałów biologicznych w analityce związków toksycznych

Materiał	Rodzaj próbki	Sposób pobierania próbki	Wielkość pobranej próbki	Okno detekcji	Zalety	Wady	Literatura
Krew	ciekły	inwazyjny	mała	kilka godzin	jest płynem, który ma kontakt z całym organizmem, odzwierciedla więc narażenie wszystkich organów	trudna do pobrania, odzwierciedla jedynie narażenie ostatnich kilku godzin	[51]
Krew pępowinowa	ciekły	inwazyjny (po porodzie nieinwazyjny i prosty)	mała	od kilku godzin do kilku dni w zależności od substancji	analiza krwi pępowinowej pozwala na ocenę zarówno narażenia na aktywne palenie matki w trakcie ciąży, ale również narażenia na bierne palenie matki	pobieranie przed porodem może być niebezpieczne dla płodu	[44]
Płyn owodniowy	ciekły	inwazyjny i trudny	mała	dni a nawet miesiące	analiza tego płynu odzwierciedla narażenie na substancje toksyczne w każdym momencie trwania ciąży	materiał bardzo trudny do pobrania ze względu na ryzyko poronienia	[43,44]
Smółka	pół-stały	nieinwazyjny i prosty	duża	ostatni okres ciąży	analiza smółki pozwala na ocenę narażenia na substancje toksyczne w ostatnim okresie ciąży	niekiedy pobieranie smółki może trwać nawet kilka dni, w zależności od noworodka	[51]
Łożysko	pół-stały	nieinwazyjny	duża	od kilku godzin do kilku dni	odzwierciedla jednoczesne narażenie płodu i matki	materiał o bardzo złożonej matrycy	[51]
Mocz	ciekły	nieinwazyjny i prosty	duża	kilka dni	analiza tego płynu jest prosta, szybka i stosunkowo tania	krótki czas narażenia jaki jest odzwierciedlany przez analizę tego materiału	[51]

Tabela 4 cd.

Mleko	ciekły	nieinwazyjny	mała bądź duża (w zależności od okresu pobierania)	kilka godzin	analiza odzwierciedla narażenie matki oraz płodu	Dostępne tylko lub w bardzo wczesnym etapie porodu, w okresie późniejszym jedynie od kobiet karmiących piersią	[51]
Ślina	ciekły	nieinwazyjny	duża	od godziny do kilku dni w zależności od substancji	materiał prosty do zebrania, analiza szybka i stosunkowo tania	skład śliny może ulegać zmianom w zależności od rodzaju stymulacji ślinianek	[51]
Pot	ciekły	nieinwazyjny	duża	kilka dni	prosty do pobrania	W zależności od warunków pobieranie próbki może trwać bardzo długo	[43,44]
Włosy	stały	prosty i nieinwazyjny	duża	miesiące a nawet lata	stabilna matryca, niskie koszty analizy, proste pobieranie próbki oraz transport	przed analizą tego materiału wymagane jest trawienie enzymatyczne lub rozpylanie	[51]

Innym mechanizmem transportu ksenobiotyków przez łożysko jest transport ułatwiony. Dyfuzja jest w tym przypadku ułatwiona poprzez nośnik, który działa zgodnie z gradientem stężeń i nie wymaga nakładów energetycznych. Niewiele związków transportowanych jest w ten sposób. Kolejnym mechanizmem jest transport aktywny, który odbywa się wbrew gradientowi stężeń i z wykorzystaniem energii. Ten rodzaj transportu również wymaga użycia nośnika. W sumie, w łożysku ludzkim wykryto 20 różnych białek transportowych. Ostatnim rodzajem transportu jest pinocytoza lub fagocytoza, w którym substancja jest zamykana w błonie komórkowej i zostaje przeniesiona na jej drugą stronę. Jest to droga najmniej istotna w przypadku ksenobiotyków, ponieważ jest to transport bardzo wolny [52,53]. Na Rysunku 5 przedstawiono informacje o różnych substancjach podlegających transportowi i procesach transportu tych substancji przez tkankę łożyska.

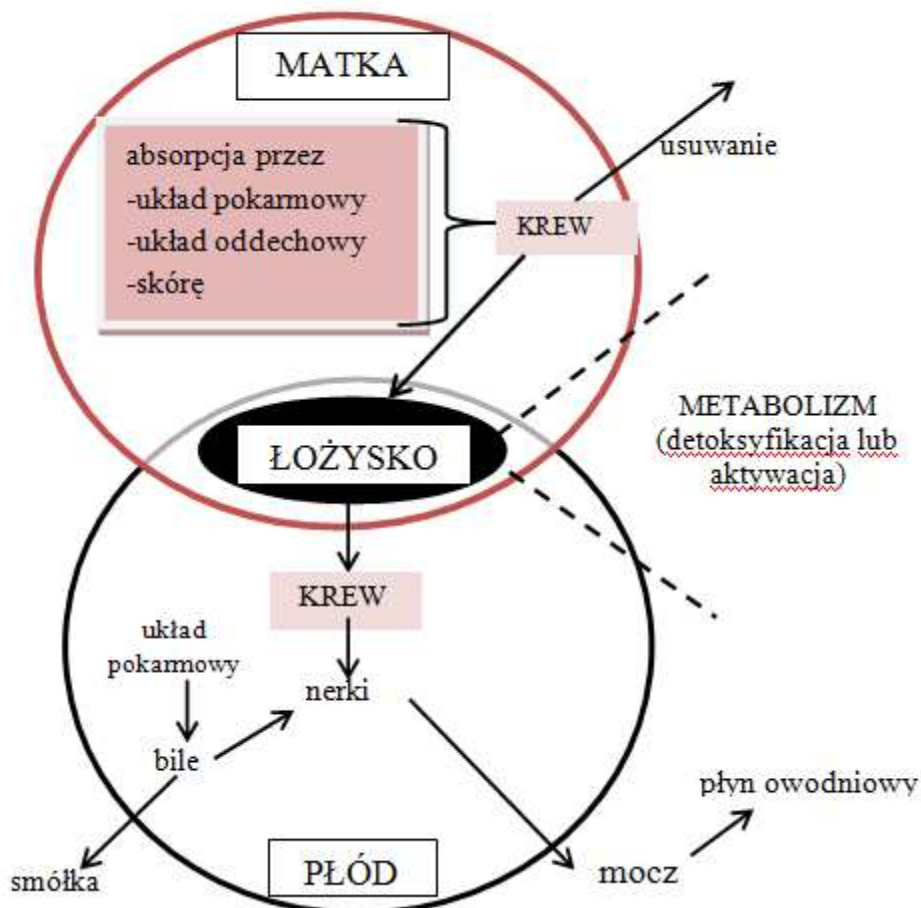


Rysunek 5 Schematyczne przedstawienie informacji o substancjach podlegających transportowi i procesach ich transportu przez łożysko

W przypadku narażenia kobiety ciężarnej na substancje obecne w dymie tytoniowym w trakcie ciąży, może dojść do przenikania tych substancji przez łożysko i do wywierania negatywnego wpływu na rozwijający się płód [54]. Na Rysunku 6 przedstawiono w sposób schematyczny przenikanie substancji toksycznych przez łożysko.

Dym tytoniowy zawiera związki toksyczne łatwo rozpuszczalne w wodzie, przez co bez problemu mogą pokonać barierę, jaką stanowi łożysko. Większość z tych substancji może zostać usunięta przez detoksyfikację enzymatyczną. Łožysko, tak jak wątroba może pełnić ważną rolę w metabolizmie substancji toksycznych. Zespół enzymów CYP stanowi kompleks metabolizujący wiele substancji endogennych i egzogennych. Grupa tych enzymów składa się z wielu podjednostek różniących się od siebie sekwencją aminokwasów. W organizmie człowieka odkryto 19 enzymów z podrodziny CYP P450s, większość z nich znajduje się w wątrobie. Znanych jest kilka przypadków (CYP1A1, CYP2F1, and CYP4B1) enzymów, których związane są w dużej mierze z organami pozawątrobowymi. Aktywność enzymów z grupy CYP może prowadzić do formowania reaktywnych metabolitów, niektóre z nich wykazują działania kancerogenne. Do tej pory działanie i funkcje poszczególnych form

enzymów CYP w tkance łożyska ludzkiego nie są znane. Zaobserwowano jednak pojawienie się enzymu CYP1A1 w próbkach łożyska kobiet palących tytoń w trakcie ciąży [55].



Rysunek 6 Schematyczne przedstawienie procesu przenikania substancji toksycznych przez łożysko

Wyniki badań do tej pory przeprowadzonych na tkance łożyska prowadzą do wniosku, iż w przypadku kobiet palących tytoń, tkanka ta ulega zwapnieniu i zgrubieniu [56]. Morfologiczne uszkodzenie łożyska może być obserwowane w pierwszym trymestrze ciąży, a nieodwracalne zmiany, takie jak martwica można zobaczyć już po pierwszych 9 tygodniach ciąży [31].

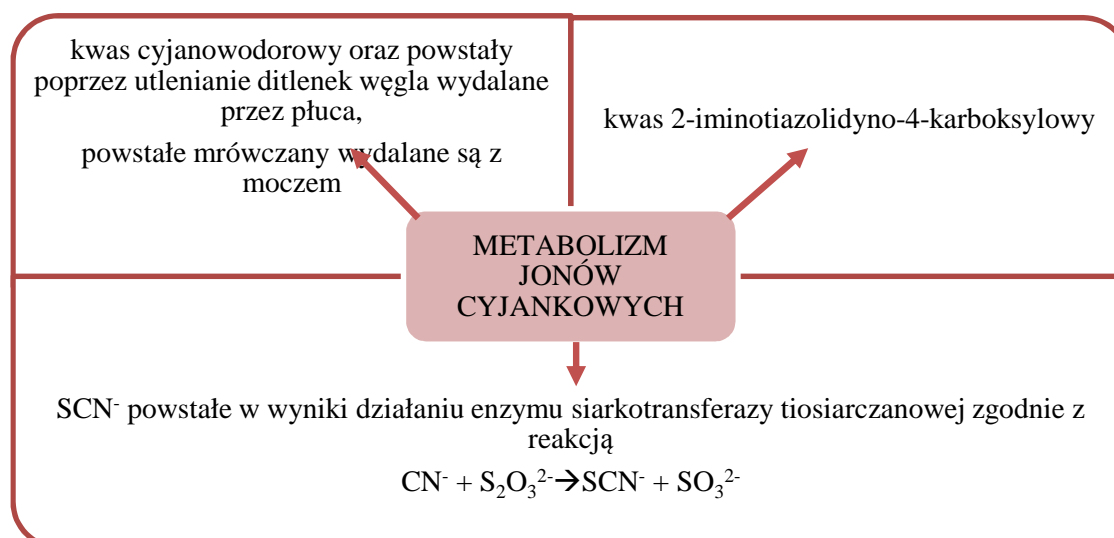
Łożysko jest materiałem biologicznym, który z powodzeniem może być stosowany w biomonitoringu substancji pochodzących z dymu tytoniowego. Wykrycie i oznaczenie substancji i metabolitów substancji pochodzących z dymu tytoniowego w próbkach łożyska odzwierciedla narażenie długotrwałe na te substancje, próbki tego narządu mogą być pobierane w sposób nieinwazyjny i stosunkowo prosty (w trakcie porodu) [51,57]. Łożysko

jest tkanką, która pozostaje w stałym kontakcie z dwoma organizmami, i jego analiza odzwierciedla jednocześnie ich jednocześnie narażenie.

2.2 Metabolizm substancji toksycznych obecnych w dymie tytoniowym

Jednym z najważniejszych związków znajdujących się w dymie tytoniowym jest cyjanowodór. Znajduje się on na liście priorytetowych związków dymu tytoniowego stworzonej w roku 2008 przez ekspertów WHO [8,17]. Cyjanowodór powstaje w strefie wypalania, głównie w procesie pirolizy różnych związków azotowych, takich jak białka oraz azotany, w temperaturze wyższej niż 700°C, przy niedoborze tlenu. Wykazuje on właściwości ogólnie toksyczne, blokuje oksydazę cytochromową w łańcuchu oddechowym. Działa również ciliotoksycznie, co oznacza, że blokuje ruch rzęsek wyściełających drogi oddechowe [19,58].

Około 80% jonów cyjankowych ulega detoksyfikacji z użyciem enzymu wątrobowego- siarkotransferazy tiosiarczanowej. Reakcja ta prowadzi do odblokowania łańcucha oddechowego. Powstały jon rodankowy jest rozpuszczalny w wodzie i w sposób łatwy wydalany z organizmu [58]. Pozostała część jonów cyjankowych jest utleniona do ditlenku węgla (CO₂) i mrówczanów. Ditlenek węgla oraz niewielka ilość kwasu cyjanowodorowego (HCN) są wydalane przez płuca, a mrówczany wraz z moczem. W niewielkiej ilości jony cyjankowe łączą się również z cystyną, tworząc kwas 2-iminotiazolidyno-4-karboksyłowy (Rysunek 7) [59,60].



Rysunek 7 Schematyczne przedstawienie dróg metabolizmu jonów cyjankowych/

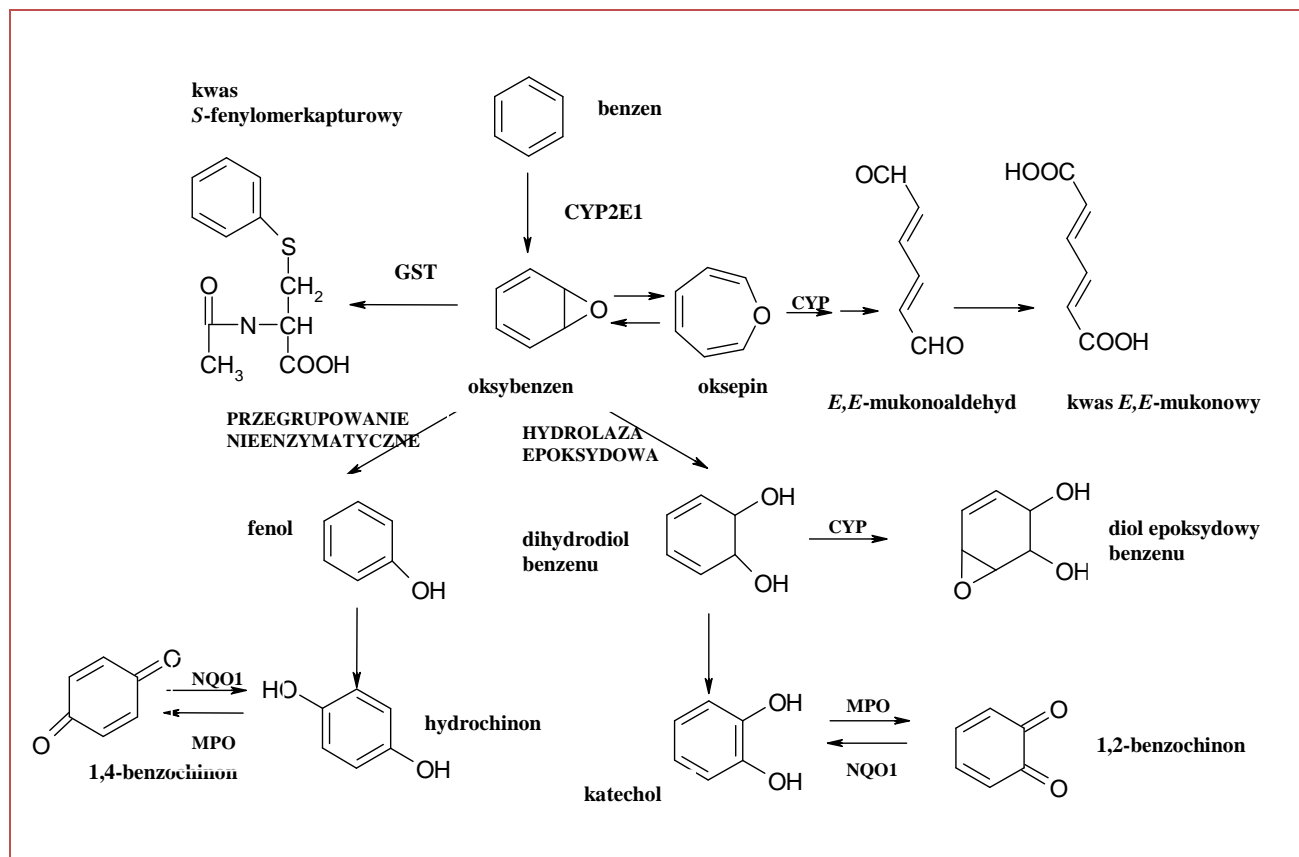
Kolejnym ważnym związkiem obecnym w dymie tytoniowym jest nikotyna. Metabolizm nikotyny obejmuje udział cytochromu P450 oraz dinukleotydu flawinoadeninowego. Proces ten przebiega w dwóch etapach. W Tabeli 5 zebrano informacje

o fazach przemiany metabolicznej nikotyny wraz z charakterystycznymi reakcjami. Przeprowadzone badania wykazały, że nikotyna jest wydalana z organizmu człowieka wraz z takimi płynami biologicznymi jak: mocz, ślina, pot, zółć mleko kobiece. Nikotyna oraz jej metabolity zostały oznaczone również w próbkach moczu pobranych od noworodków, których matki paliły tytoń w trakcie ciąży [61].

Tabela 5 Informacje o przemianach metabolicznych nikotyny wraz z reakcjami

Faza przemian metabolicznych nikotyny		Reakcje charakterystyczne dla poszczególnych faz metabolizmu nikotyny
Faza I	<p>Polega na utlenianiu mikrosomalnym nikotyny.</p> <p>Można wyróżnić następujące etapy:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) C-utlenianie i konwersja 5'-hydroksy-nikotyny do kwasu 3-pirydylooctowego 2) Powstawanie normikotyny, dimetylokotyniny, trans-3-hydroksy-kotyniny i kwasu δ-(3-pirydylo)-γ-metyloaminomasłowego 3) N-utlenianie; N-metylacja <p>Od 70-80% nikotyny jest metabolizowane do kotyniny przez C-utlenianie.</p>	<p>The diagram illustrates the Phase I metabolic pathways of nicotine. It starts with Nicotyna (nicotine) which can be converted to Nornikotyna (normicotine) or 5'-hydroksynikotyna (5'-hydroxynicotine). 5'-hydroksynikotyna is converted to Kotynina (cotinine) via C-Oksydacja (C-oxidation). From Kotynina, several pathways are shown: 1) C-oxidation to Dimetylokotynina (dimethylcotinine), which is then converted to Kwas 3-pirydylooctowy (3-pyridylacetic acid). 2) Hydroxylation to trans-3'-hydroksykotynina (trans-3'-hydroxycotinine), which is further converted to 5'-hydroksykotynina (5'-hydroxycotinine) and then to Kwas 3-pirydylooctowy. 3) N-oxidation to cis-R-S(-)-nikotyno-1'-N-oksydo (cis-R-S(-)-nicotino-1'-N-oxide) and trans-S-S(-)-nikotyno-1'-N-oksydo (trans-S-S(-)-nicotino-1'-N-oxide). 4) Further oxidation of S-N-jon metylokotyninowy (S-N-methylnicotinoyl cation) to S-N-jon metylokotyninowy (S-N-methylnicotinoyl cation) and S(-)-nikotyna (S(-)-nicotina).</p>
Faza II	<p>Polega N- i O-glukuronidacji nikotyny i jej metabolitów</p> <p>N-glukuronidy nikotyny i N-glukuronidy kotyniny są wydalane z organizmu wraz z moczem</p> <p>W łączeniu nikotyny i jej metabolitów z glukuronidą bierze udział enzym UDP (Urydono-5'-difosfoglukuronylotransferaza glukuronylotransferazy UGT)</p>	<p>The diagram illustrates the Phase II metabolic pathways of nicotine. It shows the N-glucuronidation of Nicotyna to N-glukuronid nikotyny and the O-glucuronidation of Kotynina to N-glukuronid kotyniny. Additionally, trans-3'-hydroksykotynina is converted to Glukuronid trans-3'-hydroksykotyniny.</p>

Kolejnym istotnym ze względu na wpływ na organizm człowieka związkiem obecnym w dymie tytoniowym jest benzen, związek, który podobnie jak cyjanowodór znalazł się na liście priorytetowej opracowanej przez ekspertów z WHO [8,17]. Jego toksyczność jest ściśle powiązana z zachodzącymi przemianami metabolicznymi (Rysunek 8)

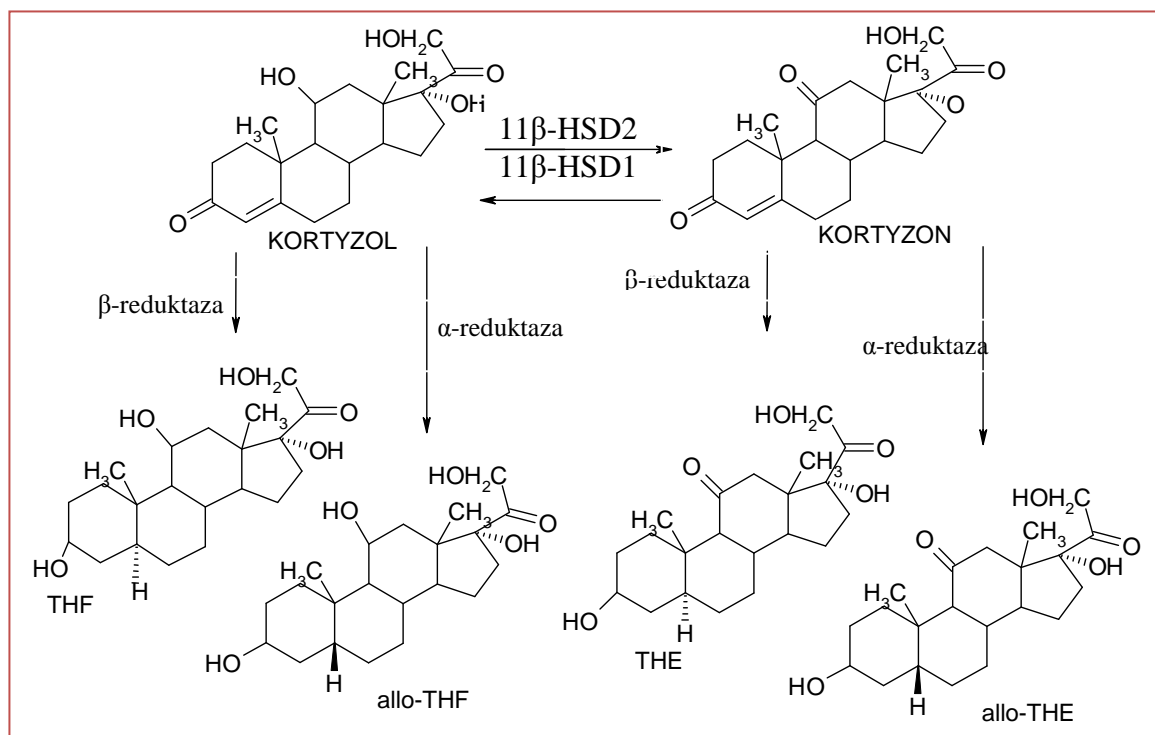


Rysunek 8 Informacje o reakcjach metabolicznych benzenu

Inną grupą związków, których stężenie może być zależne od narażenia na dym tytoniowy są hormony steroidowe, w tym glikokortykosteroidy. Glikokortykosteroidy przekształcane są do nieaktywnych metabolitów w wątrobie. Za wzajemne przekształcanie aktywnego biologicznie kortyzolu do nieczynnego kortyzonu odpowiedzialny jest enzym dehydrogenazy 11 β -hydroksysteroidowej (11 β -HSD). W zależności enzymu katalizującego redukcję wiązania podwójnego końcowym produktem może być (Rysunek 9):

- 5 α -tetrahydrokortyzol (allo-tetrahydrokortyzol, allo-THF)
- 5 β -tetrahydrokortyzol (tetrahydrokortyzol, THF).

W analogiczny sposób metabolizowany jest kortyzon. Powstają odpowiednio tetrahydrokortyzon (THE) i allo-tetrahydrokortyzon (allo-THE). Kortyzon jest metabolizowany i wydalany z moczem [62].



Rysunek 9 Informacje o reakcjach metabolicznych kortyzolu i kortyzonu.

2.3 Biomarkery narażenia na składniki dymu tytoniowego

Biomarkerem nazywa się substancję, która ma pomóc w ocenie narażenia i skutków biologicznych w epidemiologii oraz medycynie pracy i ochronie środowiska [19].

Substancja będąca biomarkerem dymu tytoniowego powinna posiadać następujące cechy:

- być specyficzna dla dymu tytoniowego;
- występować w ilości pozwalającej na jej oznaczenie;
- być emitowana na podobnym poziomie dla wszystkich marek papierosów [60].

Zależność pomiędzy stężeniem biomarkera a ekspozycją jest zależna od czynników środowiskowych oraz fizjologicznych. Wpływ na stężenie biomarkera w materiałach biologicznych mogą mieć takie czynniki jak: przemiany metaboliczne oraz szybkość absorpcji [19,63].

Pierwsze wzmianki dotyczące biomarkerów narażenia na składniki dymu tytoniowego sięgają roku 1856, kiedy Riley zaobserwował wzrost pulsu występujący tuż po wypaleniu papierosa. W roku 1932 Maddock i Collier zanotowali zmiany temperatury ciała po wypaleniu tytoniu, natomiast w roku 1957 wykonano pierwsze badanie EEG (Elektroencefalografii) wykazujące zmiany zachodzące w mózgu podczas palenia papierosa [19,63].

Pierwszym związkiem chemicznym, który został wykorzystywany jako biomarker narażenia na składniki dymu tytoniowego, były jony rodankowe. Większe stężenie tego jonu w próbkach moczu i osocza pobranych od osób aktywnie palących w stosunku do osób niepalących zaobserwował Claud Bernard. Wielkim atutem jonów rodankowych jest długi czas półtrwania w organizmie, wynoszący 6 dni, co sprawia, że mogą być oznaczane nawet kilka dni po wystąpieniu narażenia na dym tytoniowy [19].

Obecność jonów rodankowych w organizmie człowieka może być zależna od stosowanej diety. Wiadomo, że ich źródłem są rośliny z rodziny *Brassica* (takie jak kapusta, brokuły i kalafior), migdały, orzechy, rośliny strączkowe, bambus, fasola, siemię lniane oraz pestki: wiśni, brzoskwiń, moreli, śliwek i jabłek [19]. Ponadto, obecne są również w takich produktach spożywczych jak musztarda oraz krowie mleko i sery [19,58]. Tworzone są także endogennie przez bakterie w jelicie grubym [19].

Biomarkerem należącym do grupy alkaloidów pirydynowych jest nikotyna. Nikotyna zbudowana jest z dwóch połączonych ze sobą pierścieni: pirydynowego i pirolidonowego. Po wchłonięciu, w organizmie ulega przemianom do szeregu głównych i drugorzędnych metabolitów. Jest także przekształcana do innych substancji chemicznych, z których najważniejsze to nitrozoaminy. Nikotyna jest czynnikiem odpowiedzialnym za uzależnienie od palenia tytoniu [64]. Jeden papieros zawiera od 7-24 mg nikotyny [65]. Nikotyna występuje również w roślinach takich jak pomidory, ziemniaki, zielona papryka, herbata i bakłażan [61,66,67].

Dzięki swojej budowie nikotyna może pokonywać bariery, jakimi są błony biologiczne, w tym bariera krew-mózg. Skutki działania nikotyny to [61]:

- podwyższony puls;
- wyższe ciśnienie krwi;
- wzrost kwasów tłuszczowych we krwi;
- uruchomienie cukrów obecnych we krwi oraz wzrost poziomu katecholamin we krwi;
- pobudza układ autonomiczny zwalniając lub ułatwiając produkcję różnych neuroprzekaźników (dopaminy, noradrenaliny, serotoniny, acetylocholiny i wazopresyny [68];
- na poziomie komórkowym skutkiem narażenia na nikotynę jest zwiększenie ekspresji szoku cieplnego białek, wywołanie wymiany chromatyd siostrzanych, aberracje chromosomalne, tłumienie apoptozy [61].

Do organizmu związek ten jest absorbowany przez usta, skórę, płuca, pęcherz moczowy oraz przewód pokarmowy. Główną drogą wchłaniania nikotyny dla osób palących są pęcherzyki

płucne. Wodna frakcja tytoniu ma pH o wartości 8,5, pH pęcherzyków płucnych wynosi 7,4. W takich warunkach ponad 30% nikotyny znajduje się w stanie obojętnym i łatwo przechodzi przez błony komórkowe [61].

Jednym z metabolitów nikotyny jest kotynina, która uważana jest za najbardziej specyficzny i najbardziej czuły biomarker ekspozycji na składniki dymu tytoniowego [69]. Kotynina jest oznaczana w takich materiałach biologicznych jak: ślina, krew, mocz, włosy i łożysko. Dzięki możliwości oznaczania kotyniny we włosach i łożysku jest ona dobrym biomarkerem narażenia płodu na składniki dymu tytoniowego. Czas połowicznego rozkładu kotyniny wynosi od 15 do 17 godzin, jest więc znacznie dłuższy od czasu połowicznego rozkładu nikotyny (2,5 godz.) [32,66,67].

Kolejnym biomarkerem dymu tytoniowego jest połączenie tlenu węgla z hemoglobina (COHb) [70]. Powinowactwo tego kompleksu do hemoglobiny jest od 200-240 razy większe niż powinowactwo tlenu [34,46]. Tlenek węgla jest bezbarwnym, bezwonnym gazem toksycznym, nieznacznie lżejszym od powietrza [19]. Dym tytoniowy jest jednym ze źródeł narażenia na CO [70]. Do organizmu wchłaniany jest przez drogi oddechowe. Po dyfuzji przez ścianki pęcherzyków płucnych wiąże się z kationami żelaza (II) hemoglobiny i tworzy karboksyhemoglobinę. Jest to związek niezdolny do transportu tlenu. Objawy zatrucia tlenkiem węgla to [19]:

- bóle głowy;
- zawroty głowy;
- płytki oddech;
- ból w klatce piersiowej;
- osłabienie;
- nudności;
- utrata przytomności;
- bóle brzucha;
- skurcze mięśni.

Ekspozycja na stężenie CO na poziomie 2000 ppm przez okres 3-4 godzin prowadzi do połączenia 70% hemoglobiny z tym związkiem i w konsekwencji do śmierci. Czas połowicznego rozkładu COHb mieści się w zakresie 1-4 godzin [34,46].

Biomarkerem narażenia na składniki ETS może być również stężenie CO w wydychanym powietrzu (COex). Ze względu na bardzo krótki czas połowicznego rozkładu (od 5 do 55 minut) stężenie CO powinno być mierzone w ciągu 30 minut od wypalenia papierosa. Z karboksyhemoglobina CO w wydychanym powietrzu połączony jest relacją

zobrazowaną przez wzór: $COHb(\%)=0.6+0.3CO_{ex}$ (ppm). Stwierdza się występowanie liniowej zależności pomiędzy tlenkiem węgla a COHb w zakresie 0-10% [19].

Do grupy biomarkerów narażenia na składniki dymu tytoniowego zaliczane są również są hormony steroidowe. Stanowią one grupę związków naturalnych, a ich budowa oparta jest na czteropierścieniowym szkielecie węglowym (pochodnej 1,2-cyklopentanoperhydrofenantrenu). W organizmie człowieka produkowanych jest pięć klas steroidów:

- glikokortykosteroidy;
- mineralokortykosteroidy;
- gestageny;
- estrogeny;
- androgeny.

Najczęściej w biomonitoringu wykorzystywane są hormony należące do pierwszej grupy-glikokortykosteroidy, zaliczane do kortykosteroidów właściwych. Hormony te produkowane są przez korę nadnerczy. Odgrywają one kluczową rolę w takich procesach biologicznych jak: metabolizm, wzrost, rozmnażanie, utrzymanie homeostazy wodno-elektrolitowej oraz procesy odpornościowe i zapalne [71-76].

2.4 Analityka biomarkerów narażenia na składniki dymu tytoniowego w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka

Materiały biologiczne są trudnym materiałem do badań analitycznych ze względu na:

- złożony skład matrycy badanych próbek;
- możliwości wystąpienia interferencji pochodzących od innych składników badanych próbek, które charakteryzują się podobnymi właściwościami fizykochemicznymi;
- duże zmienności stężeń analitów w próbkach pochodzących od różnych dawców;
- ograniczony dostęp lub brak wzorców i/lub materiałów odniesienia niezbędnych do zapewnienia właściwego poziomu i kontroli jakości wyników pomiarów analitycznych.[35,77]

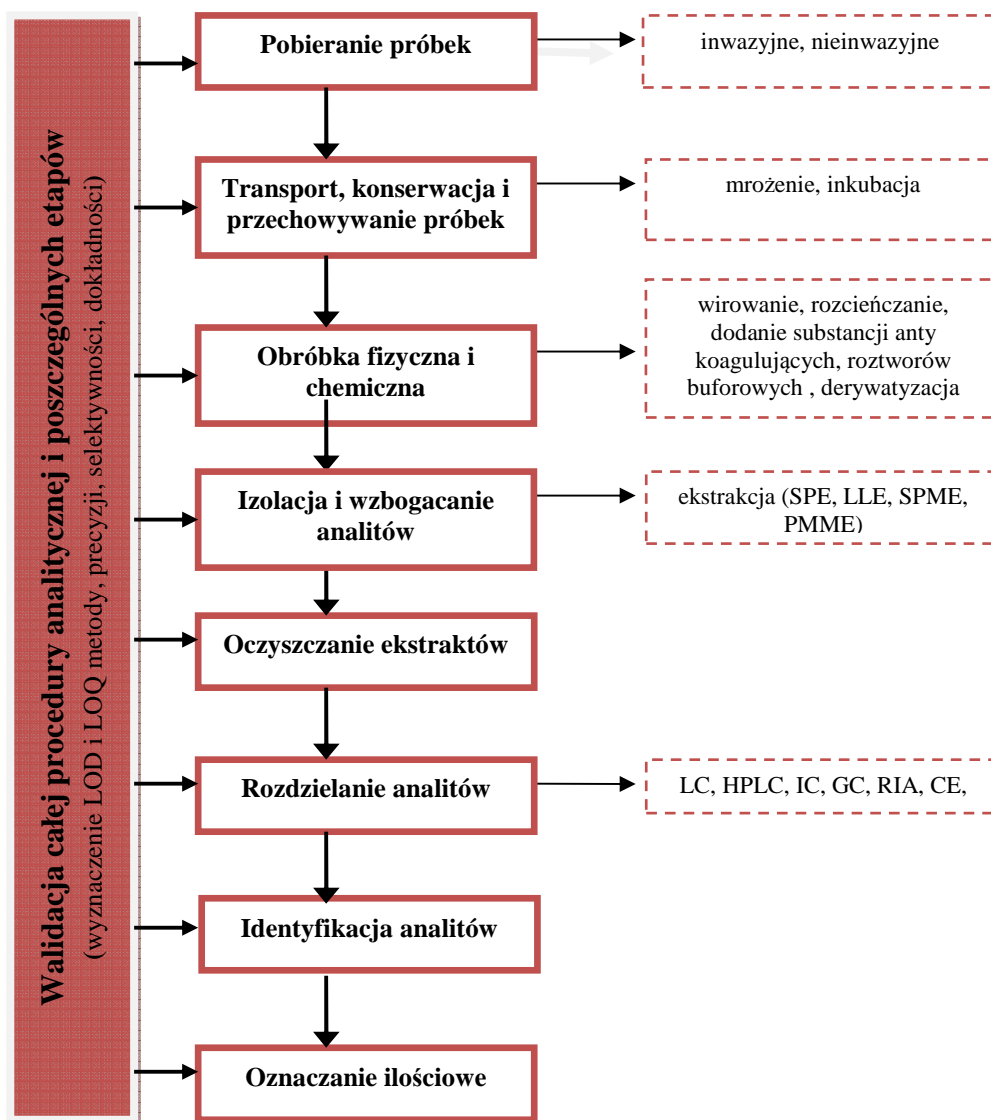
2.4.1 Techniki analityczne wykorzystywane w analizie biomarkerów narażenia na składniki dymu tytoniowego

Przez ostatnie lata wzrosło zainteresowanie technikami analitycznymi, umożliwiającymi oznaczanie substancji toksycznych w materiałach biologicznych pobranych od człowieka. Wiąże się to z możliwościami wykorzystania wyników badań w ocenie narażenia człowieka na szkodliwe związki obecne w środowisku. Bardzo ważnym aspektem jest wykorzystywanie do tego celu materiałów biologicznych płodu oraz kobiet ciężarnych, co umożliwi ocenę ekspozycji na związki toksyczne we wczesnych etapach życia człowieka. Do tego celu niezbędny jest rozwój czułych i specyficznych technik analitycznych, umożliwiających oznaczanie biomarkerów w tego typu substancjach [78,79]. W dalszym ciągu można obserwować rozwój technik analitycznych stosowanych do oznaczania biomarkerów dymu tytoniowego w materiałach biologicznych. Każda procedura analityczna składa się z kilku, następujących po sobie etapów (Rysunek 10).

Jednym z najważniejszych etapów jest etap przygotowania próbek do analizy. Wybór techniki przygotowania próbki zależy od takich czynników jak właściwości fizykochemiczne analitów oraz złożoność próbki. Etap przygotowania próbki do analizy jest niezwykle istotny ale i trudny do przeprowadzenia ze względu na możliwość wprowadzenia do próbki dodatkowych zanieczyszczeń bądź uwolnienie analitów z matrycy [76,77]. Informacje o operacjach wchodzących w skład przygotowywania próbek materiałów biologicznych do analizy przedstawiono w Tabeli 6.

Tabela 6 Informacje o operacjach wchodzących etap przygotowywania próbek materiałów biologicznych do analizy

Operacja wchodząca w skład przygotowywania próbek do analizy	Charakterystyka etapu	Literatura
Pobieranie próbek	-pobieranie inwazyjne: próbki krwi, płynu owodniowego -pobieranie nieinwazyjne: próbki moczu, śliny, spermy, łożyska -próbka reprezentatywna	[80,81]
Przechowywanie próbek	-przechowywanie próbek w temperaturze od -4 °C do -80 °C	[68,82]
Pomiar masy i/lub objętości	-	[68]
Osuszanie	-osuszanie w strumieniu azotu po ekstrakcji -liofilizacja	[83]
Rozcieńczanie	-rozcieńczanie próbki wodą ultraczystą	[58,80]
Odwieranie	-usunięcie zawiesiny z próbek ciekłych, białka krwi, moczu	[84]
Wzbogacanie analitów	-techniki ekstrakcji	[85]



Rysunek 10 Ogólny schemat procedur analitycznych wykorzystywanych w badaniach próbek o złożonym składzie matrycy.

Zarówno na etapie pobierania jak i przygotowywania próbek popełnione błędy powodować mogą zarówno straty analitów, jak i wprowadzać dodatkowe zanieczyszczenia do próbek. Inne trudności dotyczą konieczności inwazyjnego pobierania próbek, co ma miejsce w przypadku próbek takich jak krew oraz płyn owodniowy [60]. Procedury analityczne, które są na ogół użyteczne wymagają na ogół etapu ekstrakcji i etapu wzbogacania. Podczas ekstrakcji, związki izoluje się z podłoża i zatęża, aby umożliwić ich identyfikację lub ilościowe oznaczenie. Informacje o technikach ekstrakcji wykorzystywanych na etapie

przygotowania próbek materiałów biologicznych do analizy przedstawiono w sposób schematyczny na Rysunku 11 [47,64,68,83,85-91].

W ciągu ostatnich lat rozwojowi uległy techniki chromatograficzne, i to właśnie one są głównie wykorzystywane w analityce związków toksycznych pochodzących z dymu tytoniowego [77]. Informacje o technikach analitycznych i związkach pochodzących z dymu tytoniowego oznaczanych w poszczególnych materiałach biologicznych zebrano w Tabeli 7 [47,79-81,92-101].

2.4.2 Problemy i wyzwania związane z analityką biomarkerów narażenia na składniki dymu tytoniowego

Analityka próbek materiałów biologicznych narażona jest na wiele problemów ze względu na zmienność stężeń oznaczanych substancji w zależności od czasu pobrania próbki. Jest to zależne m. in. od stopnia ekspozycji organizmu na dany ksenobiotyk oraz od jego czasu połowicznego rozkładu. Szczególne wyzwanie stanowi złożony a często i zmienny skład materiałów biologicznych, i w związku z tym bezpośrednia analiza takich próbek nie jest możliwa. Materiały biologiczne stanowią trudny materiał do badań również ze względu na możliwości występowania interferencji [47,48,101].

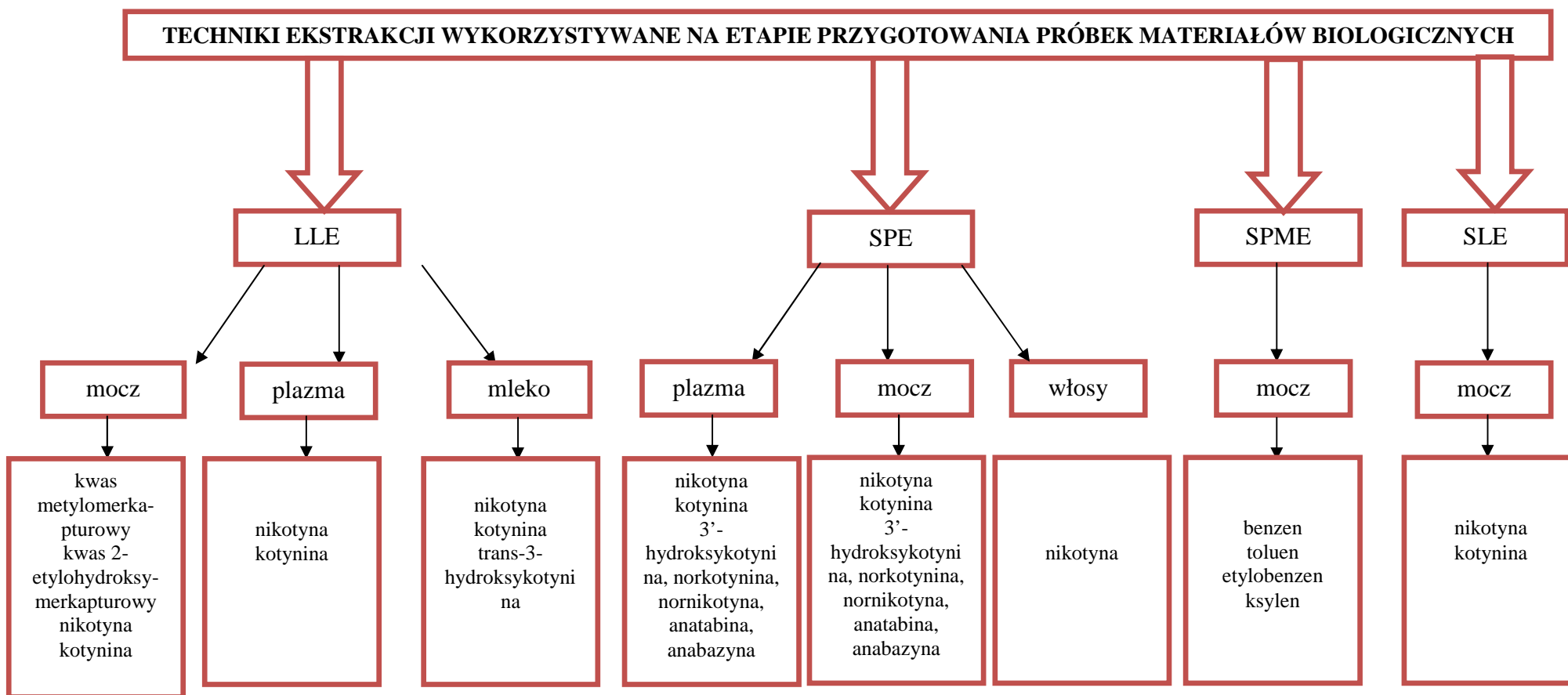
Problemy analityczne występujące przy stosowaniu materiałów biologicznych w analityce związków toksycznych można podzielić na:

- problemy niezależne od stosowanej procedury analitycznej;
- problemy związane z procedurą analityczną;
- problemy związane z interpretacją wyników .

W Tabeli 8 przedstawiono informacje na temat podstawowych problemów występujących w trakcie prac analitycznych nad próbkami materiałów biologicznych [60].

Trudnym zagadnieniem związanym z badaniem próbek biologicznych jest właściwy dobór rodzaju próbki. Ważnymi cechami pozwalającymi oszacować przydatność poszczególnej próbki do analizy są:

- przemiany metaboliczne poszczególnych pierwiastków bądź związków,
- ilość próbki, która może zostać pobrana
- oraz analityczna jakość próbki, na którą wpływa etap przechowywania i konserwacji próbki.



Rysunek 11 Schematyczne przedstawienie informacji o technikach ekstrakcji wykorzystywanych na etapie przygotowania próbek materiałów biologicznych do analizy w celu oznaczenia biomarkerów narażenia na składniki dymu tytoniowego

Tabela 7 Informacje dotyczące technik analitycznych i materiałów biologicznych stosowanych w analityce związków pochodzących z dymu tytoniowego

Material	Związek pochodzący z dymu tytoniowego	Analit	Stężenie	Metoda ekstrakcji	Technika oznaczania	LOQ, LOD	Literatura
Materiały biologiczne pobrane od człowieka w wieku rozrodczym							
mocz	nikotyna	Nikotyna	smokers: 1002.2 µg/g creatinine non-smokers: 42.0-45.8 µg/g creatinine	LLE	GC-MS	1 µg/l	[47]
			smokers: 21.2-2684 µg/g creatinine non-smokers: 1.7-148 µg/g creatinine		RIA	-	
mocz	nikotyna	Nikotyna		LLE	GC	234-7290 ng/ml	[92]
		Kotonina				143-4620 ng/ml	
mocz	cyjanoowodór	jony rodankowe	średnia niepalący: 6,48 mg/l średnia aktywni palacze: 17,10 mg/l	-	IC	LOD: 0,02 mg/l	[93]
sperma	cyjanowodór	jony rodankowe	0,00003-0,058 mg/g próbki	-	IC	LOD: 0,01 mg/l	[94]
sperma	nikotyna	Nikotyna	12.4 ng/ml	-	RIA	-	[95]
		Kotynina	5.2 ng/ml				
krew	cyjanowodór	jony cyjankowe	Aktywni palacze: 509-686 pmol/ml niepalący: 434-550 pmol/ml	-	IC	3.8 pmol/ml	[80]
		jony rodankowe	Aktywni palacze: 28.6-96.1 pmol/ml niepalący: 5.2-166 pmol/ml			86 pmol/ml	
ślina	cyjanowodór	jony rodankowe	0.015-0.847 mg/g		IC	1.85x10 ⁻⁵ mg/g	[96]
Materiały biologiczne pobrane od kobiet w ciąży							
ślina	nikotyna	Kotynina	Brak danych	SPE	ELISA LC-MS	10 µg/l cut off	[79]

Tabela 7 cd.

włosy	nikotyna	Nikotyna	ng/mg	-	GC-NPD	-	[97]
plazma	nikotyna	Kotynina	17-245 ng/ml	-	HPLC-UV	LOD ng/ml 10	[98]
mleko	nikotyna	nikotyna, kotynina	32 115	LLE	HPLC	8 µg/l	[83]
	nikotyna z plastra nikotynowego	Nikotyna	µg/l 28 (dla plastra z dawką 21 mg nikotyny) 25 (dla plastra z dawką 14 mg nikotyny)				
		Kotynina	µg/l 114 (dla plastra z dawką 21 mg nikotyny) 84 (dla plastra z dawką 14 mg nikotyny)				
	plazma	cyjanowodór	jony rodankowe				
Materiały biologiczne pobrane od kobiet i ich potomstwa							
krew pepowinowa	nikotyna	Kotynina	ng/ml 10-198	-	HPLC-UV	LOD ng/ml 10	[98]
płyn owodniowy	cyjanowodór	jony rodankowe	µg/l <10- 5860	-	IC	LOD µg/l 7.4	[81]

Tabela 7 cd.

Materiały biologiczne pobrane od płodu i noworodka							
smółka	nikotyna	nikotyna, kotynina, <i>trans</i> -3_-hydroksykotynina	ng/g w sumie: 89.6–334	SPE	LC-MS-MS	LOQ (ng/g) nikotyna: 2.5; kotynina: 1; <i>trans</i> -3-hydroksykotynina: 5	[100]
	nikotyna	nikotyna, kotynina <i>trans</i> -3_-hydroksykotynina, nornikotyna, norkotynina	ng/g nikotyna: 101.4; kotynina: 94.7; <i>trans</i> -3_-hydroksykotynina: 196.8; nornikotyna :10.2; norkotynina: 4.4	SPE	LC-MS/MS	LOD ng/g nikotyna: 1.25, kotynina: 1.25; <i>trans</i> -3_-hydroksykotynina: 1.25, nornikotyna: 5, norkotynina: 1.25	[101]
włosy	nikotyna	Nikotyna	ng/mg	-	GC-NPD	-	[97]
paznokcie	nikotyna	kotynina, nikotyna	-	SPE	GC-MS	LOD ng/mg 0.025	[102]
płyn osierdziowy	nikotyna	kotynina	ng/ml 3.5-110	-	GC	LOD ng/ml 0.1	[103]
włosy	nikotyna	nikotyna, kotynina	ng/mg	SLE	GC-MS	-	[104]

Tabela 8 Problemy analityczne występujące w trakcie prac analitycznych nad próbkami materiałów biologicznych

Problemy występujące w trakcie prac analitycznych nad próbkami materiałów biologicznych		
Rodzaje problemów	niezależne od stosowanej procedury analitycznej	-brak jednorodności próbki (łożysko)
		-różny metabolizm związków toksycznych w zależności od wieku i płci
		-narażenie na związki będące biomarkerami narażenia na składniki dymu tytoniowego z innych źródeł niż dym tytoniowy
		-występowanie substancji przeszkadzających
		-problemy dotyczące pobierania próbek materiałów biologicznych (inwazyjne pobieranie próbek krwi, płynu owodniowego)
		-trudności dotyczące reprezentatywności próbek (mocz, ślina)
	związane z procedurą analityczną	-małe objętości pobieranych próbek (sperma, łzy, krew)
		-konieczność wyboru odpowiednich procedur analitycznych
		-specyficzny skład matrycy
		-straty analitów na etapie przygotowania próbek
		-niskie stężenia niektórych analitów
		-brak materiałów odniesienia
	związane z interpretacją wyników	-zmiany stężenia biomarkerów w zależności od czasu narażenia (związane z czasem połowicznego rozkładu)
		-współzależności pomiędzy zanieczyszczeniami obecnymi w próbkach
		-brak odpowiednich norm dotyczących dopuszczalnych stężeń związków obecnych w dymie tytoniowym

II CEL PRACY

Szkodliwość składników dymu tytoniowego ma wpływ na zwiększenie prawdopodobieństwa wywołania objawów wielu chorób zarówno nowotworowych, jak i tych zaliczanych do grupy chorób nienowotworowych. Ponadto, skutki działania składników dymu tytoniowego na kobietę w ciąży oraz na płód są jednym z najpoważniejszych problemów współczesnego pośliznictwa. Mimo obowiązywania od roku 2010 ustawy antynikotynowej, nadal wiele osób mimowolnie wdycha składniki dymu tytoniowego. Problem ten w istotny sposób dotyczy dzieci i młodzieży przebywającej w domach, w których chociaż jedno z rodziców aktywnie pali tytoń.

W związku ze szkodliwością składników dymu tytoniowego, konieczne jest prowadzenie badań, mających na celu ocenę narażenia człowieka wystawionego na działanie toksycznych związków pochodzących ze spalania tytoniu. W tym celu, niezbędny jest rozwój nowych technik analitycznych, umożliwiających oznaczanie związków toksycznych w próbkach biologicznych, ale także poszerzenie spektrum materiałów i płynów biologicznych, które mogą być wykorzystane w badaniach oceny narażenia człowieka na związki toksyczne.

Celem badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej jest:

- opracowanie i walidacja odpowiednich procedur analitycznych do wykrywania i oznaczania wybranych zanieczyszczeń chemicznych i biomarkerów narażenia na związki obecne w dymie tytoniowym;
- wykorzystanie tych nowych narzędzi analitycznych do oznaczenie zawartości wybranych zanieczyszczeń oraz biomarkerów narażenia na składniki obecne w dymie tytoniowym w próbkach biologicznych pobranych od ludzi, w różnym stopniu narażonych na działanie dymu tytoniowego;
- wykorzystanie tych metodyk w badaniach różnego typu materiałów biologicznych.

W trakcie realizacji programu badawczego wykorzystano takie materiały biologiczne pobrane od człowieka jak: mocza, pot, wydzielina z jamy nosa, ślina, mleko, śmółka, krew żylna i łożysko. Próbkę tych materiałów biologicznych pobierane były w sposób nieinwazyjny (mocza, ślina, pot, śmółka, mleko, łożysko, wydzielina z jamy nosa) oraz inwazyjny (krew żylna).

W pobranych próbkach biologicznych oznaczane będą takie związki jak:

- jony nieorganiczne (jony: sodowe, amonowe, wapniowe, magnezowe, potasowe, chlorkowe, azotynowe, bromkowe, azotanowe, fosforanowe, siarczanowe)
- jony rodankowe- biomarker narażenia na składniki obecne w dymie tytoniowym
- jony cyjankowe- mogące pełnić rolę biomarkera narażenia na składniki obecne w dymie tytoniowym
- formaldehyd-zanieczyszczenie pochodzące z dymu tytoniowego.

W opracowanych i stosowanych w badaniach procedurach analitycznych zastosowanie znajdą takie techniki jak spektrofotometria i chromatografia jonowa i cieczowa. Zastosowanie odpowiednich narzędzi chemometrycznych zapewni możliwość wykrycia i ustalenia korelacji pomiędzy poszczególnymi analitami.

III CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

3.1 Charakterystyka dawców próbek biologicznych

Narażenie na związki toksyczne, również te obecne w dymie tytoniowym, ma istotny wpływ na zdrowie człowieka na każdym etapie jego życia. Podjęte badania, miały na celu wybranie takich materiałów biologicznych, analiza których mogłaby dostarczyć informacji o stopniu narażenia człowieka na szkodliwe działanie dymu tytoniowego w każdym etapie

życia. Z tego też powodu próbki materiałów biologicznych pobierane zostały od trzech różnych grup dawców:

- od osób w wieku rozrodczym i starszych, zarówno kobiet i mężczyzn, w różnym przedziale wiekowym. Od tej grupy pobrane zostały próbki wydzieliny z jamy nosa, moczu oraz śliny
- od kobiet w końcowym okresie ciąży, oraz w okresie połogu- próbki śliny, krwi, łożyska, mleka
- od noworodka- w pierwszych dobach po porodzie pobrane zostały próbki smółki.

W Tabeli 9 zebrano informacje dotyczące dawców próbek poszczególnych materiałów biologicznych, którzy wzięli udział w badaniach.

Tabela 9 Charakterystyka dawców próbek materiałów biologicznych

Dawcy w wieku rozrodczym				
Materiał biologiczny	Liczba dawców	Procent dawców w poszczególnym przedziale wieku	Procentowy udział kobiet i mężczyzn w badaniu	Procent osób aktywnie palących
Wydzielina z jamy nosa	83	<p>89,2% 10,8%</p> <p>■ 21 do 30 ■ <20 ■ 31 d 40 ■ 41 d 50 ■ 51 do 60</p>	kobiety 59% mężczyźni 41%	54%
Mocz	62	<p>55% 40%</p> <p>■ 21 do 30 ■ <20 ■ 31 d 40 ■ 41 d 50 ■ 51 do 60</p>	kobiet 56,5% mężczyźni 43,5%	42%

Tabela 9 cd.

Pot	201	<p> ■ 21 do 30 ■ <20 ■ 31 d 40 ■ 41 d 50 ■ 51 do 60 ■ >60 </p>	kobiety 57% mężczyźni 43%	41%
Ślina	140	21-30-100%	kobiety 90,7% mężczyźni 9,3%	31%
Kobiety ciąży i położnice				
Ślina	65	Dane bardzo ograniczone		17%
Krew	65	21-30-26,2% 31-40-18,5% 41-50-3% Odmowa odpowiedzi lub brak danych 52,3%	kobiety 100%	21,5%
Łóżysko	392	<20- 1,3% 21-30-47,6% 31-40-32,9% 41-50-3% Odmowa odpowiedzi lub brak danych15,2%		16%
Mleko	75	Brak pełnych danych		25,3%
Noworodki				
Smółka	52	1-3 dni	brak pełnych danych	28,8%
Łączna liczba próbek	1135			

3.2 Odczynniki i aparatura pomiarowa stosowane w trakcie prowadzenia badań

W trakcie badań stosowano szereg odczynników chemicznych, materiałów oraz roztworów wzorcowych. Próbkę były przygotowywane do analizy z wykorzystaniem sprzętu dostępnego w Katedrze Chemii Analitycznej, oraz analizowane na obecność wybranych zanieczyszczeń przy użyciu dostępnej aparatury pomiarowej. Część badań przeprowadzono z wykorzystaniem sprzętu dostępnego na Wydziale Farmaceutycznym Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego dzięki współpracy z zespołem prof. P. Szefera. Informacje o stosowanych odczynnikach, materiałach, wzorcach chemicznych oraz o wykorzystywanej aparaturze zebrano w Tabeli 10.

Tabela 10 Informacje o stosowanych w trakcie badań odczynnikach, wzorcach chemicznych i wykorzystywanej aparaturze

ODCZYNNIKI CHEMICZNE	
Woda dejonizowana	MilliQ (Millipore, USA) zawartość TOC: 1-3 ppb C
Odczynniki do spektrofotometrycznego oznaczania jonów cyjankowych	Merck (Niemcy)
Odczynniki do spektrofotometrycznego oznaczania formaldehydu	Merck (Niemcy)
Odczynniki do spektrofotometrycznego oznaczania kreatyniny	Emapol (Polska)
Kwas metasulfonowy	Sigma-Aldrich (Niemcy)
Bezwodny roztwór węglańu sodu	Merck (Niemcy)
Acetonitryl	Merck (Niemcy)
Bufor octanowy	Merck (Niemcy)
Ř-Glukuronidaza / arylosulfataza (z Helix pomatia) stabilizowany roztwór wodny 100 000 FU/ml	Sigma (Niemcy)
Kwas trifluorooctowy	Fluka
Metanol	POCH Gliwice
Octan etylu	POCH Gliwice
Woda dejonizowana	Simplicity UV / Milipore
Ziemia krzemkowa	Sigma-Aldrich (Polska)
ROZTWORY WZORCOWE	
Fluorki (fluorek sodu), 1001±2 mg·l ⁻¹ Chlorki (chlorek sodu), 1000±2 mg·l ⁻¹ Azotyny (azotan (III) sodu), 1001±5 mg·l ⁻¹ Bromki (bromek sodu), 1001±2 mg·l ⁻¹ Azotany (azotan (V) sodu), 1004±5 mg·l ⁻¹ Fosforany (diwodorofosforan (V) potasu), 1002±2 mg·l ⁻¹ Siarczany (siarczan (VI) sodu), 1002±2 mg·l ⁻¹ Amon (chlorek amonu), 1001±2 mg·l ⁻¹ Sód (azotan (V) sodu), 1001±5 mg·l ⁻¹ Potas (azotan (V) potasu), 996±5 mg·l ⁻¹ Wapń (azotan (V) wapnia), 998±2 mg·l ⁻¹ Magnez (azotan (V) magnezu), 1000±2 mg·l ⁻¹ Rodanki (rodanek potasu), 0,1 mol·l ⁻¹	Merck (Niemcy)
Wzorzec deksametazonu (5 mg/ML)	Sigma – Aldrich
Wzorzec nandronolu (10 mg/ML)	Sigma – Aldrich
APARATURA	
Waga	wagę elektroniczną WAX 110, Radwag, Polska
Łaźnia ultradźwiękowa	łaźnia ultradźwiękową UM4, Unitra Olsztyn, Polska
Aparat do dejonizacji wody	dwustopniowy system dejonizacji wody Milli-Q®, Millipore, USA
Chromatograf jonowy z detektorem konduktometrycznym	ICS 3000, Dionex (USA) -wyposażony w automatyczny podajnik próbek (strzykawka o pojemności 250 µl)
Spektrofotometr	spektrofotometr 6300, Jenway (UK)
Aparat do przeprowadzenia ekstrakcji przyspieszonej za pomocą rozpuszczalnika	ASE 150, Dionex (USA)
Aparat do ekstrakcji	ekstraktor firmy JT Baker spe -12G
Chromatograf cieczerwowy z detektorem wyładowań koronowych Corona CAD	Dionex (USA)
Kolumnienki do SPE	Waters (USA)

3.3 Pobieranie, transport i przygotowanie próbek materiałów biologicznych do analizy

Próbki materiałów biologicznych pochodzące od kobiet w ciąży, w okresie połogu oraz ich potomstwa (próbki śliny, mleka, krwi żyłnej, smółki i łożyska) pobrane zostały na Oddziale Położniczym Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Próbki pozostałych materiałów biologicznych (pot, mocz, ślina, wydzielina z jamy nosa) dawcy pobierali sami, zbierając materiał do sterylnych pojemników:

- próbki śliny (pobrane z rana, przed myciem zębów);
- próbki moczu (pobrane z rana);
- próbki wydzieliny z jamy nosa (pobrane przez zdrowe osoby, w trakcie wykonywania zabiegów higienicznych);
- próbki potu (pobrane zostały po kąpielach, w trakcie intensywnego pocenia się w saunie).

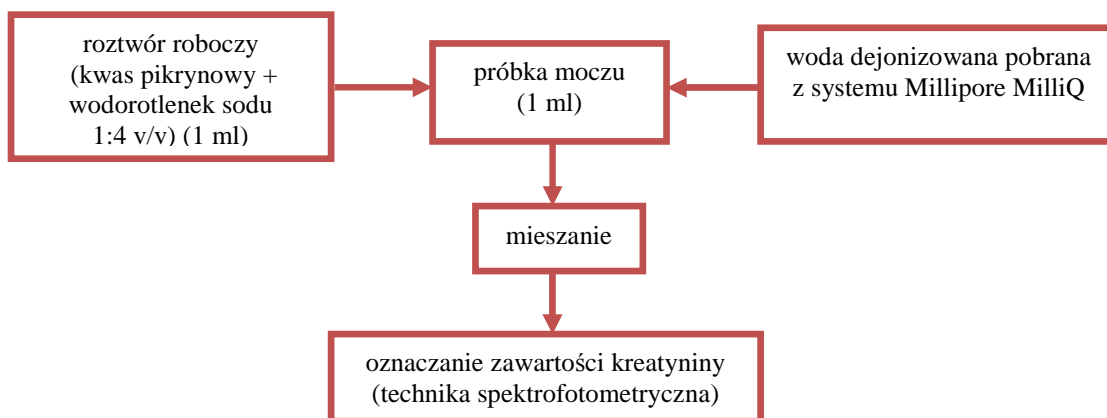
Do czasu analizy próbki przechowywane były w zamrażarce.

Próbki materiałów biologicznych pobranych od człowieka są materiałem specjalnym, a praca z tego typu próbkami wymaga zgody Komisji Bioetycznej. Zgoda taka została uzyskana 7 lipca 2010 roku od Niezależnej Komisji Bioetycznej do spraw badań naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym (NKEBN/80/2010).

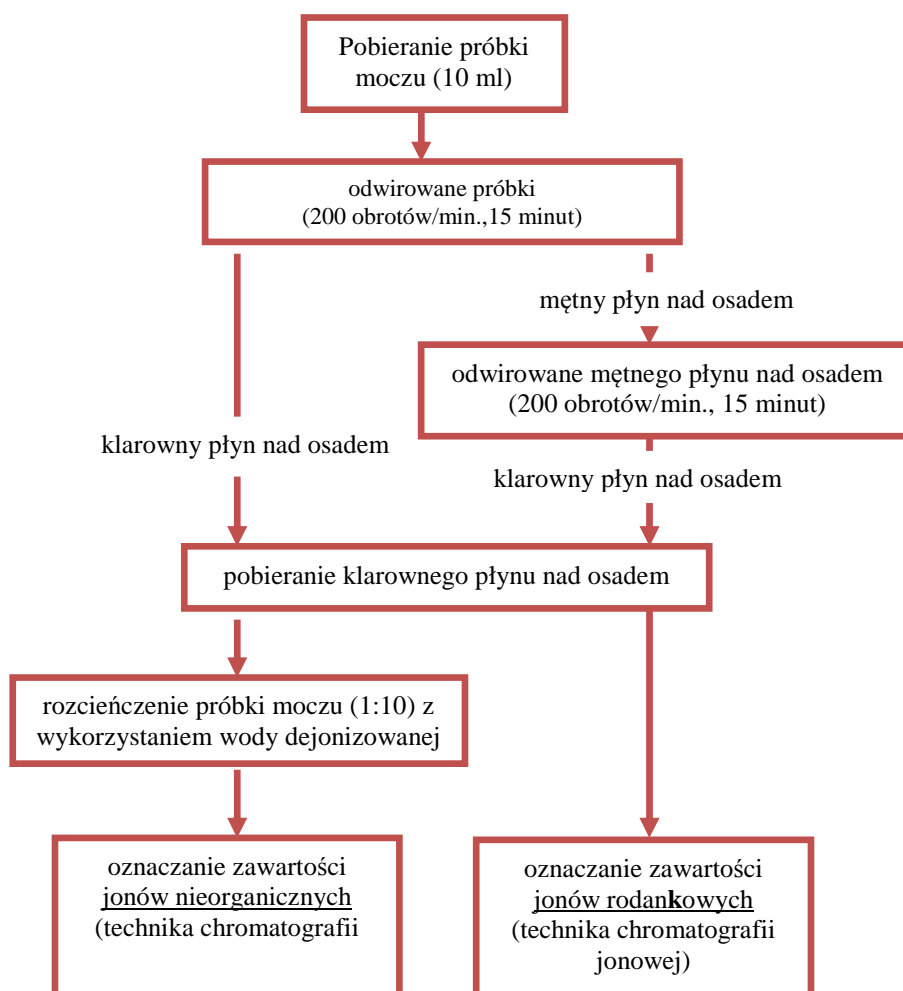
Na Rysunkach 12-16 przedstawiono informacje o etapach przygotowania próbek poszczególnych typów materiałów biologicznych do analizy na zawartość wybranych związków chemicznych.

3.4 Metodyki oznaczania wybranych ksenobiotyków w próbkach materiałów biologicznych

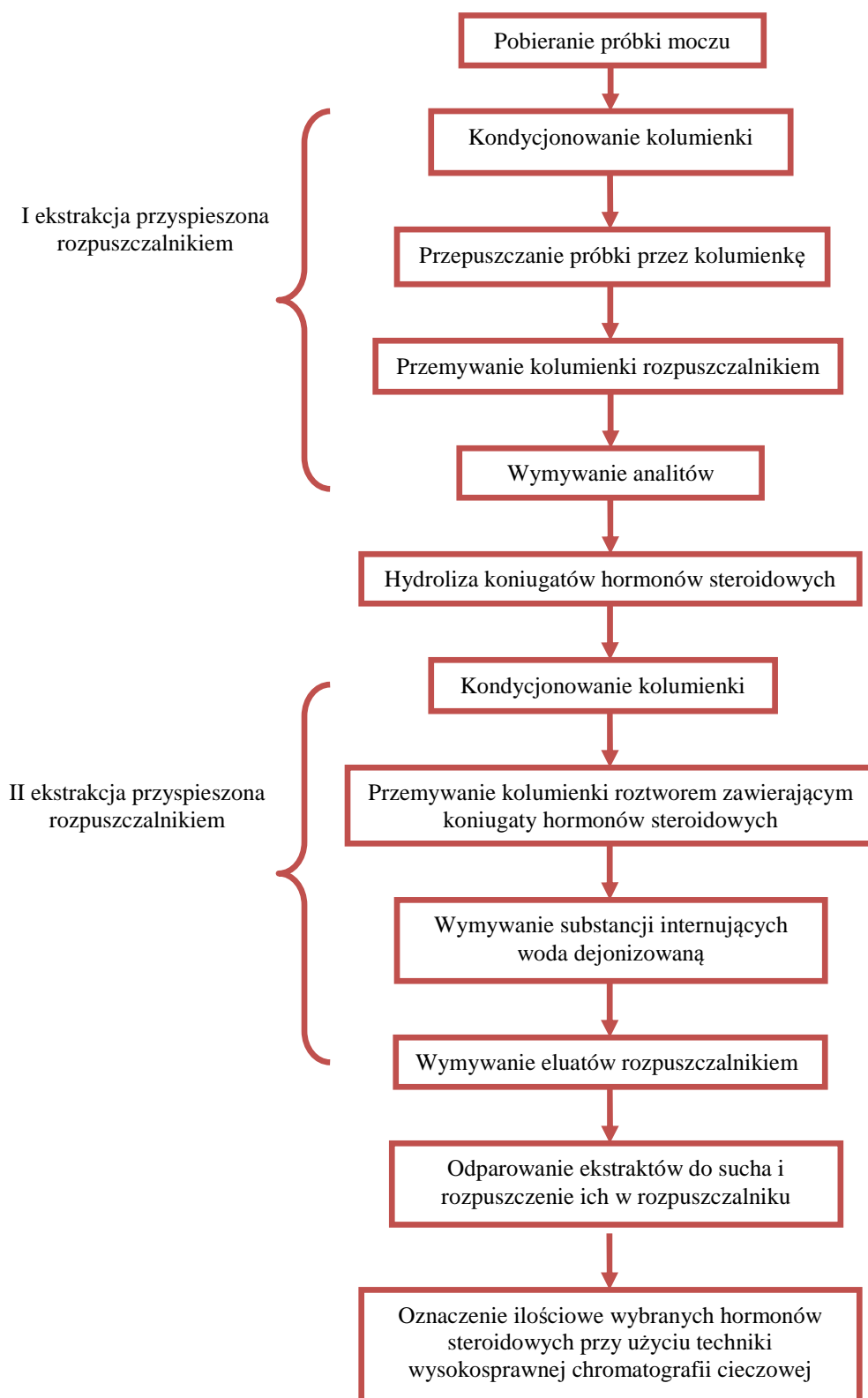
Na Rysunku 17 przedstawiono w sposób schematyczny ogólne informacje o poszczególnych etapach pobierania i przygotowania próbek do analizy. W kolejnych rozdziałach pracy zawarto informacje dotyczące pobierania i przygotowania próbek do analizy chromatograficznej oraz zawierają informacje dotyczące doboru warunków prowadzenia analiz.



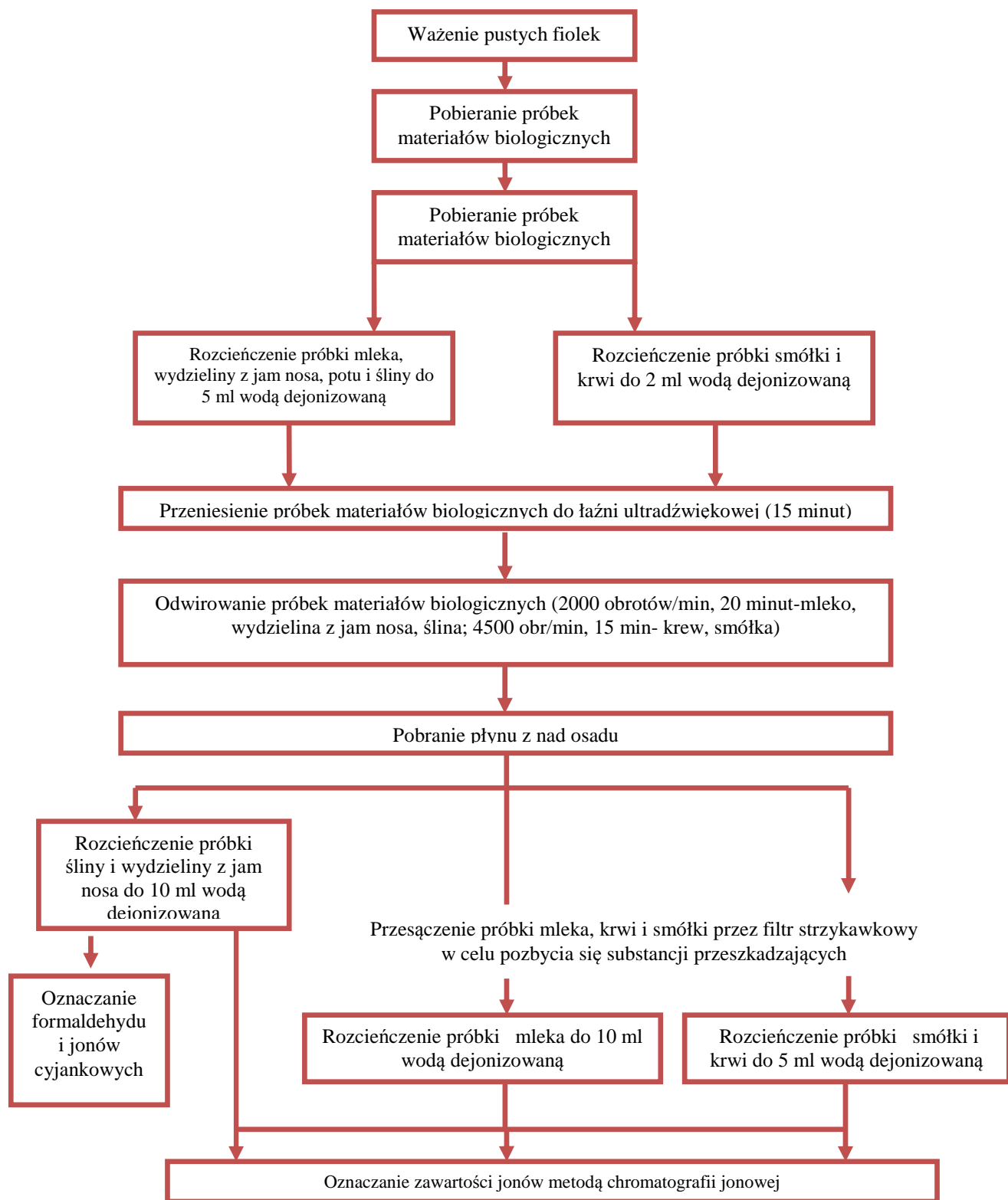
Rysunek 12 Informacje o przebiegu postępowania analitycznego oznaczania kreatyniny w moczu



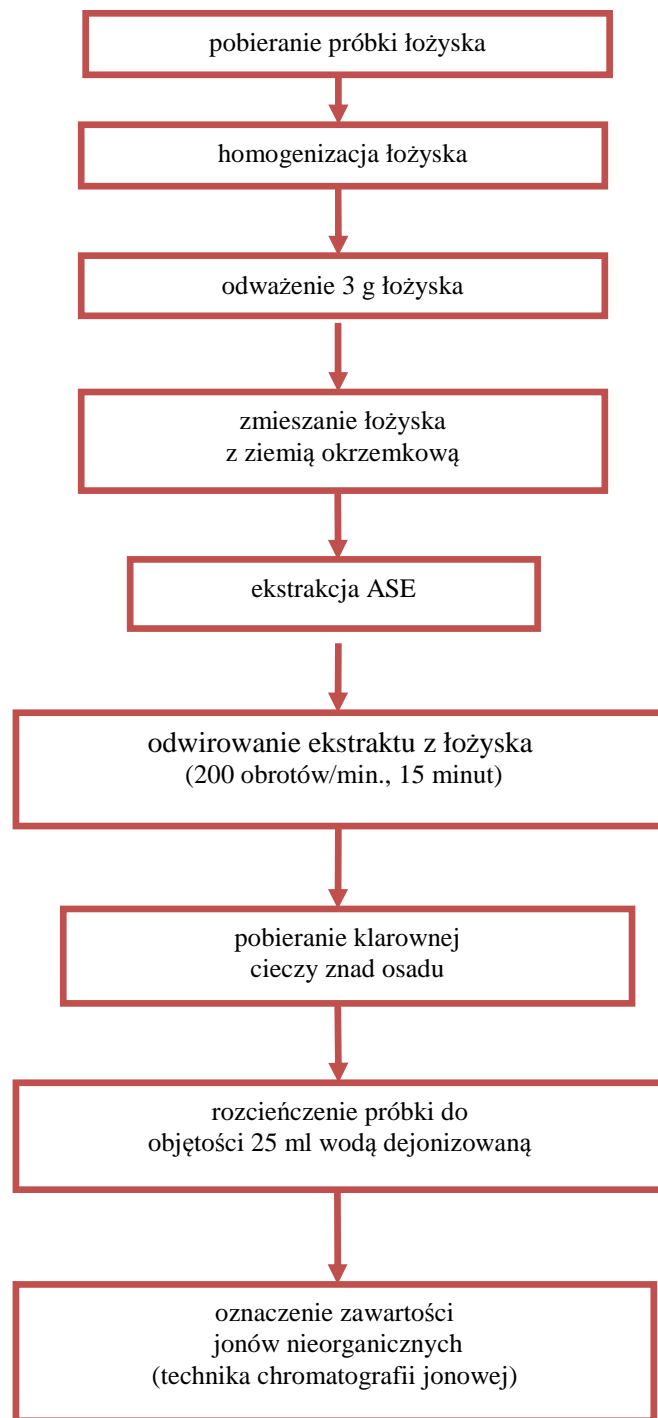
Rysunek 13 Informacje o przebiegu postępowania analitycznego oznaczania jonów nieorganicznych w próbkach moczu ludzkiego



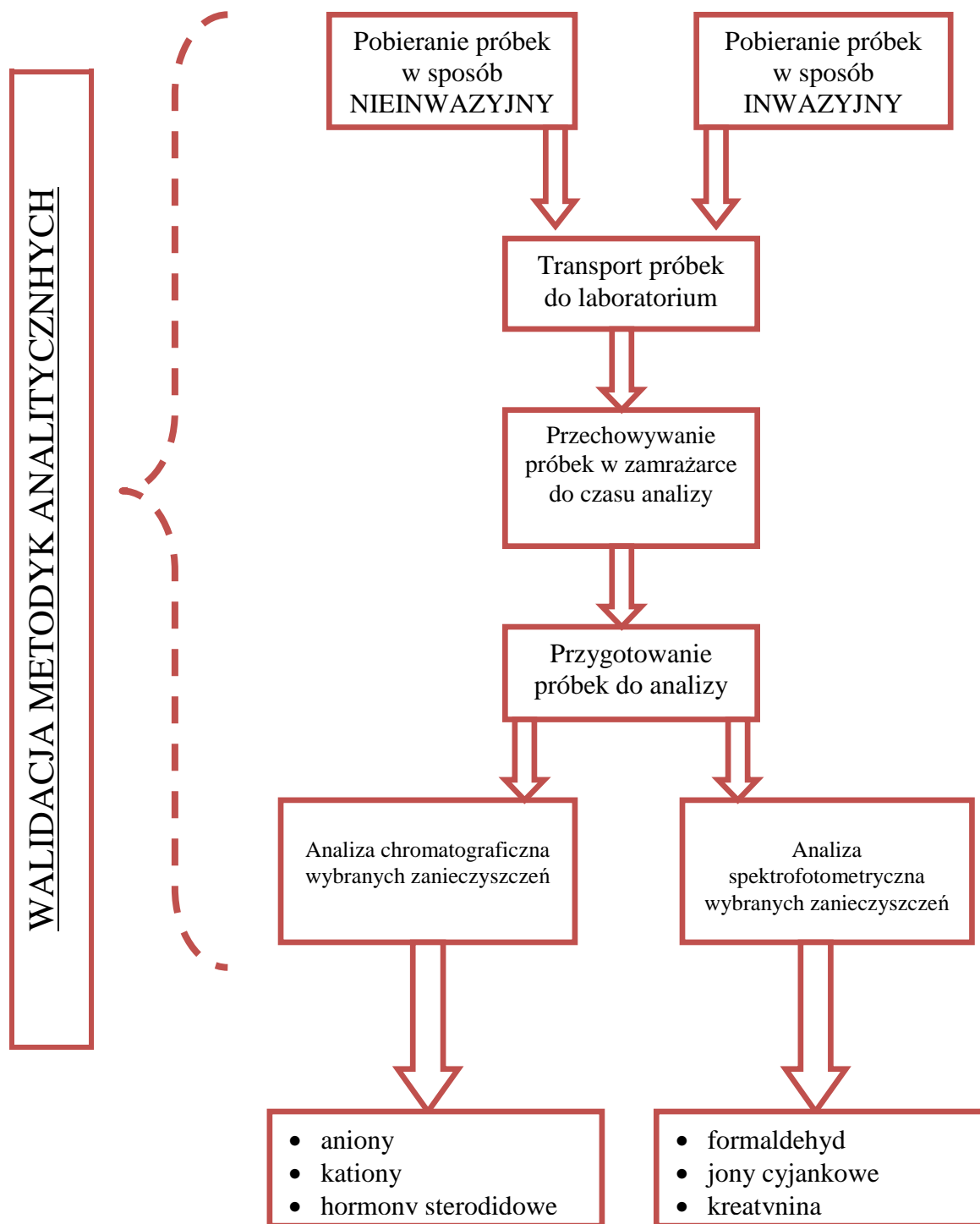
Rysunek 14 Informacje o przebiegu postępowania analitycznego oznaczania wybranych hormonów steroidowych w próbkach moczu



Rysunek 15 Informacje o przebiegu postępowania analitycznego oznaczania wybranych jonów nieorganicznych oraz formaldehydu w próbkach mleka, śliny, potu, wydzieliny z jam nosa, smółki i krwi



Rysunek 16 Informacje o przebiegu postępowania analitycznego oznaczania wybranych jonów nieorganicznych w próbkach łożyska



Rysunek 17 Ogólne informacje dotyczące pobierania i przygotowania próbek materiałów biologicznych do analizy za zawartość wybranych związków chemicznych

3.4.1 Dobór optymalnych warunków prowadzenia badań biomarkerów narażenia na związki obecne w dymie tytoniowym w materiałach biologicznych z wykorzystaniem technik chromatograficznych i spektrofotometrycznych

Na etapie wykrywania, identyfikacji i ilościowego oznaczania poziomów zawartości określonych jonów nieorganicznych w odpowiednio przygotowanych roztworach substancji wzorcowych oraz próbkach materiałów biologicznych wykorzystano chromatograf jonowy

wyposażony w detektor konduktometryczny, oraz chromatograf cieczowy wyposażony w detektor wyładowań koronowych. Informacje o optymalnych warunkach pracy chromatografu jonowego zebrano w Tabeli 11. W trakcie operacji dozowania próbek przygotowanych roztworów wzorcowych oraz próbek rzeczywistych do kolumny chromatograficznej, strzykawka każdorazowo płukana była wodą dejonizowaną. Operacje wykonywane były przez automatyczny podajnik próbek.

Na etapie wrywania oraz do ilościowego oznaczania wybranych jonów nieorganicznych zastosowano technikę wzorca zewnętrznego. Porównywano odpowiednio czas retencji określonego analitu występującego w mieszaninie substancji wzorcowych i w próbce (wykrywanie analitów), oraz powierzchnię piku określonej substancji wzorcowej o znanym stężeniu z powierzchnią piku tego samego analitu występującego w próbce (analiza ilościowa).

Tabela 11 Informacje o optymalnych parametrach pracy zestawu do chromatografii jonowej

Typ aparatu	Chromatograf jonowy ICS-3000 z automatycznym podajnikiem próbek	
Anality	Aniony	Kationy
Objętość dozowanej próbki	10 µl	5 µl
Skład eluentu	100% 4,5 mM CO ₃ ²⁻ 1,4 mM HCO ₃ ⁻ ,	30% 100 mM kwas metasulfonowy 70% woda dejonizowana
Natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej [ml/min]	0,3	0,36
Kolumna analityczna	kolumna AS22 (3x250 mm)	kolumna CS16 (3x250 mm)
Ciśnienie robocze	1600-2000 PSI	
Typ supresora	ASRS 300, 2 mm	CSRS 300, 2 mm
Natężenie prądu	13 mA	32 mA
Typ detektora	konduktometryczny	

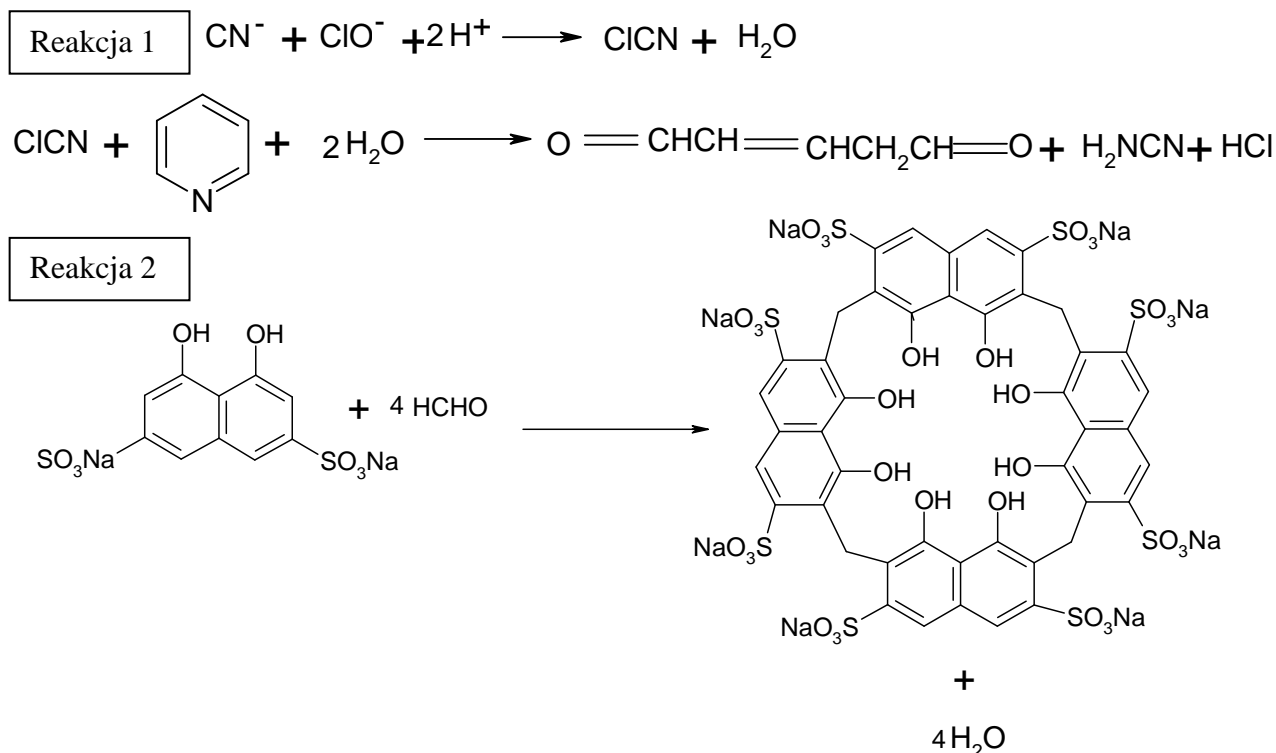
Jony cyjankowe oraz formaldehyd oznaczano z wykorzystaniem techniki spektrofometrycznej. Do tego celu wykorzystano dwie reakcje (Rysunek 18):

- reakcję König'a w przypadku jonów CN⁻;
- reakcję z kwasem chromotropowym w przypadku HCHO.

Mierzono wielkość absorpcji przy odpowiedniej długości fali, wynoszącej 495 nm dla jonów cyjankowych, oraz 570 nm dla formaldehydu.

Hormony steroidowe oznaczono ilościowo za pomocą wysokosprawnego chromatografu cieczowego wyposażonego w detektor Corona CAD. Jako fazę ruchomą wykorzystano mieszaninę trzech rozpuszczalników: wody dejonizowanej, acetonitrylu oraz kwasu trifluorooctowego. Proporcje mieszaniny elucyjnej ustalono tak, aby uzyskać stężenie końcowe TFA wynoszące 0,1%. Proces rozdzielania oznaczanych związków przeprowadzono

stosując elucję gradientową od 25 do 68% ACN przez 70 minut przy temperaturze kolumny 20 °C (elucja izokratyczna przy 32% ACN od 17 do 42 minut oraz przy 42% ACN od 45 do 55 minut). Przepływ fazy ruchomej wynosił 1 mL/min, objętość dozowanej próbki wynosiła 20 µL.



Rysunek 18 Schematyczne przedstawienie przebiegu reakcji jonów CN^- (reakcja 1) oraz HCHO (reakcja 2) podczas oznaczania spektrofotometrycznego

3.4.2 Dobór warunków oraz ocena efektywności ekstrakcji jonów nieorganicznych z próbek łożyska

W trakcie badań prowadzonych na tkance łożyska wykorzystano na etapie izolacji analitów z próbki technikę ekstrakcji przyspieszonej za pomocą rozpuszczalnika. Niezbędna była ocena efektywności procesu, do której przeprowadzenia zastosowano łożyska modelowe. W tym celu, wybrano takie próbki łożyska, w których oznaczone substancje występowały na niskich poziomach. Próbki (5 g) poddawano procesowi homogenizacji, następnie wprowadzano do nich mieszaninę wzorców o znanym stężeniu, i mieszano z ziemią okrzemkową, co miało wspomóc kontakt rozpuszczalnika z próbką. W ten sposób przygotowywano dwie serie, po dziesięć próbek w każdej z nich. Próbki umieszczano w celkach ekstrakcyjnych. Jako rozpuszczalnik wybrano wodę dejonizowaną. Jony nieorganiczne doskonale rozpuszczają się w wodzie, ponadto, jej stosowanie wyklucza

zużycie szkodliwych rozpuszczalników organicznych i jest zgodne z zasadami zielonej chemii.

Po umieszczeniu celek w automatycznym podajniku próbek do pamięci modułu sterującego pracą podajnika próbek wprowadzono informacje o różnych programach ekstrakcji. Różnice te dotyczyły:

- temperatury procesu ekstrakcji;
- liczby cykli przemywania próbki.

Ocenę efektywności przeprowadzono poprzez obliczenie odzysku analitów z próbek łożyska. W tym celu ekstrakty z łożyska poddano analizie na obecność wybranych jonów nieorganicznych. Do obliczenia odzysku wykorzystano zależność (1):

$$\text{odzysk} = \frac{C_{\text{obliczone}}}{C_{\text{rzeczywiste}}} * 100\% \quad (1)$$

gdzie: $c_{\text{rzeczywiste}}$ oznacza stężenie spodziewane, wynikające z ilości wprowadzonego wzorca.

Natomiast parametr cv obliczono korzystając z zależności (2):

$$cv = \frac{SD}{X_{\text{sr}}} * 100\% \quad (2)$$

gdzie: SD oznacza odchylenie standardowe;

X_{sr} oznacza średni odzysk.

Informacje o obliczonym odzysku poszczególnych analitów z modelowych próbek łożyska zestawiono w Tabeli 12.

Tabela 12 Informacje dotyczące odzysku analitów z próbek modelowych w wyniku zastosowania techniki ekstrakcji przyspieszonej za pomocą rozpuszczalnika

anality	PROGRAM „1” temp. 130°C, 1 cykl przemywania, t=ok. 9 min						PROGRAM „2” temp. 150°C, 2 cykle przemywania, t=ok. 16 min					
	powtórzenie 1 [%]	powtórzenie 2 [%]	powtórzenie 3 [%]	średnia wartość [%]	SD	cv	powtórzenie 1 [%]	powtórzenie 2 [%]	powtórzenie 3 [%]	średnia wartość [%]	SD	cv
F ⁻	76,8	83,3	54,7	71,6	12,2	17,1	93,2	87,7	101,2	94,0	5,5	5,9
Cl ⁻	85,3	96,5	91,2	91,0	4,6	5,0	100,7	88,4	89,2	92,8	5,6	6,1
NO ₂ ⁻	87,8	84,3	72,8	81,6	6,4	7,8	89,7	97,2	93,5	93,5	3,1	3,3
Br ⁻	101,4	78,9	82,3	87,5	9,9	11,3	78,9	96,2	92,1	89,1	7,4	8,3
NO ₃ ⁻	86,9	95,4	99,3	93,9	5,2	5,5	89,3	102,5	100,2	97,3	5,8	5,9
PO ₄ ³⁻	92,7	94,5	78,3	88,5	7,2	8,2	100,2	93,7	96,2	96,7	2,7	2,8
SO ₄ ²⁻	100,4	96,2	97,1	97,9	1,8	1,8	93,8	98,2	93,1	95,0	2,3	2,4
SCN ⁻	79,8	87,1	86,2	84,4	3,2	3,9	90,1	95,1	92,8	92,7	2,0	2,2
Na ⁺	89,1	103,6	86,2	93,0	7,6	8,2	101,4	89,4	89,3	93,4	5,7	6,1
NH ₄ ⁺	86,8	83,1	90,8	86,9	3,1	3,6	87,9	93,1	94,7	91,9	2,9	3,2
K ⁺	76,7	87,6	84,1	82,8	4,5	5,5	89,2	95,7	92,1	92,3	2,7	2,9
Mg ²⁺	92,8	94,5	88,5	91,9	2,5	2,7	92,1	99,3	96,4	95,9	3,0	3,1
Ca ²⁺	100,2	83,6	89,3	91,0	6,9	7,6	95,2	87,9	94,7	92,6	3,3	3,6

Z uzyskanych danych wynika, że jedynie w przypadku jonów SO_4^{2-} odzysk był lepszy w przypadku zastosowania warunków ekstrakcji zapisanych w programie „1”. Porównując średnie odzyski pozostałych związków można zauważyć, iż jest on większy w przypadku programu „2”, dlatego też ekstrakcję próbek rzeczywistych prowadzono w temp. 150°C (w tej temperaturze woda znajduje się w stanie podkrytycznym, dzięki wysokiemu ciśnieniu robocznemu, co z kolei podwyższa efektywność procesu ekstrakcji) i przy dwóch cyklach przemywania próbek za pomocą rozpuszczalnika.

3.5 Parametry walidacyjne metodyk analitycznych wykorzystywanych stosowanych do oznaczania wybranych zanieczyszczeń w próbkach materiałów biologicznych pochodzących od człowieka

W celu zapewnienia odpowiedniego poziomu kontroli oraz dla zapewnienia jakości wyników analitycznych, przeprowadzono proces walidacji metodyki oznaczania wybranych jonów wskaźnikowych w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka.

Walidację rozpoczęto od etapu kalibracji układów pomiarowych. W celu sporządzenia krzywych kalibracyjnych przygotowano serię wodnych roztworów substancji wzorcowych, w których stężenie poszczególnych jonów wynosiło odpowiednio: 0,01; 0,025; 0,05; 0,075; 0,10; 0,25; 0,5; 1,0; 5,0; 7,5; 10; 25; 50; 75; 100; 250; 500; 750; 1000 mg/L. Próbki sporządzonych roztworów poddawano analizie chromatograficznej wykonując po trzy równoległe analizy dla każdego roztworu. Następnie, na podstawie uzyskanych danych wyznaczone zostały krzywe kalibracyjne przedstawiające wykres zależności między powierzchnią piku określonego jonu, a jego stężeniem w roztworze substancji wzorcowych. Na podstawie uzyskanych krzywych kalibracyjnych wyznaczono:

- wartości liczbowe współczynniki regresji (świadczące o liniowości metody w danym zakresie stężeń);
- podstawowe parametry walidacyjne wykorzystywanych metodyk takie jak:
 - granica wykrywalności (IDL) oraz granica oznaczalności (IQL)

Granica wykrywalności to najmniejsza zawartość analitu, która może zostać wykryta przy zastosowaniu danej procedury analitycznej, natomiast granica oznaczalności, jest to najmniejsze stężenie substancji, które może zostać ilościowo oznaczone przy zastosowaniu danej procedury analitycznej. Do obliczenia granicy wykrywalności wykorzystano następującą zależność (3):

$$IDL = \frac{3,3 \times s}{a} \quad (3)$$

gdzie:

-,s” to odchylenie standardowe współczynnika odpowiedzi detektora przy najmniejszym stężeniu poszczególnych jonów;

-,a” to współczynnik kierunkowy krzywej kalibracyjnej.

Wartość liczbowa parametru „granica oznaczalności” obliczono na podstawie zależności (4):

$$IQL=3 \times IDL \quad (4)$$

- powtarzalność (czyli stopień zgodności wyników kolejnych pomiarów, uzyskanych dla danej serii pomiarowej, jej miarą jest wartość odchylenia standardowego dla pomiarów przeprowadzanych w krótkim czasie)
- precyzja pośrednia (wyznaczana na podstawie wartości odchylenia standardowego dla serii pomiarów przeprowadzonych w kilkutygodniowym okresie)

Dla opracowanej procedury oznaczania jonów nieorganicznych w próbkach ekstraktów z łożyska wartości liczbowe granicy wykrywalności (MDL) i granicy oznaczalności (MQL) obliczono wykorzystując zależności (5,6):

$$MDL=IDL/EF \quad (5)$$

$$MQL=IQL/EF \quad (6)$$

Dla opracowanych procedur oznaczania jonów nieorganicznych w próbkach wydzieliny z jamy nosa, potu, moczu, śliny, smółki, krwi i mleka obliczone parametry IDL i IQL spełniają zależności (7,8):

$$IDL=MDL \quad (7)$$

$$IQL=MQL \quad (8)$$

Granica oznaczalności dla procedury oznaczania jonów cyjankowych oraz formaldehydu z wykorzystaniem techniki spektrofotometrycznej została wyznaczona przy użyciu metody ślepej próbki. Wartości liczbowe parametru MDL zostały obliczone na podstawie zależności (9):

$$MDL = x_{\text{średnie}} + 3S \quad (9)$$

gdzie: S to odchylenie standardowe.

Precyzja została wyliczona korzystając z zależności (10):

$$cv = \frac{RSD}{x_{\text{średnie}}} * 100\% \quad (10)$$

gdzie: RSD oznacza względne odchylenie standardowe.

W Tabeli 13 zebrano informacje o parametrach walidacyjnych odpowiednich procedur analitycznych oznaczania wybranych jonów i związków chemicznych w których wykorzystano techniki chromatograficzne i spektrofotometryczne.

Tabela 13 Parametry walidacyjne oznaczania wybranych związków chemicznych z wykorzystaniem procedury opartej na zastosowaniu techniki spektrofotometrycznej

Związek chemiczny	Parametry walidacyjne oznaczania wybranych związków techniką spektrofotometryczną									
	Równanie krzywej kalibracyjnej	Współczynnik korelacji (r)	MDL	Precyzja [%]	Rozszerzona niepewność					
HCHO	y=1.23x+0.010	0.996	50 µg/L	5	10					
CN ⁻	y=52.079x-0.4775	0.995	2 µg/L	5	10					
Hormony	Parametry walidacyjne oznaczania wybranych związków techniką chromatografii cieczowej									
	Odchylenie standardowe [ng/mL]	Rozszerzona niepewność [ng/mL]	Precyzja CV [%]	LOD [ng/mL]	LOQ [ng/mL]					
F	0,147	0,17	17,725	0,1	0,3					
E	0,092	0,099	9,860	0,1	0,3					
THF	0,310	0,080	7,983	0,1	0,3					
THE	0,084	0,123	12,306	0,1	0,3					
Parametry walidacyjne oznaczania wybranych związków techniką chromatografii jonowej										
Jony nieorganiczne	MDL ¹	MLQ ¹	MDL ²	MLQ ²	Współczynnik regresji krzywej kalibracyjnej w zakresie stężeń [mg/l]			Rozszerzona niepewność	MDL ¹ *	MDL ² *
	[mg/dm ³]				0,1-1,0	10-100	100-1000	[%]	[mg/g]*10 ⁻⁵	
F ⁻	0,0075	0,0220	0,0080	0,0234	0,9987	0,9988	0,9997	10	0,75	2,20
Cl ⁻	0,0064	0,0190	0,0069	0,0205	0,9992	0,9986	0,9987	10	0,64	1,90
NO ₂ ⁻	0,0065	0,0200	0,0070	0,0214	0,9971	0,9989	0,9979	10	0,65	2,00
Br ⁻	0,0095	0,0280	0,0107	0,0314	0,9993	0,9997	0,9991	10	0,95	2,80
NO ₃ ⁻	0,0130	0,0390	0,0134	0,0401	0,9995	0,9984	0,9997	10	0,13	3,90
PO ₄ ³⁻	0,0110	0,0320	0,0114	0,0331	0,9993	0,9993	0,9998	10	0,11	3,20
SO ₄ ²⁻	0,0099	0,0300	0,0104	0,0316	0,9989	0,9997	0,9986	10	0,99	3,00
SCN ⁻	0,0097	0,0300	0,0105	0,0324	0,9989	0,9987	0,9985	10	0,97	3,00
Na ⁺	0,0190	0,0580	0,0203	0,0621	0,9998	0,9986	0,9992	10	0,19	5,80
NH ₄ ⁺	0,0074	0,0220	0,0081	0,0239	0,9979	0,9985	0,9983	10	0,74	0,22
K ⁺	0,0060	0,0180	0,0065	0,0195	0,9989	0,9997	0,9993	10	0,60	0,18
Mg ²⁺	0,0077	0,0230	0,0080	0,0240	0,9997	0,9995	0,9986	10	0,77	2,30
Ca ²⁺	0,009	0,027	0,0098	0,0292	0,9998	0,9994	0,9997	10	0,90	2,70

¹parametry wyznaczone dla oznaczania jonów nieorganicznych w próbkach: moczu, śliny, potu, wydzielin z jamy nosa, mleka, krwi i smółki

²parametry wyznaczone dla oznaczania jonów nieorganicznych w próbkach ekstraktów z łożyska

*parametry wyznaczone przy założeniu średniej gęstości próbek materiałów biologicznych 1,000 g/dm³

3.6. Zawartość wybranych zanieczyszczeń w próbkach materiałów biologicznych pobranych od aktywnych palaczy, biernych palaczy oraz grupy kontrolnej wraz z analizą statystyczną i chemometryczną zbiorów wyników

Po pobraniu i odpowiednim przygotowaniu próbek materiałów biologicznych pochodzących od dawców w różnym stopniu narażonych na działanie dymu tytoniowego przeprowadzono analizę na zawartość poszczególnych zanieczyszczeń, w tym biomarkerów narażenia na składniki dymu tytoniowego. W Tabeli 14 zebrano informacje dotyczące parametrów chemicznych oznaczanych w poszczególnych materiałach biologicznych.

Stężenia poszczególnych zanieczyszczeń oznaczonych w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka w różnym stopniu narażonego na substancje obecne w dymie tytoniowym zostały wyrażone w miligramach analitu na gram próbki [mg/g]. Taka forma wyrażania stężenia zanieczyszczeń pozwala na jednoczesną ocenę zagrożenia wynikającego z narażenia człowieka na substancje szkodliwe obecne w dymie tytoniowym. Ponadto, wyrażenie stężenia obecnego w gramie pobranego materiału biologicznego umożliwia uzyskanie bardziej wiarygodnych informacji o stopniu narażenia na szkodliwe składniki dymu tytoniowego.

Stężenie związków chemicznych obecnych w moczu, wyrażone zostało w mg/mg kreatyniny. Wynika to z faktu, że stężenie wielu oznaczanych w moczu substancji jest zależne od wielkości diurezy, ta z kolei ulegać może znacznym wahaniom. W związku z tym, zalecane jest stosowanie metod standaryzacyjnych, które mają na celu ukazanie najlepszej korelacji pomiędzy wielkością ekspozycji a wydalaniem substancji lub jej metabolitu z organizmu.

W trakcie oznaczania wybranych substancji w materiałach biologicznych wykonano trzy powtórzenia każdego pomiaru. Podane wyniki są średnią wyników wszystkich równoległych pomiarów obliczoną dla wszystkich wykonanych powtórzeń dla danej próbki.

Tabela 14 Informacje o parametrach chemicznych oznaczanych w poszczególnych materiałach biologicznych

parametr chemiczny	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	HCHO	CN ⁻	F	E	THF	THE
wydzielina z jam nosa	✓	✓	✓	✓	✓			✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓				
mocz	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓	✓	✓	✓
ślina pobrana od studentów	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
pot	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
ślina pobrana od kobiet w ciąży	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓					
mleko	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓						
łożysko	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓						
krew żylna	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓						
smółka	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							

3.6.1 Wydzielina z jam nosa

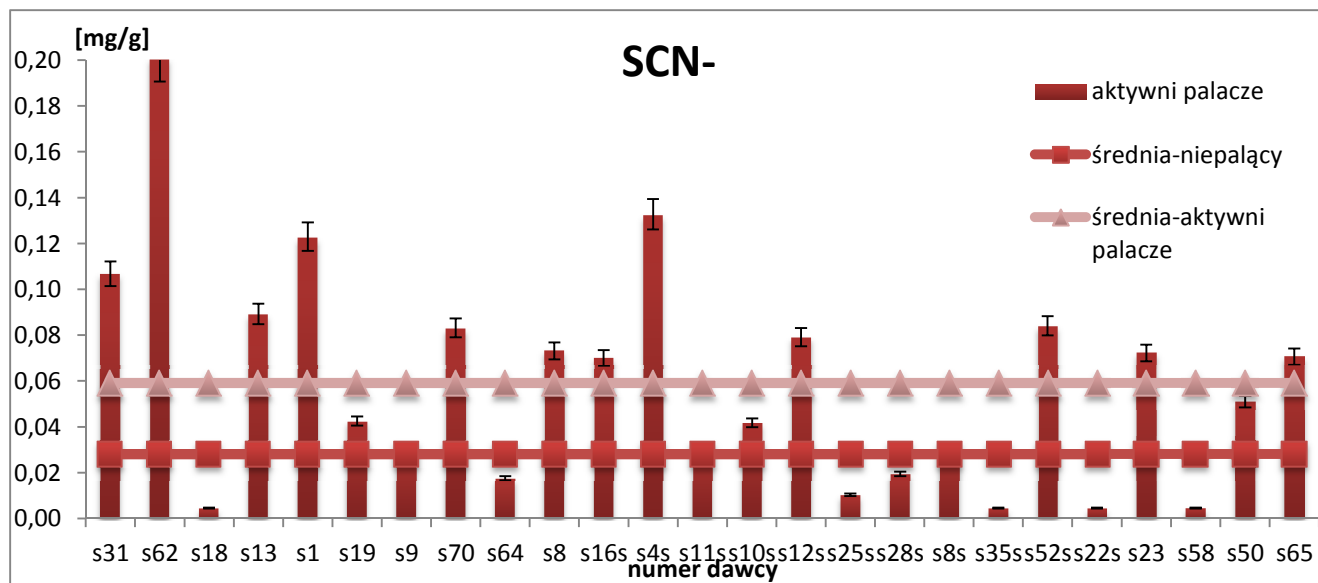
W Tabeli 15 podano informacje o zakresach stężeń poszczególnych analitów oznaczonych w próbkach wydzieliny z jam nosa, odchyleniu standardowym oraz o częstości występowania danego składnika w próbce (f-wyrażone w procentach).

Na Rysunku 19 przedstawiono informacje o stężeniu jonów rodankowych, biomarkera narażenia na składniki dymu tytoniowego, oznaczonym w próbkach pobranych od osób palących tytoń, oraz informacje o średnim stężeniu tych jonów oznaczonym w próbkach pobranych od osób należących do grupy kontrolnej. Na kolejnym Rysunku 20 przedstawiono informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w badanych próbkach.

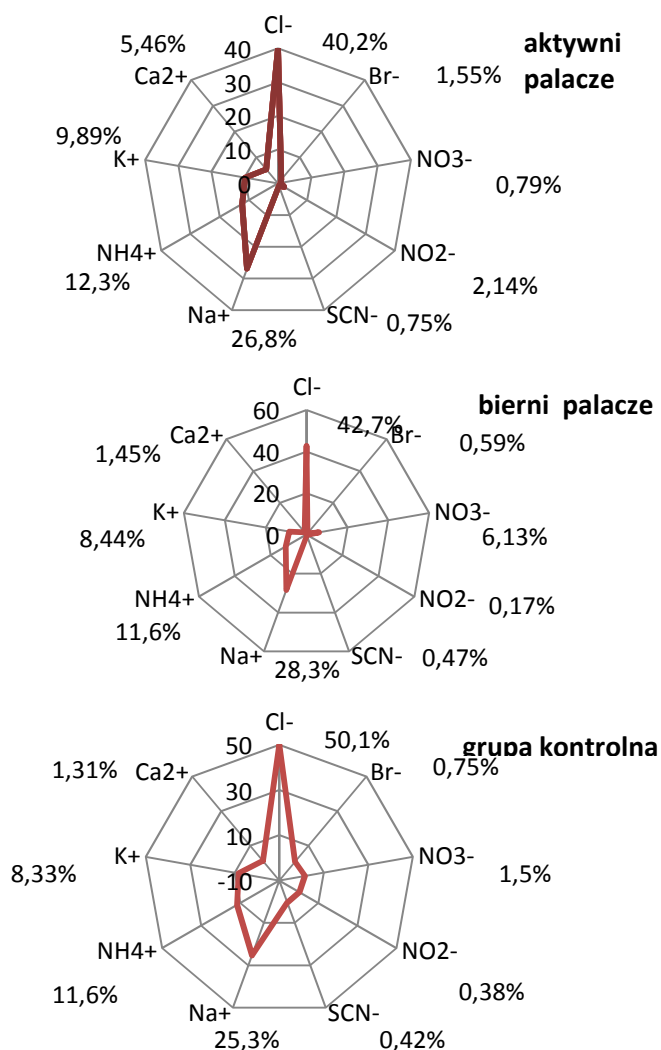
Tabela 15 Informacje o wynikach uzyskanych podczas oznaczania wybranych jonów w próbkach wydzieliny z jam nosa.

aktywni palacze									
	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
SD	2,173	0,397	0,148	0,687	0,047	1,310	1,329	0,556	0,705
Zakres stężeń [mg/g]	0,005-8,946	0,005-2,033	0,009-0,685	0,0053-0,528	0,005-0,201	0,031-5,808	0,005-5,786	0,127-2,338	0,005-2,556
Średnia [mg/g]	3,19	0,12	0,06	0,17	0,06	2,13	0,97	0,78	0,43
f [%]	92	44	100	40	84	100	80	100	96
bierni palacze									
	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
SD	2,79	0,092	1,601	0,031	0,067	2,592	0,953	0,536	0,134
Zakres stężeń [mg/g]	0,904-10,5	0,005-0,327	0,009-4,84	0,005-0,12	0,005-0,24	0,062-9,90	0,127-3,40	0,235-1,94	0,005-0,438
Średnia [mg/g]	4,51	0,06	0,65	0,02	0,05	2,99	1,22	0,89	0,15
f [%]	100	57	100	36	57	100	100	100	93
grupa kontrolna									
	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
SD	1,510	0,092	0,337	0,032	0,027	0,833	0,812	0,274	0,123
Zakres stężeń [mg/g]	0,005-5,17	0,005-0,35	0,009-1,28	0,005-0,086	0,003-0,082	0,571-3,02	0,005-2,32	0,098-1,07	0,005-0,38
Średnia [mg/g]	3,39	0,05	0,11	0,03	0,03	1,71	0,78	0,56	0,09
f [%]	93	57	100	50	64	100	79	100	57

SD-odchylenie standardowe



Rysunek 19 Informacje o stężeniu jonów rodankowych w próbkach pobranych od osób palących tytoń oraz o średnim stężeniu tych jonów w próbkach pobranych od osób z grupy kontrolnej



Rysunek 20 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach wydzieliny z jamy nosa

Z wyników zebranych w Tabeli 15 oraz przedstawionych poglądowo na Rysunkach 19 i 20 można wysnuć następujące wnioski:

- średnie stężenie jonów rodankowych oznaczonych w próbkach wydzieliny z jam nosa pobranych od osób palących tytoń było dwukrotnie większe w porównaniu do średniego stężenia tego samego analitu w próbkach pobranych od osób z grupy kontrolnej;
- jony rodankowe oznaczono w większej ilości próbek pobranych od osób palących tytoń w porównaniu z próbkami pobranymi od osób z pozostałych grup dawców próbek;
- procentowy udział jonów rodankowych w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach wydzieliny z jam nosa był większy w przypadku próbek pobranych od osób palących oraz od osób biernie palących w porównaniu z grupą kontrolną;
- w próbkach wydzieliny z jam nosa pobranych od osób palących tytoń największe były stężenia jonów Br^- , NO_2^- oraz Ca^{2+} , a najmniejsze jonów NO_3^- .

Dla stężenia jonów oznaczonych w próbkach wydzieliny z jam nosa obliczono współczynniki korelacji Pearsona. Korelacja jest miarą powiązania. Do obróbki danych analitycznych zastosowano program *Statistica*. Informacje o wartościach liczbowych współczynnikach zebrano w Tabeli 16. Pogrubioną czcionką zaznaczono wartości wskazujące na występowanie wzajemnych relacji pomiędzy stężeniami jonów. Korelację zauważa się przy wartości liczbowej współczynnika $\pm 0,5$. Dodatnia wartość oznacza zależność tego typu, że gdy wartości jednej zmiennej wykazują tendencję wzrastającą, również wartości drugiej zmiennej wykazują taką tendencję. Ujemna wartość liczbowa współczynnika oznacza, iż w przypadku gdy jedna zmienna wykazuje tendencję malejącą, również wartości drugiej zmiennej maleją.

Z informacji zawartych w Tabeli 16 wynika, iż największe wartości liczbowe współczynnika korelacji występują pomiędzy: jonami SCN^- a jonami: Cl^- , NO_2^- w grupie kontrolnej;

- NH_4^+ , K^+ , Br^- i NO_2^- w grupie biernych palaczy,
- NH_4^+ , Ca^{2+} w grupie palaczy.
- duże wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono także między jonami Cl^- a jonami: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} w grupie kontrolnej, oraz K^+ , Ca^{2+} w grupie biernych palaczy.

W celu uzyskania dokładniejszych informacji dotyczących możliwości wykorzystania poszczególnych analitów jako biomarkery narażenia na składniki dymu tytoniowego przeprowadzono analizę chemometryczną uzyskanych zbiorów danych pomiarowych.

Chemometria stanowi narzędzie umożliwiające ocenę stanu środowiska, i pomaga wyjaśnić zależności pomiędzy grupami analitów oznaczonymi w danym obszarze (materiale biologicznym) [106,107]. W tym celu wykorzystana została analiza klastrow. Aby przeprowadzić analizę klastrow stworzono hierarchiczny diagram związkowy złożony z wyników uzyskanych dla wszystkich grup dawców (Rysunek 21). Na Rysunku 22 przedstawiono informacje o hierarchicznym diagramie związkowym złożonym z wyników uzyskanych dla poszczególnych parametrów chemicznych.

Tabela 16 Informacje o wartościach liczbowych współczynników korelacji obliczonych na podstawie oznaczonych stężeń poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach wydzieliny z jam nosa

Grupa kontrolna									
	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	SCN ⁻
Na ⁺	1.00								
NH ₄ ⁺	n.d.	1.00							
K ⁺	0.80	0.11	1.00						
Ca ²⁺	0.48	0.21	0.41	1.00					
Cl ⁻	0.74	0.29	0.84	0.57	1.00				
Br ⁻	-0.14	-0.15	-0.12	0.06	0.12	1.00			
NO ₃ ⁻	-0.37	-0.27	-0.40	-0.14	-0.37	-0.15	1.00		
NO ₂ ⁻	0.16	0.42	0.44	0.62	0.63	n.d.	-0.16	1.00	
SCN ⁻	0.33	0.42	0.52	0.51	0.63	-0.12	-0.28	0.90	1.00
Bierni palacze									
	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	SCN ⁻
Na ⁺	1.00								
NH ₄ ⁺	n.d.	1.00							
K ⁺	-0.06	0.65	1.00						
Ca ²⁺	0.26	-0.25	-0.19	1.00					
Cl ⁻	0.17	0.39	0.51	-0.53	1.00				
Br ⁻	-0.44	0.28	0.16	-0.12	-0.19	1.00			
NO ₃ ⁻	-0.39	-0.02	0.25	0.43	-0.35	0.39	1.00		
NO ₂ ⁻	-0.29	0.60	0.39	-0.16	0.04	0.34	-0.19	1.00	
SCN ⁻	-0.29	0.68	0.51	-0.29	0.18	0.62	0.02	0.79	1.00
Aktywni palacze									
	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	SCN ⁻
Na ⁺	1.00								
NH ₄ ⁺	-0.15	1.00							
K ⁺	0.20	0.47	1.00						
Ca ²⁺	-0.05	0.15	0.58	1.00					
Cl ⁻	0.07	0.29	0.41	0.05	1.00				
Br ⁻	-0.07	0.23	0.20	0.02	0.29	1.00			
NO ₃ ⁻	-0.15	0.04	0.00	0.10	0.05	-0.12	1.00		
NO ₂ ⁻	0.21	-0.08	-0.06	-0.09	-0.29	-0.06	-0.07	1.00	
SCN ⁻	-0.19	0.70	0.48	0.67	0.17	0.32	0.07	-0.11	1.00

Uzyskane wyniki wskazują na istnienie co najmniej trzech czynników wpływających na zawartości poszczególnych jonów w próbkach wydzieliny z jam nosa. Są to:

- "czynnik palenia"- do którego należą jony SCN⁻, NH₄⁺
- "czynnik soli"- do którego należą jony Cl⁻, Na⁺

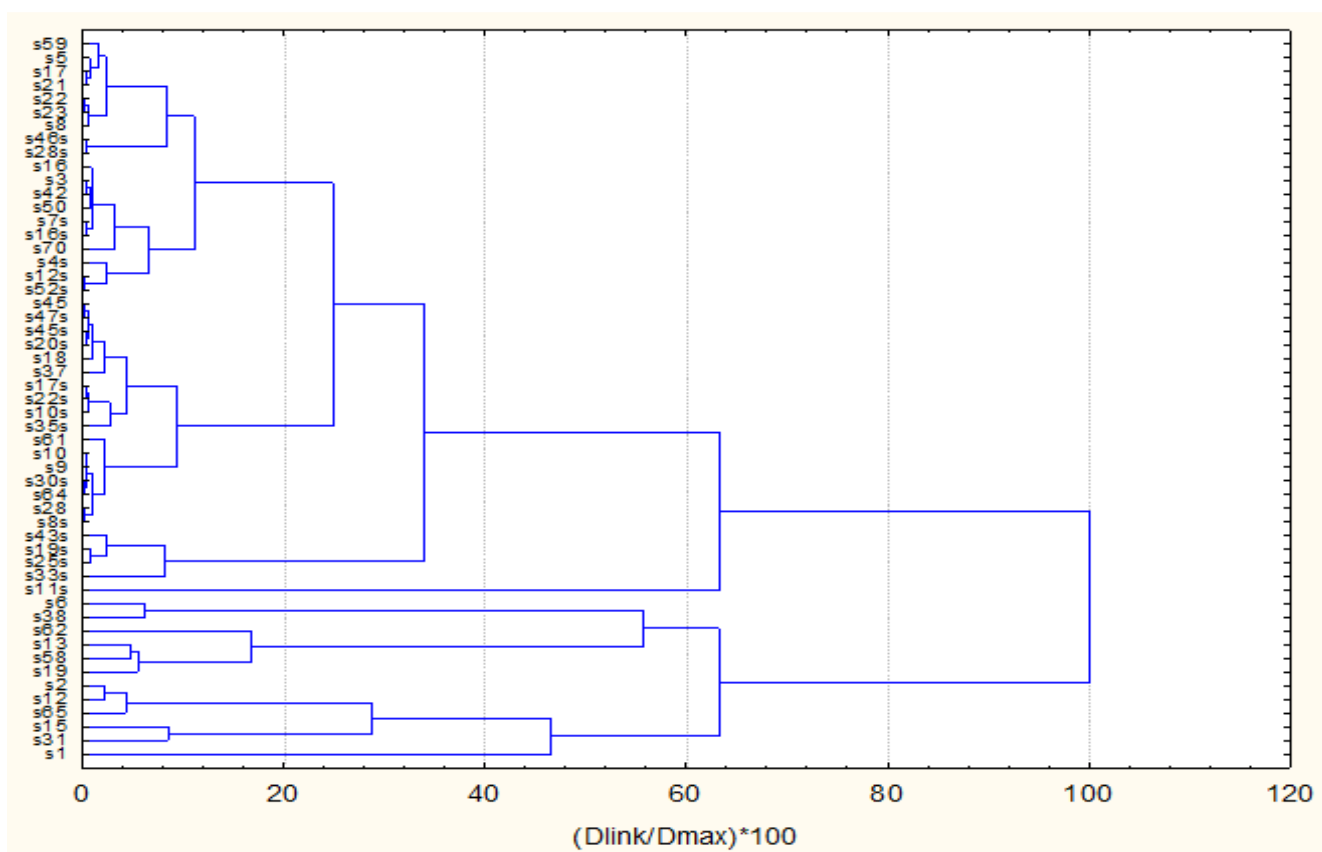
- "czynnik płynów"- do którego należą jony Ca^{2+} , K^+

Jony należące do grupy "czynników soli" umożliwiają rozróżnienie grupy osób biernie palących od grupy kontrolnej (ich stężenia są większe w przypadku próbek pobranych od osób z grupy biernych palaczy). Natomiast na rozdzielenie osób należących do grupy osób aktywnie palących wpływ mają jony SCN^- , Ca^{2+} , Br^- i NO_2^- , które występują na wyższym poziomie. Również stężenie jonów NH_4^+ występuje na stosunkowo dużym poziomie w próbkach pobranych od aktywnych palaczy, co oznacza, że w przypadku tej grupy dawców, decydującą rolę odgrywają jony należące do grupy "czynnika palenia". Ponadto, na podstawie wyników tej analizy można stwierdzić, że aktywność palenia tytoniu ma bezpośredni wpływ na skład płynu fizjologicznego, jakim jest wydzielina z jam nosa.

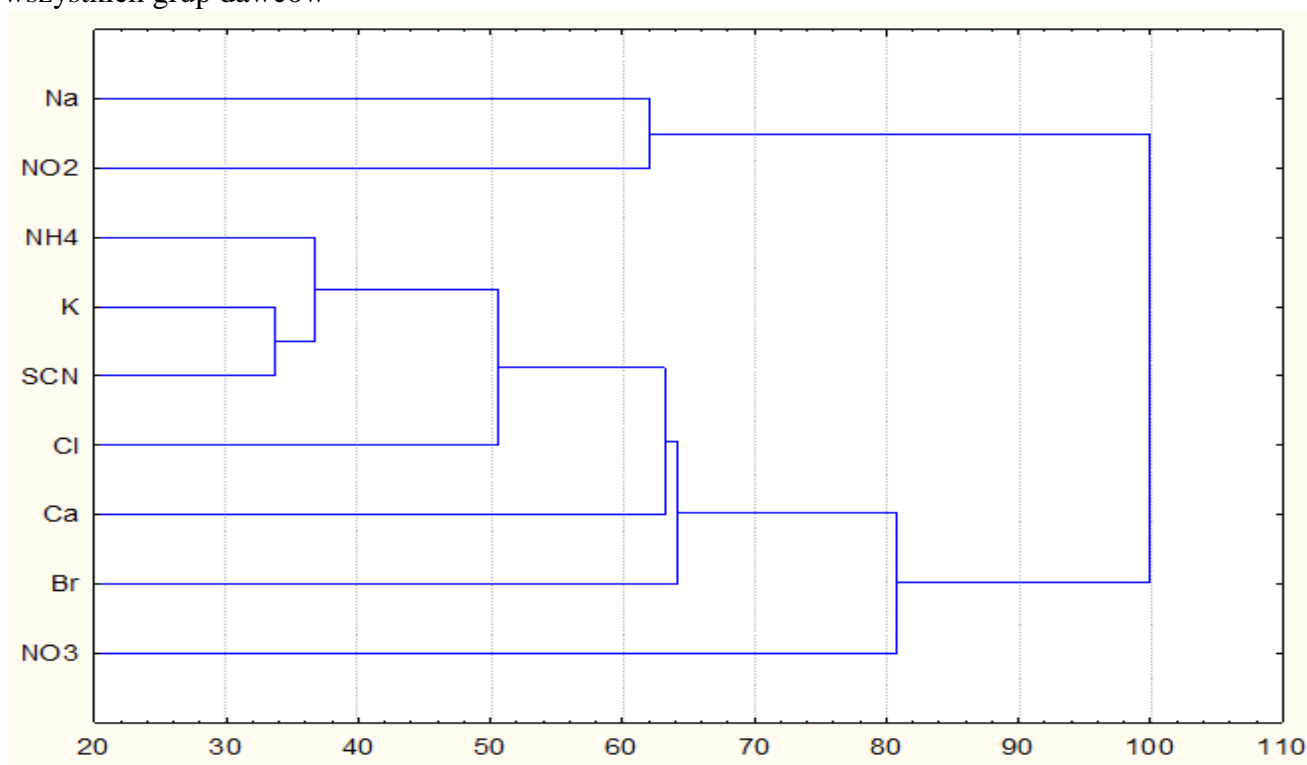
W próbkach wydzieliny z jam nosa oznaczono również zawartość jonów CN^- (prekursor jonów SCN^-) oraz formaldehyd (który jest traktowany jako zanieczyszczenie, i dodawany jest do wyrobów tytoniowych). W Tabeli 17 zebrano informacje o średnich wartościach obu związków oznaczonych w próbkach pobranych od osób należących do różnych grup dawców. Analiza zbiorów danych pomiarowych prowadzi do wniosku, że stężenie tych związków było największe w przypadku próbek pobranych od osób palących wyroby tytoniowe. Ponadto pozwala zauważyć, że średnie stężenie jest dwukrotnie wyższe w również w przypadku grupy osób biernie palących w porównaniu do wyników oznaczeń w próbkach wydzieliny z jam nosa pobranych od osób z grupy kontrolnej.

Tabela 17 Informacje o stężeniu jonów CN^- oraz HCHO oznaczonym w próbkach wydzieliny z jam nosa

	$\text{HCHO} \cdot 10^{-3} [\text{mg/g}]$	$\text{CN}^- \cdot 10^{-3} [\text{mg/g}]$
Grupa kontrolna		
Średnie stężenie	7,09	1,21
Maksymalne oznaczone stężenie	14,9	5,01
SD	6,4	1,5
Bierni palacze		
Średnie stężenie	20,0	1,22
Maksymalne oznaczone stężenie	102	3,86
SD	31	1,0
Aktywni palacze		
Średnie stężenie	20,3	8,70
Maksymalne oznaczone stężenie	57,2	74,4
SD	1,4	1,5



Rysunek 21 Hierarchiczny diagram związkowy złożony z wyników uzyskanych dla wszystkich grup dawców



Rysunek 22 Hierarchiczny diagram związkowy złożony z wyników uzyskanych dla poszczególnych parametrów chemicznych

W trakcie analizy uzyskanych wyników, pod uwagę wzięto informacje zamieszczone przez dawców próbek w ankietach osobowych. Analizie poddano takie następujące czynniki:

- płeć dawców;
- wiek dawców;
- liczbę wypalanych dziennie papierosów;
- przyjmowane lekarstwa;
- marka palonych papierosów.

Najmniejsze stężenie jonów rodankowych oznaczono w próbce pobranej od osoby palącej papierosy marki *L&M*, największe w próbce pobranej od osoby palącej papierosy marki *Marlboro*. Średnie stężenie jonów rodankowych w próbkach pobranych od osób palących wynosi 0,06 mg/g. Rozkład poziomą zawartości tych jonów w próbkach pobranych od osób palących poszczególne marki papierosów wskazuje na brak wpływu marki papierosów na obecność jonów rodankowych w próbce (oznaczone stężenia były zarówno większe jak i mniejsze od średniej wartości jonów rodankowych oznaczonych w próbkach wydzieliny z jam nosa).

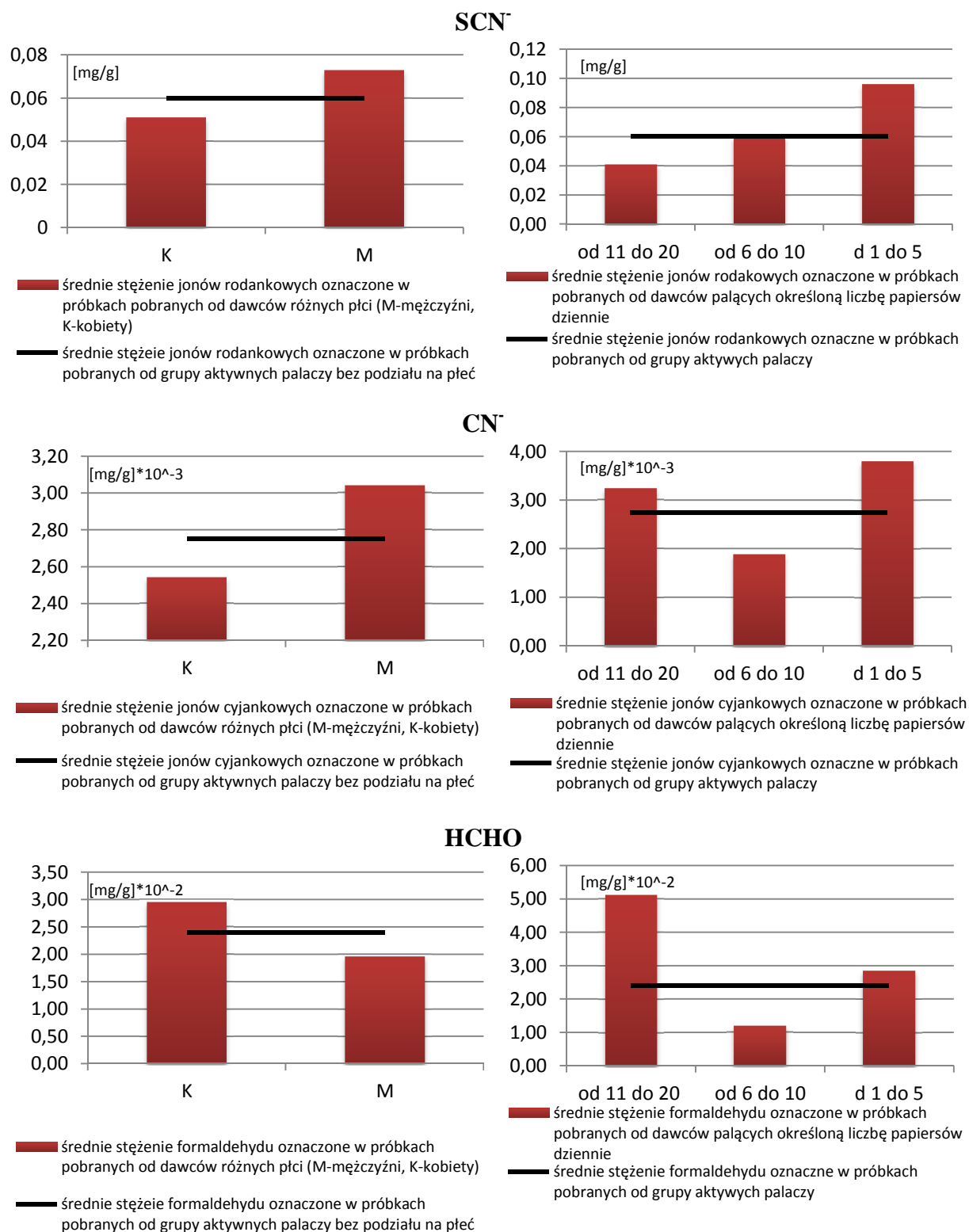
Z analizy informacji dotyczących płci dawców wynika, że największe stężenie jonów rodankowych oznaczono w próbkach pobranych od mężczyzn (Rysunek 23). Zależność ta występuje również w przypadku jonów cyjankowych, natomiast w przypadku formaldehydu, stężenie tego średnie stężenie tego związku było większe w przypadku próbek pobranych od kobiet.

Niemal 90% próbek wydzieliny z jam nosa pobrano od osób w wieku od 21 do 30 lat, dlatego nie analizowano wpływu wieku na stężenie poszczególnych zanieczyszczeń.

Gdy pod uwagę wzięta została ilość wypalanych dziennie papierosów, stężenie jonów rodankowych było tym większe, im mniej papierosów dziennie wypalał dawca (Rysunek 23). W przypadku jonów cyjankowych, największe średnie stężenie tych jonów oznaczono również w przypadku osób palących od 1 do 5 papierosów dziennie, jednak duże stężenie tych jonów oznaczono również w próbkach osób palących od 11 do 20 papierosów dziennie. Największe średnie stężenie formaldehydu oznaczono w próbkach pobranych od osób palących od 11 do 20 papierosów dziennie. Duże stężenie tego związku oznaczono również w próbkach pobranych od osób wypalających od 1 do 5 papierosów dziennie.

Kilkoro dawców zadeklarowało w ankietach przyjmowanie w ostatnim czasie leków na przeziębienie takich jak *Aspiryna* czy *Gripex* jednak nie zanotowano wpływu tych leków na stężenie poszczególnych związków oznaczanych w trakcie badań. Również pora dnia w

której wypalana jest największa ilość papierosów nie miała wpływu na wysokość stężenia zanieczyszczeń pochodzących z dymu tytoniowego w próbkach wydzieliny z jam nosa.



Rysunek 23 Informacje o średnim stężeniu SCN⁻, CN⁻, i HCHO oznaczonym w próbkach wydzieliny z jam nosa w zależności od płci oraz liczby wypalanych dziennie papierosów

3.6.2 Mocz

W Tabeli 18 podano informacje o zakresach stężeń poszczególnych analitów oznaczonych w próbkach moczu, odchyleniu standardowym oraz o częstości występowania danego składnika w próbce (f-wyrażone w procentach).

Na Rysunku 24 przedstawiono informacje o stężeniu jonów rodankowych, biomarkera narażenia na składniki dymu tytoniowego, oznaczonym w próbkach pobranych od osób palących tytoń, oraz informacje o średnim stężeniu tych jonów oznaczonym w próbkach pobranych od osób należących do grupy kontrolnej. Na Rysunku 25 przedstawiono informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w badanych próbkach. Z wyników zebranych w Tabeli 18 oraz przedstawionych poglądowo na Rysunkach 24 i 25 można wysnuć następujące wnioski:

- średnie stężenie jonów rodankowych było większe w przypadku próbek pobranych od osób należących do grupy aktywnych palaczy, niż w przypadku grupy kontrolnej;
- średnie stężenie jonów rodankowych było zbliżone w przypadku grupy osób biernie palących i grupy kontrolnej;
- w przypadku grupy aktywnych palaczy odnotowano większe stężenie jonów fosforanowych i amonowych, oraz mniejsze stężenie jonów bromkowych w porównaniu z analizą próbek moczu pochodzących od osób z pozostałych grup dawców;
- procentowy udział jonów rodankowych w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach moczu był większy w przypadku próbek pobranych od osób należących do grupy aktywnych palaczy w porównaniu do próbek z innych grup dawców;
- stężenie jonów rodankowych oznaczone w większości próbek należących do aktywnych palaczy było większe niż średnie stężenie tych jonów w próbkach pobranych od osób z grupy kontrolnej

Dla zbiorów danych pomiarowych dotyczących oznaczania stężenia jonów w próbkach moczu obliczono współczynniki korelacji Pearsona (Tabela 19). Współczynniki korelacji nie obliczono dla danych pochodzących z analizy próbek pobranych od osób z grupy kontrolnej, ze względu na zbyt małą liczbę próbek należących do tej kategorii. Z informacji zawartych w Tabeli 19 wynika, iż największe wartości liczbowe współczynnika korelacji występują pomiędzy:

- jonami SCN^- a jonami: Cl^- , NO_2^- i SO_4^{2-} w grupie biernych palaczy;
- duże wartości liczbowe współczynnika obliczono między jonami Cl^- a NO_2^- w grupie biernych palaczy;

- duże wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono także między jonami Cl^- a NO_2^- oraz Mg^{2+} a NH_4^+ w grupie aktywnych palaczy.

W próbkach moczu oznaczono także wybrane hormony steroidowe. Do tego celu wykorzystano technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Obecność tych związków w próbkach moczu potwierdzono poprzez porównanie czasów retencji poszczególnych hormonów z czasem retencji substancji wzorcowej. W Tabeli 20 zebrano informacje o uzyskanych wynikach oznaczania hormonów steroidowych w próbkach moczu ludzkiego. Najwyższe stężenie hormonów oznaczono w próbkach pobranych od osób aktywnie palących. Ponadto, stężenie kortyzonu występowało na podobnym poziomie w przypadku próbek pobranych od osób palących jak i biernych palaczy.

Uzyskane zbiory danych pomiarowych dotyczące oznaczania jonów nieorganicznych w próbkach moczu poddano wielowymiarowej analizie statystycznej. Do tego celu zastosowano analizę głównych składowych (PCA). W grupie osób aktywnie palących zidentyfikowano trzy główne czynniki (Rysunek 26)

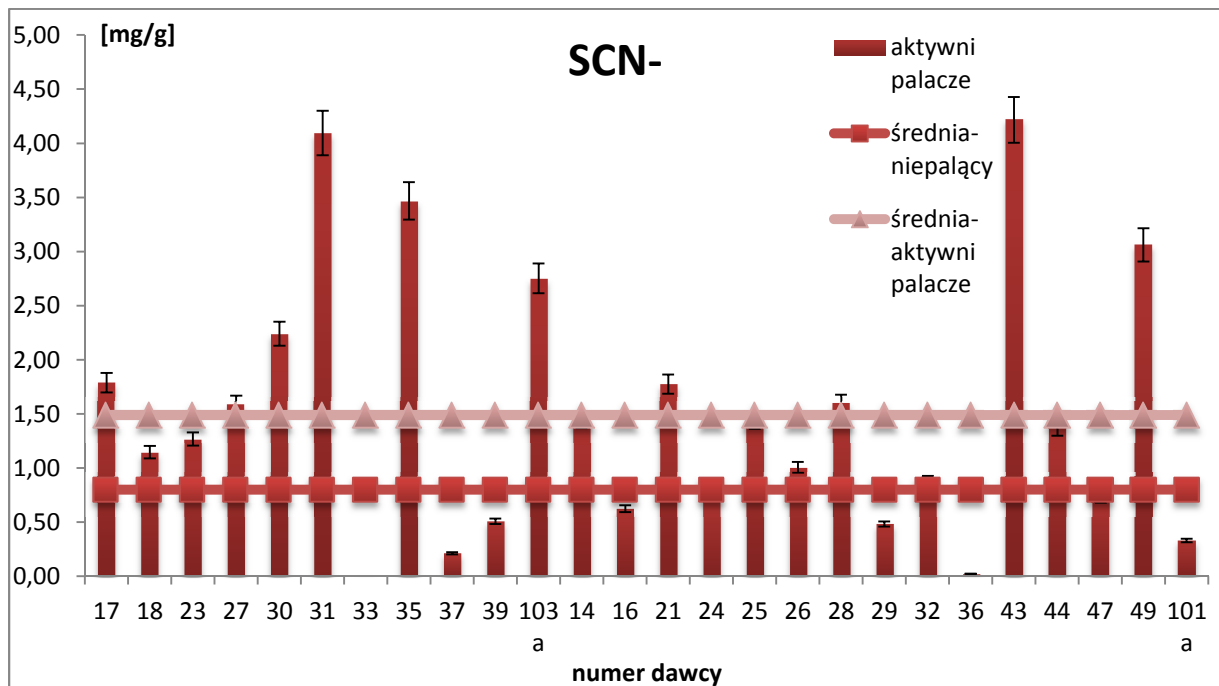
- PC1, który przedstawia związek jonów NO_2^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , Ca^{2+} ;
- PC2 dla jonów NH_4^+ i Mg^{2+} ;
- oraz PC3 dla jonów SCN^- .

Może to oznaczać, że występowanie jonów Ca^{2+} , Mg^{2+} i NH_4^+ charakteryzuje proces palenia tytoniu. Jony SCN^- odgrywają bardzo ważną rolę w grupie osób palących, dodatkowo można zauważyć ujemną korelację tych jonów z pozostałymi czynnikami. Oznacza to, że związek ten może pełnić rolę związku specyficznego dla grupy osób palących tytoń (w przypadku analizy próbek moczu). Wniosek ten można wysnuć również po analizie średniego stężenia jonów SCN^- oznaczonego w próbkach moczu pobranych od dawców należących do wszystkich grup. Średnia obliczona dla stężenia jonów rodankowych oznaczonych w próbkach moczu pobranego od ludzi zaliczanych do grupy aktywnych palaczy statystycznie różni się od średniej obliczonej dla grupy biernych palaczy oraz dla grupy kontrolnej (dwie ostatnie nie różnią się między sobą w sposób statystycznie istotny). Analiza danych uzyskanych po analizie próbek pochodzących od biernych palaczy prowadzi do wniosku, że tej grupie jony SCN^- nie odgrywają istotnej roli, i nie mogą pełnić roli związku, który pozwoli odróżnić tę grupę od grupy kontrolnej.

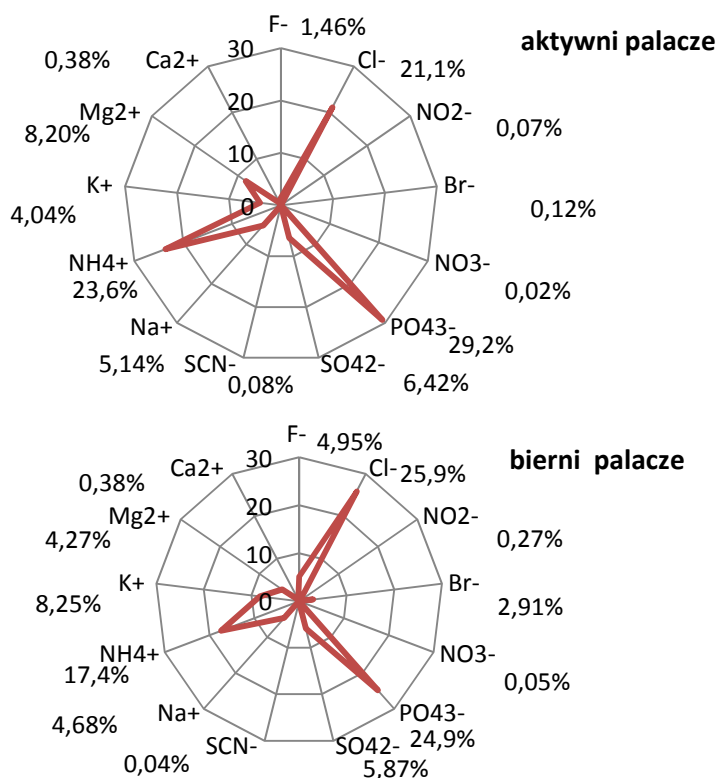
Tabela 18 Informacje o wynikach uzyskanych podczas oznaczania wybranych jonów w próbkach moczu

aktywni palacze													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	89,31	373,	2,23	10,99	1,03	787	107	1,16	125	353	201	157	8,43
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-451	<LOD-1861	<LOD-7,68	<LOD-57,13	<LOD-4,92	<LOD-3542	<LOD-375	<LOD-4,22	3,97-511	81,80-1209	<LOD-977	<LOD-577	<LOD-38,4
Średnia [mg/g]	26,8	388,0	1,2	2,2	0,4	536,1	117,8	1,5	94,3	433,7	74,0	150,4	7,0
f [%]	31	96	54	8	23	96	96	96	100	100	96	81	92
bierni palacze													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	328	382	7,28	230,1	2,97	502	73,11	0,99	96,58	178	212	83,99	5,89
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-1749	<LOD-1435	<LOD-24,0	<LOD-1219	<LOD-15,4	<LOD-1764	<LOD-274	<LOD-3,97	12,70-414	29,19-766	<LOD-792	<LOD-358	<LOD-21,4
Średnia [mg/g]	78,5	399,5	4,3	46,2	0,8	383,8	90,7	0,7	72,4	268,9	127,5	66,0	5,8
f [%]	37	93	70	44	15	93	96	100	100	100	96	56	93
grupa kontrolna													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	677	321	2,45	1,04	0,33	134	98,72	0,74	48,3	82,2	13,0	104	4,99
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-1957	<LOD-1055	<LOD-6,35	<LOD-2,89	<LOD-0,93	7,54-430	55,9-357	0,07-1,67	0,58-141	16,21-271	0,45-32,4	<LOD-340	<LOD-13,3
Średnia [mg/g]	292,4	298,6	1,3	0,5	0,1	230,2	127,0	0,8	54,9	167,5	13,3	144,3	6,5
f [%]	50	88	25	38	13	100	100	100	100	100	100	88	88

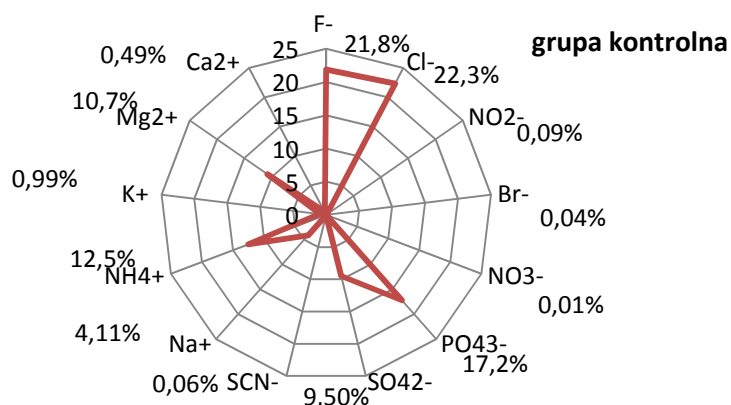
SD-odchylenie standardowe



Rysunek 24 Informacje o stężeniu jonów rodankowych w próbkach moczu pobranych od osób palących tytoń oraz o średnim stężeniu tych jonów w próbkach pobranych od osób z grupy kontrolnej



Rysunek 25 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach wydzieliny z jam nosa



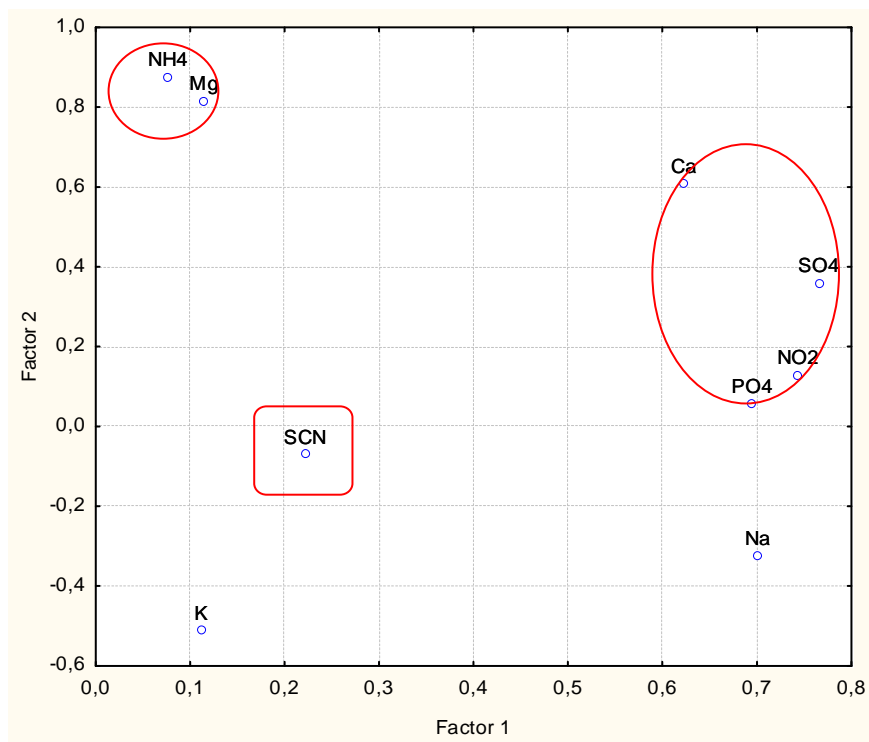
Rysunek 25 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach wydzieliny z jamy nosa

Tabela 19 Informacje o wartościach liczbowych współczynników korelacji obliczonych na podstawie oznaczonych stężeń poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach moczu

Aktywni palacze													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00												
Cl ⁻	0,04	1,00											
NO ₂ ⁻	-0,11	0,69	1,00										
Br ⁻	-0,06	-0,21	-0,11	1,00									
NO ₃ ⁻	0,22	0,11	-0,15	-0,07	1,00								
PO ₄ ³⁻	0,05	0,22	0,28	-0,14	-	1,00							
SO ₄ ²⁻	0,37	0,22	0,36	-0,22	0,28	0,66	1,00						
SCN ⁻	-0,21	-0,13	-0,05	-0,06	0,22	0,14	0,31	1,00					
Na ⁺	-0,06	0,35	0,50	-0,14	-0,05	0,31	0,32	0,33	1,00				
NH ₄ ⁺	0,14	0,11	0,06	-0,08	0,52	0,00	0,40	-0,01	-0,08	1,00			
K ⁺	-0,10	0,14	-0,08	-0,07	-0,12	-0,13	-0,05	-0,08	0,08	-0,27	1,00		
Mg ²⁺	-0,03	0,49	0,33	-0,17	0,53	0,06	0,24	-0,04	-0,11	0,65	-0,29	1,00	
Ca ²⁺	0,06	0,26	0,55	-0,11	0,04	0,38	0,69	-0,05	0,07	0,58	0,58	0,46	1,00
Bierni palacze													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00												
Cl ⁻	-0,17	1,00											
NO ₂ ⁻	0,08	0,81	1,00										
Br ⁻	-0,05	-0,20	-0,11	1,00									
NO ₃ ⁻	-0,01	0,57	0,66	-0,05	1,00								
PO ₄ ³⁻	-0,09	0,32	0,32	-0,15	0,06	1,00							
SO ₄ ²⁻	-0,04	0,50	0,46	-0,23	0,38	0,82	1,00						
SCN ⁻	0,02	0,61	0,62	-0,11	0,75	0,31	0,59	1,00					
Na ⁺	-0,12	0,32	0,04	-0,04	0,00	-0,08	0,06	0,09	1,00				
NH ₄ ⁺	0,16	-0,19	-0,05	0,32	-0,09	-0,20	-0,26	-0,09	-0,22	1,00			
K ⁺	-0,09	0,66	0,62	0,28	0,12	0,27	0,31	0,30	0,06	0,07	1,00		
Mg ²⁺	-0,06	0,14	0,18	-0,15	0,60	0,14	0,25	0,39	-0,21	-0,04	-0,41	1,00	
Ca ²⁺	-0,04	0,18	0,10	-0,17	0,44	0,26	0,42	0,40	-0,20	0,20	0,20	0,57	1,00

Tabela 20 Informacje o zakresie stężenia i średnim stężeniu wybranych hormonów steroidowych oznaczonych w próbkach moczu pobranych od osób należących do różnych grup dawców

Analit [mg/g kreatyniny]	Podstawowe parametry statystyczne	Grupa kontrolna	Bierni palacze	Aktywni palacze
F	Średnia	0,674	0,714	0,943
	Zakres	-	0,539-0,835	0,799-1,14
	n	1	14	15
E	Średnia	0,732	0,880	0,986
	Zakres	0,732	0,732-1,010	0,921-1,093
	n	1	14	15
THF	Średnia	4,004	3,724	4,030
	Zakres	-	3,006-4,256	3,798-4,218
	n	1	14	15
THE	Średnia	0,712	0,743	0,630
	Zakres	-	0,651-0,886	0,530-0,713
	n	1	14	15

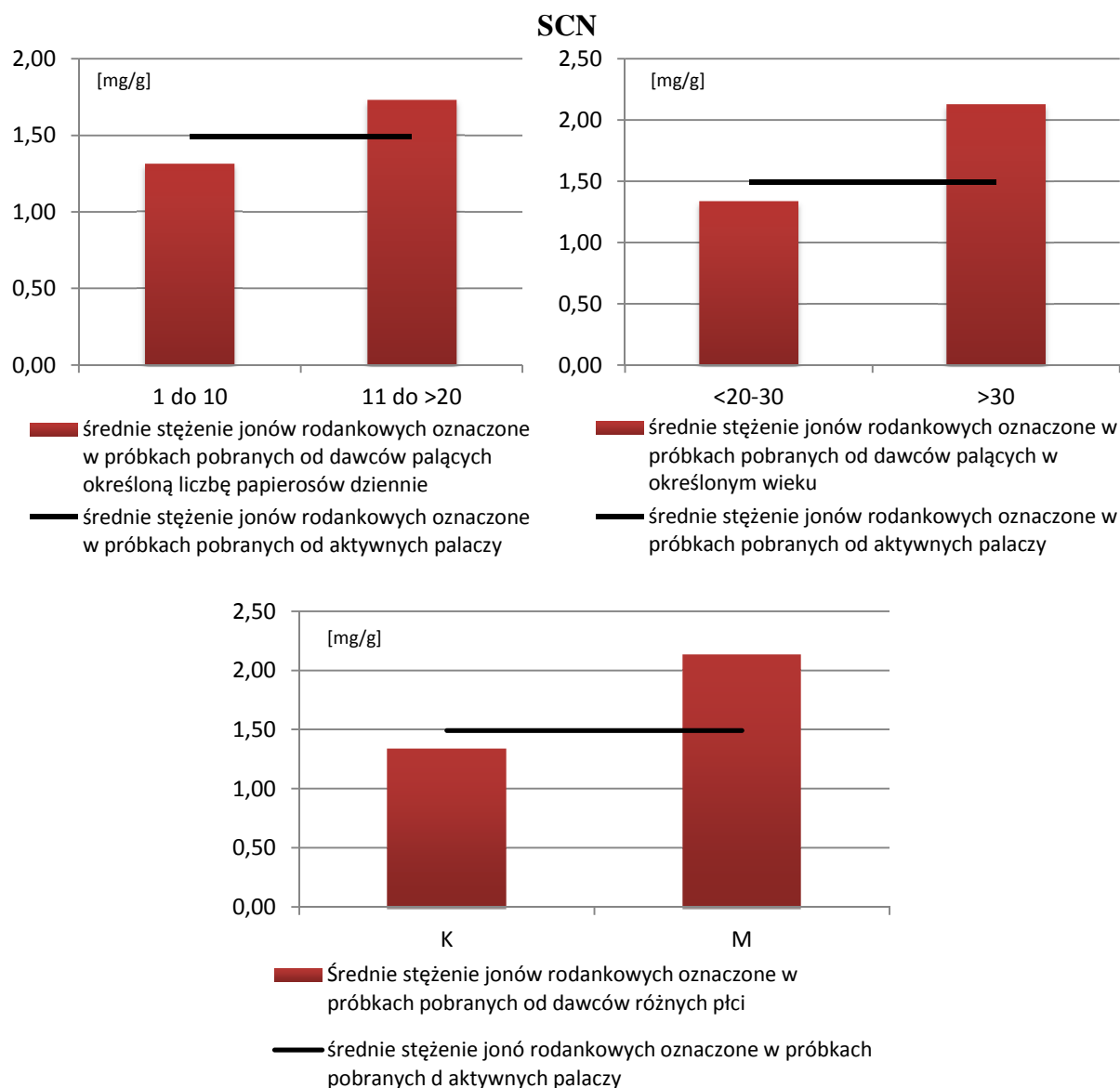


Rysunek 26 Informacje o wzajemnych relacjach czynników PC1 i PC2 w grupie osób aktywnie palących

Analiza danych zawartych w ankietach wypełnianych przed dawców próbek moczu wykazała, że marka palonych papierosów nie miała wpływu na wysokość stężenia jonów rodankowych w próbkach moczu. Najwyższe stężenie jonów rodankowych oznaczono w próbce osoby palącej papierosy marki *Marlboro*, najniższe w próbce pobranej od osoby palącej papierosy marki *L&M*. Palenie papierosów tych marek (a także papierosów marek: *LD*, *West*, *Viceroy*, *Sue Mentol*, *Camel*, *Davidoff*) zadeklarowały osoby, u których oznaczono stężenie jonów

rodankowych na poziomie zarówno wyższym jak i niższym w porównaniu ze średnim stężeniem tych jonów oznaczonym w próbkach moczu.

Większe stężenie jonów rodankowych oznaczono w próbkach pobranych od mężczyzn. Ponad 66% próbek, w których oznaczone stężenie przekraczało jego średnią wartość obliczoną dla wszystkich próbek moczu pobranych od osób palących, pobranych było od mężczyzn. Można przypuszczać, że jest to związane z ilością wypalanych dziennie papierosów. Większość mężczyzn biorących udział w badaniu zadeklarowała palenie od 11-20 sztuk papierosów dziennie, natomiast większość kobiet paliła od 6-10 sztuk papierosów dziennie. Średnie stężenie jonów rodankowych było większe w próbkach pobranych od dawców palących więcej niż 10 sztuk papierosów dziennie (Rysunek 27).



Rysunek 27 Informacje o średnim stężeniu jonów SCN⁻ oznaczonym w próbkach moczu w zależności od płci, wieku oraz ilości wypalanych papierosów

3.6.3 Ślina

W Tabeli 21 podano informacje o zakresach stężeń poszczególnych analitów oznaczonych w próbkach śliny, odchyleniu standardowym oraz o częstości występowania danego składnika w próbce (f-wyrażone w procentach).

Na Rysunku 28 przedstawiono informacje o stężeniu jonów rodankowych, biomarkera narażenia na składniki dymu tytoniowego, oznaczonym w próbkach pobranych od osób palących tytoń, oraz informacje o średnim stężeniu tych jonów oznaczonym w próbkach pobranych od osób należących do grupy kontrolnej. Na kolejnym Rysunku 29 przedstawiono informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w badanych próbkach śliny. Z wyników zebranych w Tabeli 21 oraz przedstawionych poglądowo na Rysunkach 28 i 29 można wysnuć następujące wnioski:

- średnie stężenie jonów rodankowych oznaczone w próbkach śliny pobranych od osób z grupy aktywnych palaczy było większe niż w próbkach pobranych od pozostałych grup dawców;
- średnie stężenie jonów bromkowych, fosforanowych oraz azotynowych było większe w przypadku próbek pobranych od osób aktywnie palących, niż przypadku osób należących do grupy biernych palaczy i do grupy kontrolnej;
- procentowa zawartość jonów rodankowych w całkowitej zawartości jonów w próbkach śliny pobranych od grupy aktywnych palaczy oraz biernych palaczy była niewiele większa niż w przypadku grupy kontrolnej.

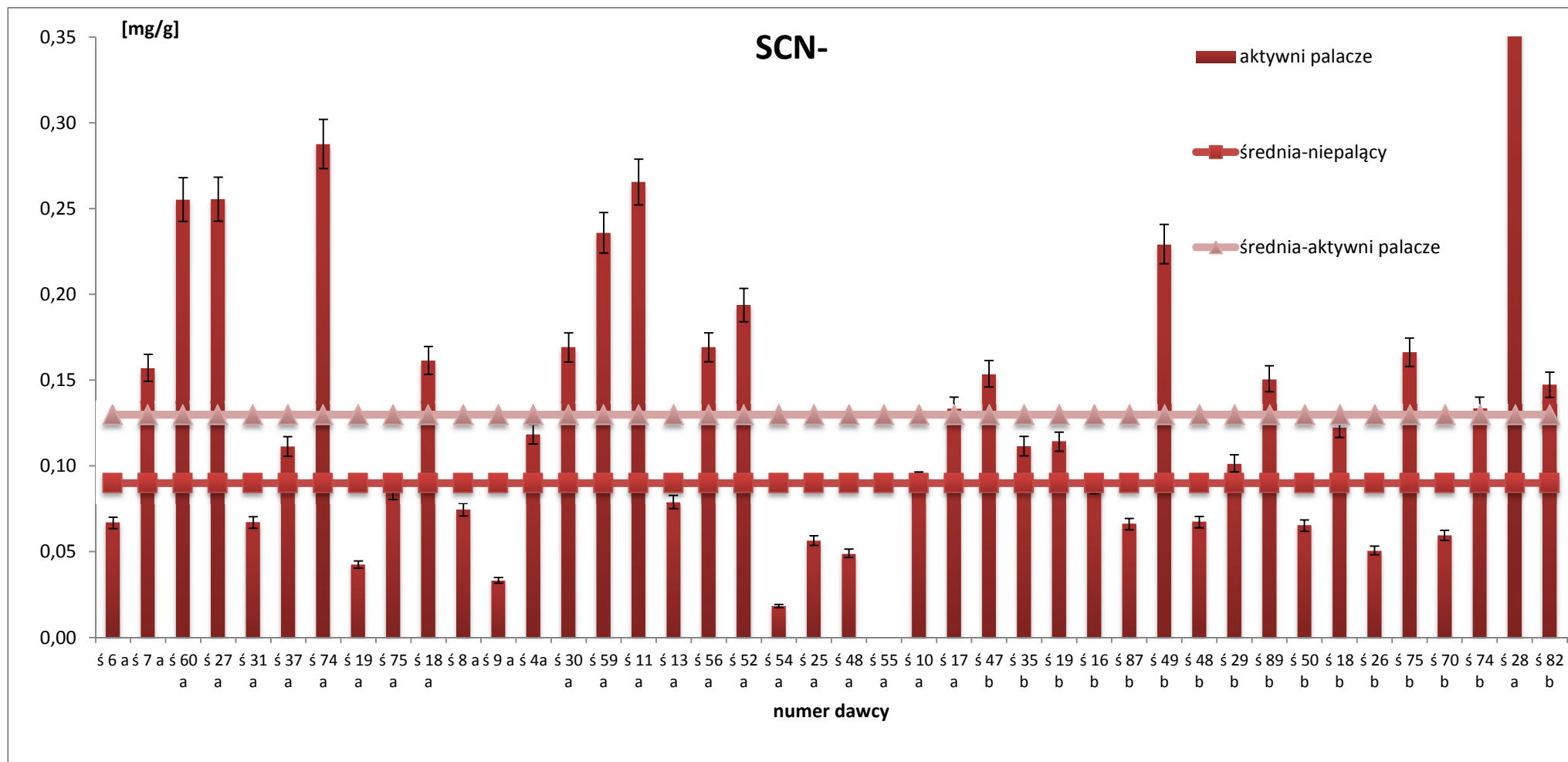
Obliczono wartości liczbowe współczynników korelacji jakie występują pomiędzy stężeniami jonów oznaczonymi w próbkach śliny. Z informacji zebranych w Tabeli 22 wynika, że:

- największe ($>0,9$) wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono pomiędzy stężeniami jonów Br^- a NO_3^- w grupie aktywnych palaczy, jonami NH_4^+ a K^+ i NO_2^- oraz jonami F^- a SO_4^{2-} i NO_2^- w grupie biernych palaczy, pomiędzy stężeniami jonów K^+ a Na^+ w grupie kontrolnej;
- w grupie aktywnych palaczy duże wartości współczynnika korelacji obliczono także pomiędzy takimi jonami jak K^+ a F^- , Cl^- i PO_4^{3-} , Cl^- a Br^- i NO_2^-
- w grupie biernych palaczy duże wartości współczynnika korelacji obliczono także pomiędzy stężeniami jonów Na^+ a jonami NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} , F^- , Cl^- , NO_2^- oraz pomiędzy stężeniami jonów SCN^- a Cl^- i SO_4^{2-} .

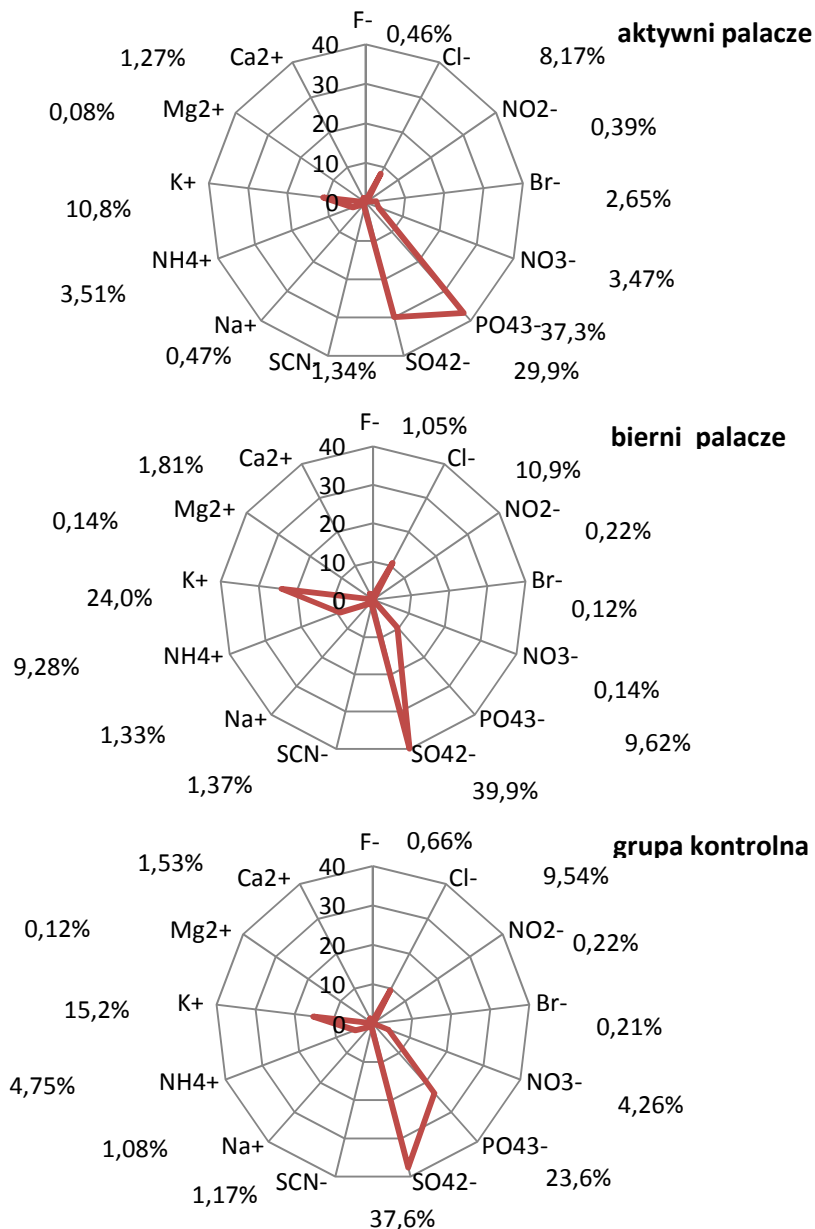
Tabela 21 Informacje o wynikach uzyskanych podczas oznaczania wybranych jonów w próbkach śliny

aktywni palacze													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,032	0,495	0,148	1,497	2,115	11,109	3,112	0,084	0,060	0,179	0,371	0,007	0,116
Zakres stężeń [mg/g]	0,006-0,19	<LOD-3,17	<LOD-0,97	<LOD-9,83	<LOD-13,87	<LOD-66,22	<LOD-16,30	<LOD-0,43	0,003-0,295	<LOD-0,724	0,596-2,91	<LOD-0,026	<LOD-0,426
Średnia [mg/g]	0,045	0,786	0,038	0,255	0,334	3,593	2,876	0,129	0,047	0,337	1,047	0,007	0,123
f [%]	100	98	66	95	95	93	100	100	100	98	100	89	98
bierni palacze													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,166	0,379	0,031	0,005	0,025	0,358	4,41	0,062	0,173	1,45	4,37	0,015	0,184
Zakres stężeń [mg/g]	0,006-1,17	<LOD-2,40	<LOD-0,209	<LOD-0,027	<LOD-0,107	<LOD-1,82	<LOD-22,2	<LOD-0,274	0,001-0,970	<LOD-10,3	0,185-31,3	<LOD-0,098	<LOD-0,866
Średnia [mg/g]	0,071	0,743	0,015	0,008	0,010	0,655	2,719	0,094	0,091	0,632	1,637	0,010	0,123
f [%]	100	96	62	96	86	98	98	98	100	100	100	74	90
grupa kontrolna													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,035	0,346	0,024	0,005	2,18	4,48	3,39	0,074	0,325	0,284	1,21	0,018	0,161
Zakres stężeń [mg/g]	0,08-0,147	<LOD-2,20	<LOD-0,115	<LOD-0,026	<LOD-14,8	0,142-26,0	0,094-16,1	0,010-0,373	<LOD-2,21	0,001-1,45	<LOD-8,86	<LOD-0,094	<LOD-0,803
Średnia [mg/g]	0,053	0,762	0,018	0,009	0,340	1,882	3,001	0,094	0,086	0,379	1,22	0,010	0,122
f [%]	100	97,7	75	95,4	90	100	100	100	97,7	100	97,7	81,6	90

SD-odchylenie standardowe



Rysunek 28 Informacje o stężeniu jonów rodankowych w próbkach śliny pobranych od osób palących tytoń oraz o średnim stężeniu tych jonów w próbkach pobranych od osób z grupy kontrolnej



Rysunek 29 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach śliny

Tabela 22 Informacje o wartościach liczbowych współczynników korelacji obliczonych na podstawie oznaczonych stężeń poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach śliny

Aktywni palacze													
	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻
Na ⁺	1,00												
NH ₄ ⁺	-0,13	1,00											
K ⁺	0,37	0,26	1,00										
Mg ²⁺	-0,06	-0,18	-0,09	1,00									
Ca ²⁺	0,00	-0,04	0,46	-0,17	1,00								
F ⁻	-0,17	0,44	0,52	-0,17	0,31	1,00							
Cl ⁻	0,27	0,15	0,55	-0,10	0,41	0,28	1,00						
NO ₂ ⁻	0,10	0,08	-0,17	-0,05	0,03	-0,10	-0,01	1,00					
Br ⁻	0,04	0,09	0,34	-0,04	0,39	0,25	0,88	-0,06	1,00				

Tabela 22 cd.

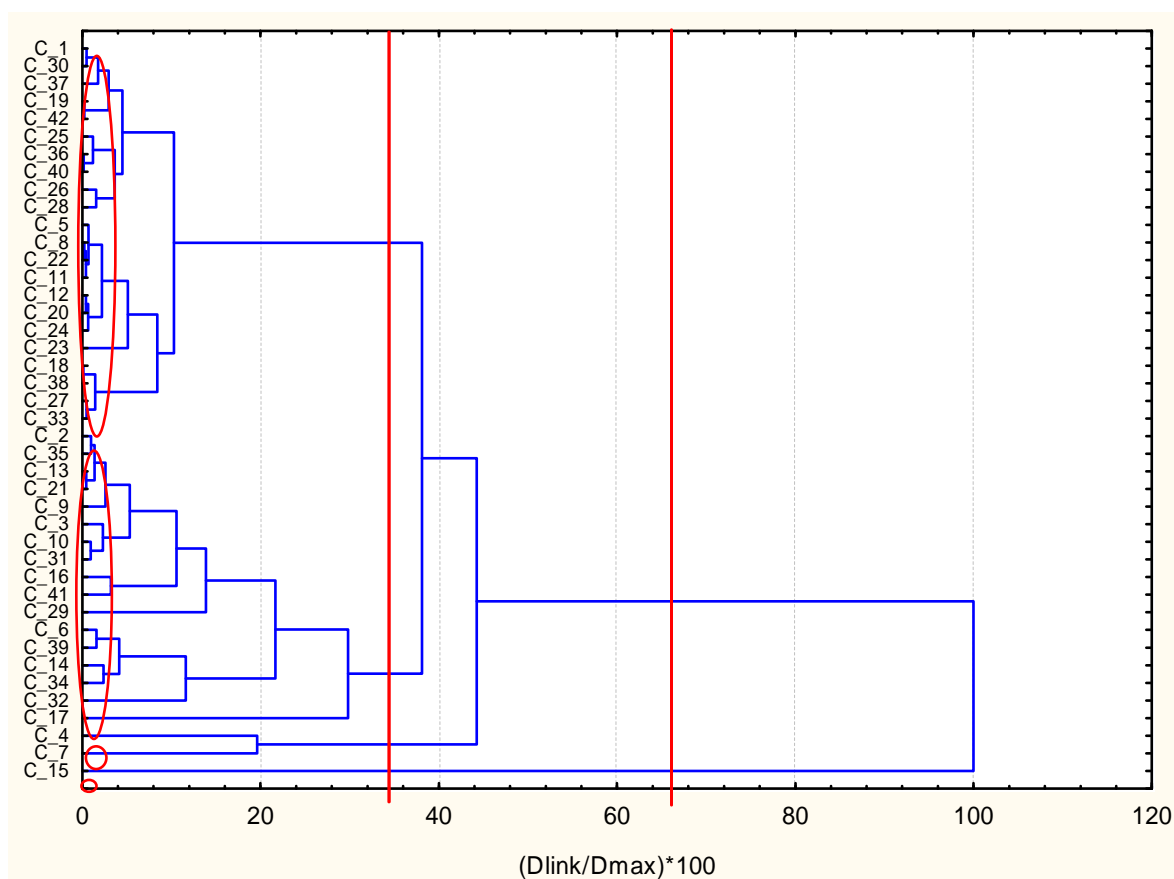
NO_3^-	-0,05	-0,03	0,09	-0,03	0,32	0,12	0,77	-0,05	0,95	1,00			
PO_4^{3-}	0,17	0,21	0,71	-0,05	0,38	0,42	0,46	-0,08	0,28	0,05	1,00		
SO_4^{2-}	-0,10	-0,26	0,03	-0,13	0,32	0,08	0,20	-0,05	0,19	0,24	-0,07	1,00	
SCN^-	0,03	0,29	0,48	0,10	0,21	0,44	0,46	-0,22	0,37	0,26	0,50	0,08	1,00
Bierni palacze													
	Na^+	NH_4^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	F^-	Cl^-	NO_2^-	Br^-	NO_3^-	PO_4^{3-}	SO_4^{2-}	SCN^-
Na^+	1,00												
NH_4^+	0,71	1,00											
K^+	0,77	0,98	1,00										
Mg^{2+}	0,21	0,18	0,17	1,00									
Ca^{2+}	0,52	0,55	0,64	0,26	1,00								
F^-	0,70	0,96	0,97	0,17	0,65	1,00							
Cl^-	0,58	0,68	0,69	0,16	0,55	0,69	1,00						
NO_2^-	0,68	0,90	0,92	0,18	0,63	0,90	0,62	1,00					
Br^-	-0,19	-0,19	-0,17	-0,02	0,19	-0,09	0,18	-0,11	1,00				
NO_3^-	0,64	0,54	0,57	0,15	0,41	0,58	0,37	0,57	0,00	1,00			
PO_4^{3-}	0,25	0,55	0,52	0,01	0,33	0,54	0,76	0,51	0,24	0,19	1,00		
SO_4^{2-}	0,73	0,93	0,97	0,21	0,76	0,96	0,67	0,89	-0,09	0,60	0,49	1,00	
SCN^-	0,22	0,48	0,47	0,06	0,35	0,48	0,61	0,41	0,11	0,16	0,77	0,44	1,00
Grupa kontrolna													
	Na^+	NH_4^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	F^-	Cl^-	NO_2^-	Br^-	NO_3^-	PO_4^{3-}	SO_4^{2-}	SCN^-
Na^+	1,00												
NH_4^+	-0,08	1,00											
K^+	0,95	0,12	1,00										
Mg^{2+}	0,59	-0,11	0,59	1,00									
Ca^{2+}	0,64	-0,12	0,69	0,75	1,00								
F^-	0,38	0,25	0,50	0,28	0,60	1,00							
Cl^-	-0,14	0,67	0,06	0,05	-0,01	0,21	1,00						
NO_2^-	0,21	0,06	0,22	0,17	0,15	0,13	0,14	1,00					
Br^-	-0,24	0,34	-0,07	0,25	0,22	0,36	0,57	0,11	1,00				
NO_3^-	0,04	-0,05	0,03	0,72	0,28	0,03	0,18	0,03	0,46	1,00			
PO_4^{3-}	-0,05	0,01	0,07	0,14	0,51	0,25	0,11	0,13	0,28	-0,04	1,00		
SO_4^{2-}	0,55	-0,24	0,55	0,38	0,65	0,53	-0,16	-0,08	0,15	-0,04	0,14	1,00	
SCN^-	0,02	0,34	0,14	0,41	0,32	0,12	0,51	-0,06	0,41	0,49	0,38	-0,08	1,00

W próbkach śliny oznaczono także zawartość formaldehydu oraz jonów cyjankowych. Wyniki zestawiono w Tabeli 23. Zarówno w przypadku HCHO jak i jonów CN^- średnie stężenie było większe w przypadku próbek pobranych od osób należących do grupy aktywnych palaczy. Największe stężenie formaldehydu oznaczono w próbce pobranej od dawcy należącego do grupy aktywnych palaczy, natomiast największe stężenie jonów cyjankowych oznaczono w próbce pobranej od dawcy z grupy biernych palaczy.

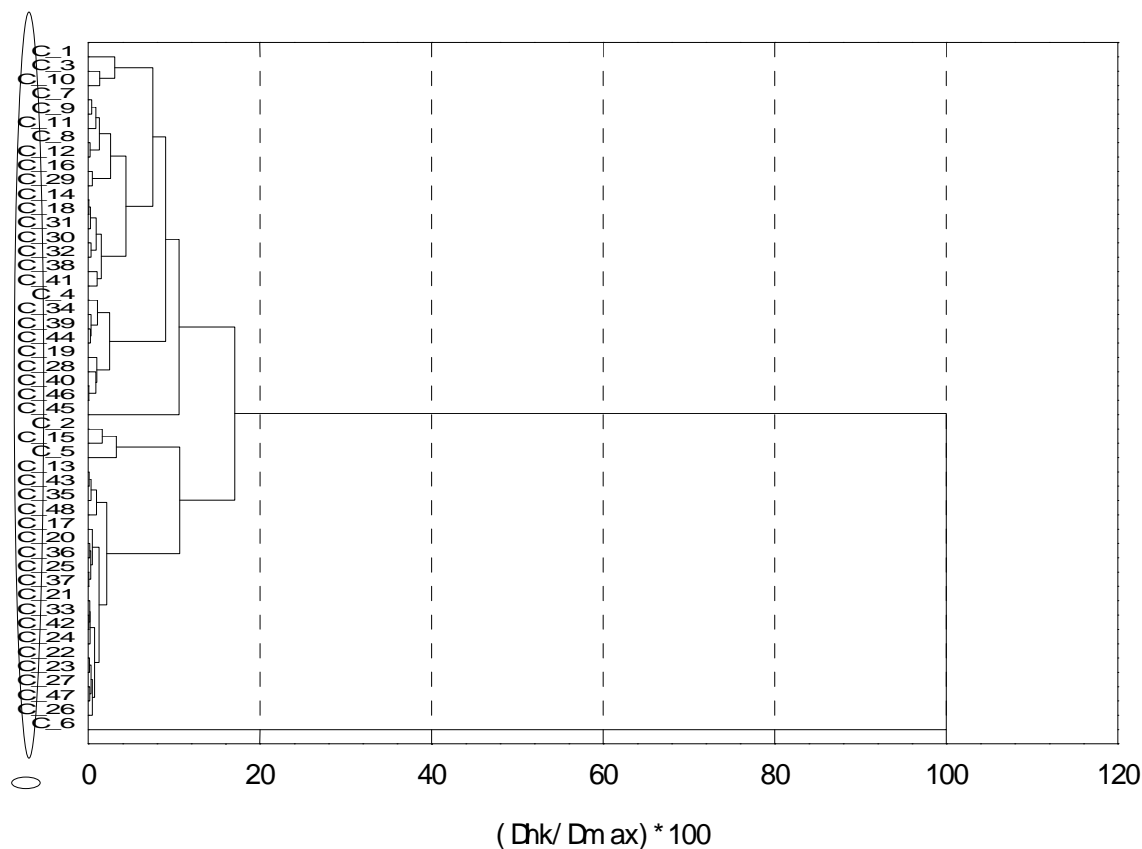
W celu uzyskania dokładniejszych informacji dotyczących możliwości wykorzystania poszczególnych analitów jako biomarkery narażenia na składniki dymu tytoniowego przeprowadzono analizę chemometryczną uzyskanych zbiorów danych pomiarowych. W tym celu wykorzystana została analiza klastrów i analiza głównych składowych. Na Rysunkach 31-32 przedstawiono dendogramy uzyskane dla danych dotyczących grupy aktywnych palaczy, biernych palaczy oraz grupy kontrolnej.

Tabela 23 Informacje o wynikach analizy próbek śliny w celu oznaczenia zawartości HCHO i CN⁻

	HCHO*10 ⁻³ [mg/g]	CN ⁻ *10 ⁻³ [mg/g]
Grupa kontrolna		
Średnie stężenie	7,12	3,88
Maksymalne oznaczone stężenie	49,58	10,9
SD	8,71	2,75
Bierni palacze		
Średnie stężenie	6,77	4,16
Maksymalne oznaczone stężenie	25,6	15,55
SD	4,78	3,65
Aktywni palacze		
Średnie stężenie	6,39	4,56
Maksymalne oznaczone stężenie	20,58	15,76
SD	3,56	3,2



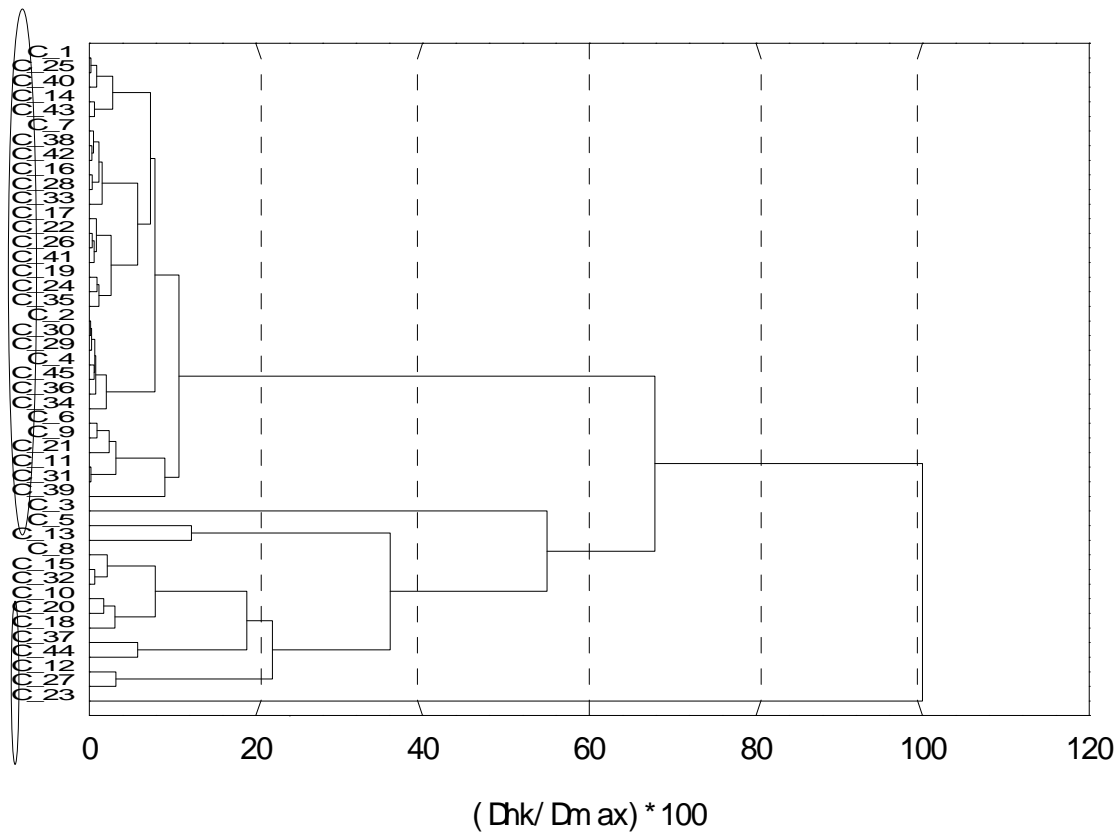
Rysunek 30 Dendrogram ukazujący zależności pomiędzy oznaczeniami jonów w próbkach pobranych od dawców-aktywnych palaczy



Rysunek 31 Dendrogram ukazujący zależności pomiędzy oznaczeniami jonów w próbkach pobranych od dawców- biernych palaczy

Uzyskane wyniki mogą stanowić podstawę do następujących wniosków:

- w próbkach pobranych w grupie aktywnych palaczy występuje najmniejsze stężenie: F^- , Cl^- , Br^- , NO_3^- , Na^+ , NH_4^+ , K^+ i Mg^{2+} ;
- w próbkach pobranych od osób biernie palących występuje najmniejsze stężenie NO_2^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , SCN^- , Ca^{2+} ;
- w próbkach pobranych od osób należących do grupy kontrolnej oznaczono największe stężenie F^- , Cl^- , Br^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+} ;
- jony SCN^- mogą być wykorzystane do odróżnienia osób aktywnie palących od pozostałych grup dawców

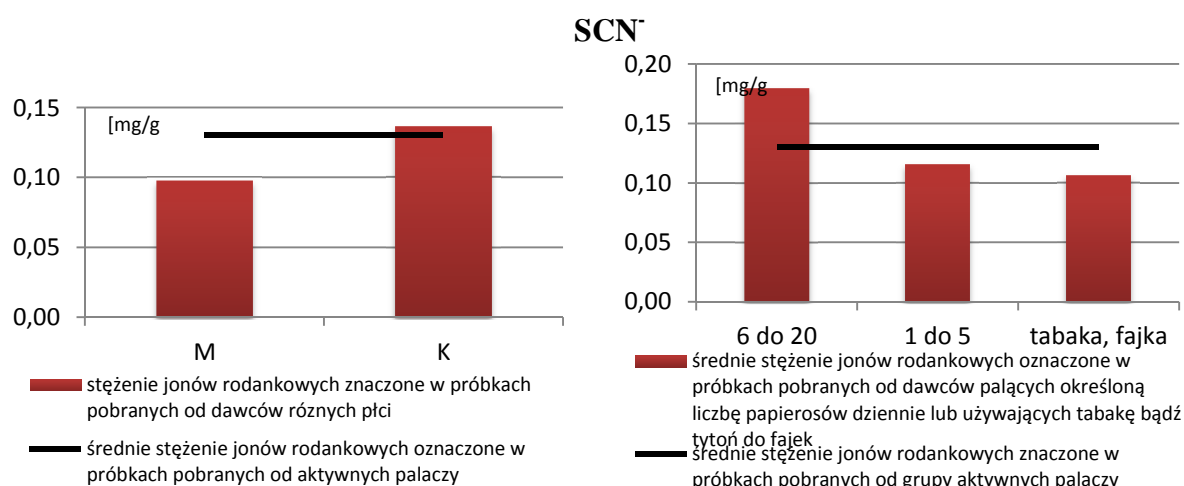


Rysunek 32 Dendrogram ukazujący zależności pomiędzy oznaczeniami jonów w próbkach pobranych od grupy kontrolnej

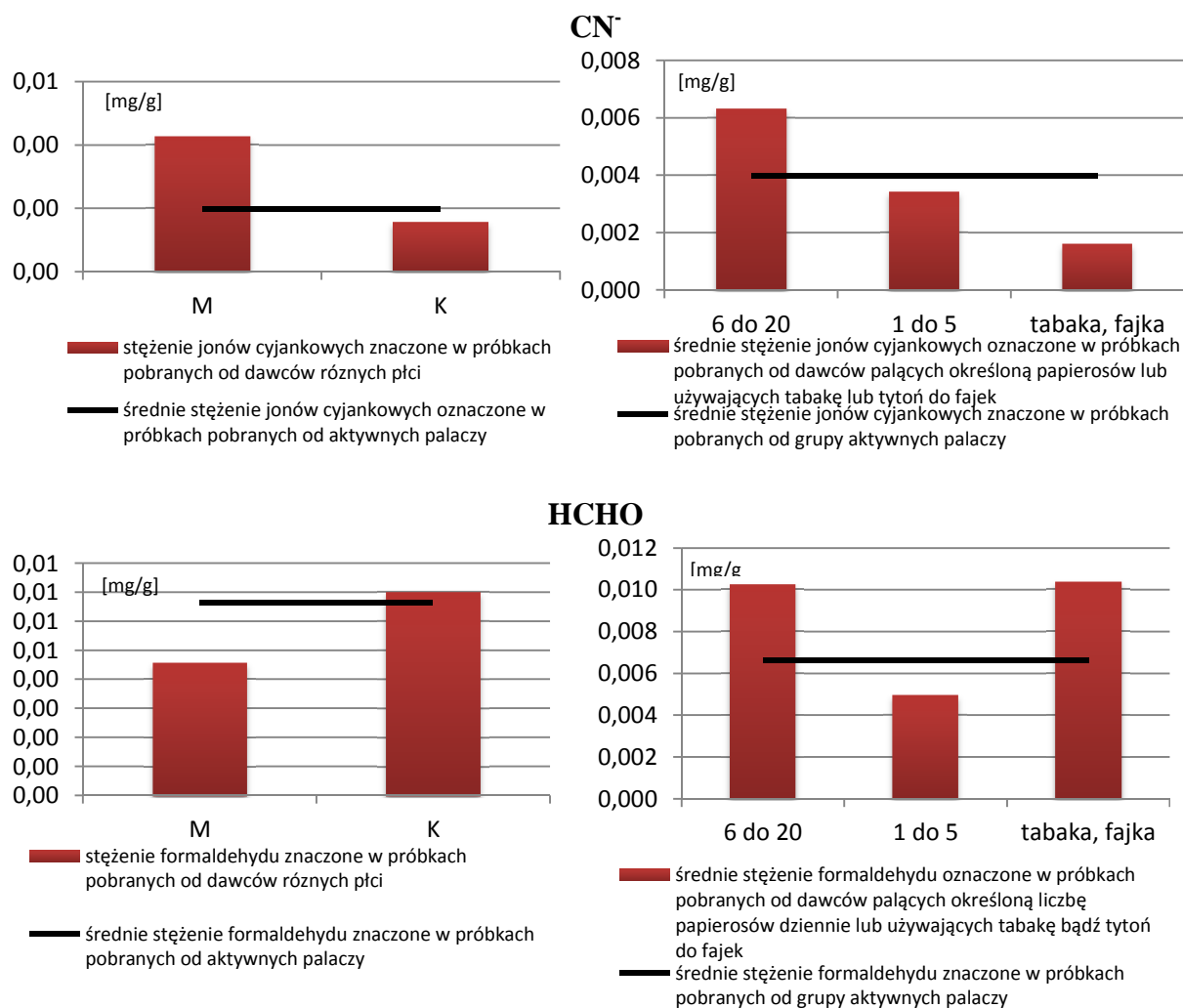
Analiza danych zawartych w wypełnionych przez dawców kwestionariuszach pozwala stwierdzić, iż niemal 42% spośród próbek, w których oznaczono większe stężenie jonów rodankowych niż średnia dla grupy osób aktywnie palących, należało do osób palących papierosy marki *L&M*. Największe stężenie jonów rodankowych oznaczono w próbce śliny, pobranej od osoby palącej papierosy marki *Camel*, inne marki wymienione przed dawców w ankiecie to: *Chesterfield*, *Marlboro*, *She*, *West*, *Route 66*, *Spike*, *Luky Strike*, *Pall Mall*, *Golden American*, *Black Devil*.

W związku z niewielką ilością dawców deklarujących palenie powyżej 10 sztuk papierów dziennie, do analizy wyszczególniono dwie grupy dawców: palących od 1 d 5 sztuk papierosów dziennie, raz palących od 6 do 20 sztuk papierosów dziennie. Analiza informacji zawartych w kwestionariuszach osobowych wypełnianych przez dawców śliny prowadzi do następujących wniosków (Rysunek 33):

- średnie stężenie jonów rodankowych oraz formaldehydu było większe w próbkach pobranych od kobiet, natomiast średnie stężenie jonów cyjankowych było większe w próbkach śliny pobranych od mężczyzn;
- ze względu na specyficzność grupy dawców (grupę dawców śliny stanowili studenci) nie analizowano wpływu wieku na stężenie poszczególnych parametrów chemicznych;
- stężenie jonów rodankowych było na podobnym poziomie w próbkach pobranych od osób używających tabakę i fajkę i u osób palących od 1 do 5 papierosów dziennie, w przypadku jonów cyjankowych i formaldehydu nie obserwuje się takiej zależności;
- stężenie parametrów chemicznych takich jak jony rodankowe, jony cyjankowe oraz formaldehyd było największe w przypadku próbek śliny pobranych od dawców palących od 6 do 20 papierosów dziennie;
- analiza informacji o przyjmowanych w ostatnim czasie lekach przez dawców nie wykazała wpływu ich stosowania na poziomy zawartości poszczególnych parametrów chemicznych.
- największe stężenia biomarkera jonów rodankowych oznaczono w próbkach śliny pobranej od kobiet, wiąże się to z faktem specyficzności grupy dawców. Próbkę śliny pobrane były od studentów Wydziału Psychologii, i przeważająca ilość próbek śliny pochodziła od kobiet.



Rysunek 33 Informacje o średnim stężeniu SCN⁻, CN⁻, i HCHO w próbkach śliny w zależności od płci oraz liczby wypalanych dziennie papierosów



Rysunek 33 Informacje o średnim stężeniu SCN⁻, CN⁻, i HCHO w próbkach śliny w zależności od płci oraz liczby wypalanych dziennie papierosów

3.6.4 Pot

W Tabeli 24 podano informacje o zakresach stężeń poszczególnych analitów oznaczonych w próbkach potu, odchyleniu standardowym oraz o częstości występowania danego składnika w próbce (f-wyrażone w procentach).

Na Rysunku 34 przedstawiono informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w badanych próbkach potu. Z wyników zebranych w Tabeli 24 oraz przedstawionych poglądowo na Rysunku 34 można wysnuć następujące wnioski:

- średnie stężenie jonów rodankowych było największe w przypadku próbek potu pobranych od osób a grupy aktywnych palaczy palących powyżej 10 sztuk papierosów dziennie;
- największe stężenie jonów rodankowych oznaczono w próbce potu pobranej od osoby z grupy aktywnych palaczy palących poniżej 10 sztuk papierosów dziennie;
- średnie stężenie jonów magnezu było największe w przypadku próbek potu pobranych od osób z grupy aktywnych palaczy palących powyżej 10 sztuk papierosów dziennie;
- średnie stężenie jonów potasu oraz sodu było najmniejsze w przypadku próbek potu pobranych od osób z grupy aktywnych palaczy palących powyżej 10 sztuk papierosów dziennie;
- procentowa zawartość jonów rodankowych w całkowitej zawartości wszystkich jonów oznaczonych w próbkach potu była największa w przypadku próbek pobranych od osób należących do osób palących mniej niż 10 sztuk papierosów dziennie.

Obliczono wartości liczbowe współczynników korelacji jakie występują pomiędzy stężeniami poszczególny jonów oznaczonych w próbkach potu. Obliczone wartości liczbowe współczynnika korelacji zestawiono w Tabeli 25. Z informacji zawartych w Tabeli wynika, że:

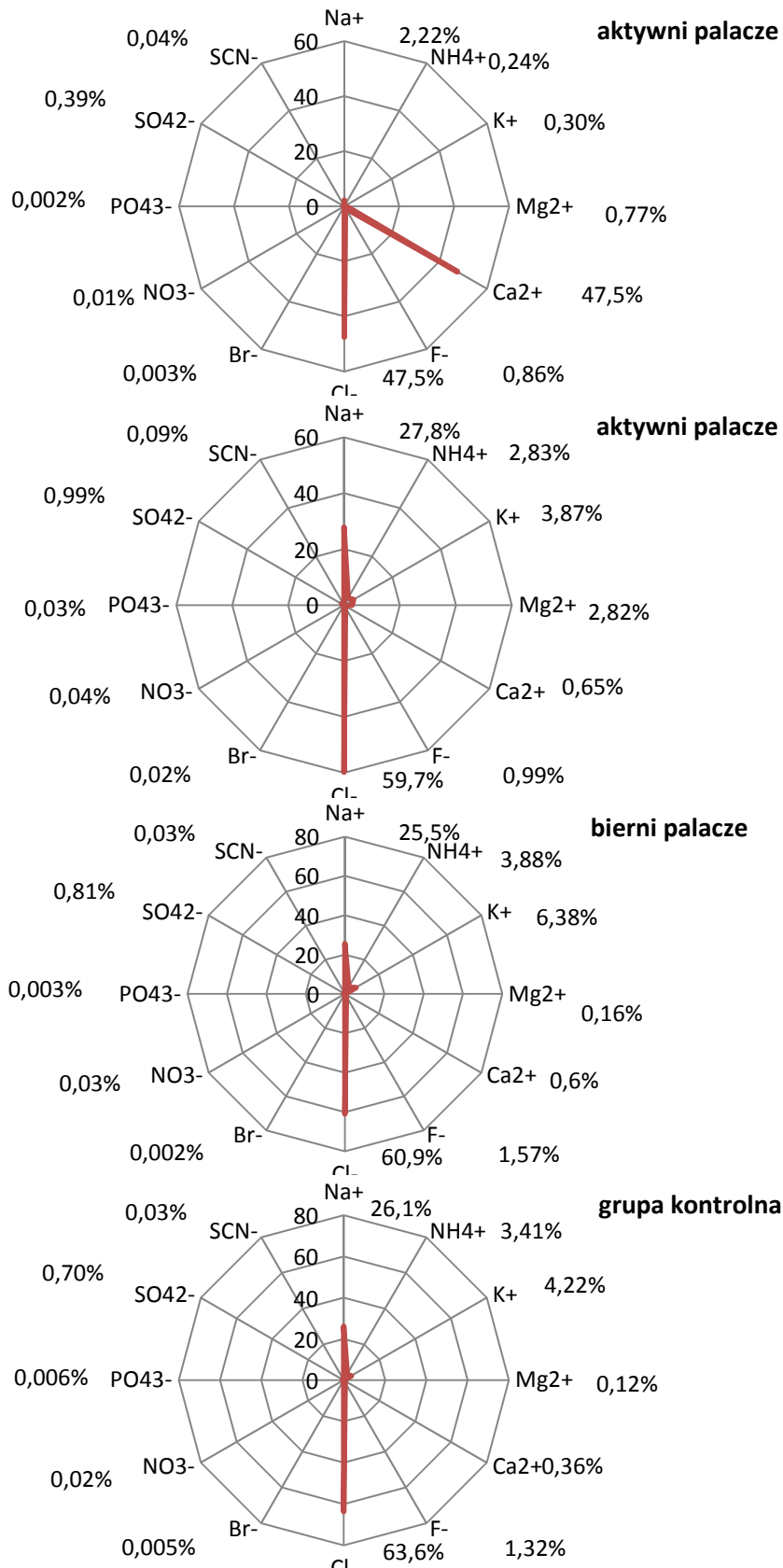
- bardzo duże wartości liczbowe współczynnika korelacji ($>0,9$) obliczono między stężeniami jonów oznaczonych w próbkach pobranych od grupy aktywnych palaczy palących mniej niż 10 sztuk papierosów dziennie
- w grupie aktywnych palaczy palących więcej niż 10 sztuk papierosów dziennie obliczono duże wartości liczbowe współczynnika korelacji pomiędzy stężeniami takich jonów jak: SCN^- a Mg^{2+} , PO_4^{3-} a Mg^{2+} , Cl^- a Ca^{2+} oraz pomiędzy Na^+ a K^+ .

W próbkach potu oznaczono również formaldehyd. W Tabeli 26 zebrano wyniki oznaczania tego związku w próbkach potu pobranych od osób należących do różnych grup dawców. Średnie stężenie formaldehydu było największe w przypadku próbek potu pobranych od osób z grupy aktywnych palaczy, palących powyżej 10 sztuk papierosów dziennie. Również w grupie osób palących poniżej 10 sztuk papierosów dziennie średnie stężenie tego związku było większe, niż w przypadku próbek pobranych od osób z grup biernych palaczy i grupy kontrolnej.

Tabela 24 Informacje o wynikach uzyskanych podczas oznaczania wybranych jonów w próbkach potu

aktywni palacze (palący więcej niż 10 sztuk dziennie)												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,112	4,80	0,001	0,002	0,001	0,042	0,013	0,282	0,109	0,040	0,106	4,80
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,003	0,460-15,7	<LOD-0,002	0,021-0,151	<LOD-0,056	0,021-0,151	<LOD-0,056	0,129-1,21	0,006-0,479	0,011-0,178	0,027-0,424	3,55-21,4
Średnia [mg/g]	0,160	8,810	0,001	0,002	0,001	0,072	0,007	0,411	0,045	0,056	0,143	8,810
f [%]	100	100	18	60	6	100	100	6	100	100	100	100
aktywni palacze (palący mniej niż 10 sztuk dziennie)												
SD	0,135	16,919	0,033	0,029	0,048	0,650	0,108	12,940	0,561	0,863	4,165	0,431
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,601	<LOD-128,743	<LOD-0,250	<LOD-0,222	<LOD-0,365	<LOD-4,973	<LOD-0,829	9<LOD-9,128	<LOD-3,325	<LOD-5,717	<LOD-31,752	<LOD-3,304
Średnia [mg/g]	0,183	8,740	0,001	0,003	0,001	0,129	0,004	2,928	0,401	0,375	0,021	0,058
f [%]	98	98	98	98	98	98	98	18	82	16	98	92
bierni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,149	4,107	0,001	0,004	0,001	0,126	0,004	1,635	0,261	0,708	0,014	0,049
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,667	1,34-19,8	<LOD-0,005	<LOD-0,017	<LOD-0,003	0,020-0,705	<LOD-0,027	0,466-6,28	0,145-1,18	0,100-3,39	0,00-0,084	0,007-0,226
Średnia [mg/g]	0,202	7,831	0,001	0,004	0,001	0,104	0,003	3,276	0,499	0,820	0,022	0,078
f [%]	100	100	100	100	100	98	100	10	76	4	100	70
grupa kontrolna												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,136	5,349	0,002	0,003	0,003	0,140	0,009	2,843	0,486	0,546	0,013	0,045
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,594	<LOD-22,1	<LOD-0,010	<LOD-0,015	<LOD-0,024	<LOD-1,031	<LOD-0,061	0,812-19,0	<LOD-2,982	0,080-3,145	<LOD-0,078	0,008-0,241
Średnia [mg/g]	0,209	10,061	0,001	0,003	0,001	0,111	0,005	4,131	0,539	0,667	0,020	0,058
f [%]	100	98	100	98	100	95	98	13	84	14	98	76

SD-odchylenie standardowe



Rysunek 34 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach potu

Tabela 25 Informacje o wartościach liczbowych współczynników korelacji obliczonych na podstawie oznaczonych stężeń poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach potu

aktywni palacze (palacy więcej niż 10 sztuk dziennie)												
	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻
Na ⁺	1,000											
NH ₄ ⁺	-0,027	1,000										
K ⁺	0,713	-0,134	1,000									
Mg ²⁺	-0,036	-0,198	-0,163	1,000								
Ca ²⁺	-0,232	0,427	-0,119	0,419	1,000							
F ⁻	-0,354	-0,181	-0,214	-0,420	-0,192	1,000						
Cl ⁻	-0,212	0,271	-0,078	0,191	0,717	-0,022	1,000					
Br ⁻	-0,275	0,267	0,089	0,170	0,332	0,105	0,347	1,000				
NO ₃ ⁻	-0,238	0,479	-0,219	0,358	0,533	-0,333	0,536	0,230	1,000			
PO ₄ ³⁻	-0,085	-0,099	-0,169	0,622	0,571	-0,004	0,447	0,136	0,147	1,000		
SO ₄ ²⁻	-0,238	0,479	-0,219	0,358	0,533	-0,333	0,536	0,230	1,000	0,147	1,000	
SCN ⁻	-0,085	-0,099	-0,169	0,622	0,571	-0,004	0,447	0,136	0,147	1,000	0,147	1,000
aktywni palacze (palacy mniej niż 10 sztuk dziennie)												
	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻
Na ⁺	1,000											
NH ₄ ⁺	0,787	1,000										
K ⁺	0,236	0,671	1,000									
Mg ²⁺	0,965	0,628	0,020	1,000								
Ca ²⁺	0,985	0,733	0,156	0,984	1,000							
F ⁻	-0,14	-0,038	0,236	-0,200	-0,183	1,000						
Cl ⁻	0,982	0,801	0,253	0,921	0,948	-0,066	1,000					
Br ⁻	0,963	0,624	0,010	0,999	0,982	-0,218	0,919	1,000				
NO ₃ ⁻	0,967	0,657	0,051	0,991	0,981	-0,180	0,931	0,990	1,000			
PO ₄ ³⁻	0,967	0,634	0,029	0,999	0,985	-0,199	0,923	0,999	0,991	1,000		
SO ₄ ²⁻	0,963	0,683	0,058	0,980	0,983	-0,174	0,936	0,979	0,983	0,981	1,000	
SCN ⁻	0,965	0,638	0,020	0,998	0,986	-0,207	0,923	0,998	0,992	0,998	0,985	1,00
Bierni palacze												
	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻
Na ⁺	1,000											
NH ₄ ⁺	0,404	1,000										
K ⁺	0,446	0,794	1,000									
Mg ²⁺	0,354	0,603	0,52	1,000								
Ca ²⁺	0,463	0,713	0,88	0,513	1,000							
F ⁻	0,255	0,255	0,35	0,394	0,264	1,000						
Cl ⁻	0,844	0,185	0,08	0,293	0,112	0,233	1,000					
Br ⁻	-0,12	0,249	0,07	0,046	0,154	-0,18	-0,14	1,000				
NO ₃ ⁻	0,392	0,465	0,35	0,348	0,391	0,186	0,3	-0,078	1,000			
PO ₄ ³⁻	0,137	0,119	0,1	0,183	0,115	0,126	0,05	-0,015	0,055	1,000		
SO ₄ ²⁻	-0,05	0,016	0,01	0,465	0,057	0,26	0,03	-0,125	0,031	0,080	1,000	
SCN ⁻	0,185	0,479	0,16	0,287	0,235	0,239	0,23	0,403	0,376	-0,091	0,109	1,000
Grupa kontrolna												
	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻
Na ⁺	1,000											
NH ₄ ⁺	0,079	1,000										
K ⁺	0,747	-0,02	1,000									
Mg ²⁺	-0,020	-0,02	-0,065	1,000								
Ca ²⁺	0,645	-0,07	0,761	0,030	1,000							
F ⁻	-0,029	0,030	0,121	0,082	0,030	1,000						
Cl ⁻	0,703	0,138	0,241	0,041	0,278	0,151	1,000					
Br ⁻	0,615	-0,03	0,424	-0,052	0,375	-0,26	0,333	1,000				
NO ₃ ⁻	0,327	-0,02	0,276	0,036	0,188	0,120	0,377	0,142	1,000			
PO ₄ ³⁻	0,568	-0,01	0,449	-0,038	0,445	-0,28	0,224	0,342	0,484	1,000		
SO ₄ ²⁻	0,181	0,171	0,082	-0,014	0,093	-0,05	0,195	0,252	0,129	0,083	1,000	
SCN ⁻	0,420	0,039	0,278	-0,039	0,259	-0,22	0,262	0,170	0,525	0,852	0,117	1,000

Tabela 26 Informacje dotyczące wyników oznaczania formaldehydu w próbkach potu

Grupa dawców	Średnie stężenie HCHO [mg/g]*10 ⁻³	Maksymalne stężenie HCHO [mg/g]*10 ⁻³	SD*10 ⁻³
aktywni palacze (palący więcej niż 10 sztuk dziennie)	8,48	34,60	9,54
aktywni palacze (palący mniej niż 10 sztuk dziennie)	3,38	35,00	6,38
Bierni palacze	1,911	11,07	2,38
Grupa kontrolna	1,673	15,20	3,27

Zbiory danych pomiarowych poddano analizie chemometrycznej. Przeprowadzono porównanie średnich wartości stężeń wszystkich parametrów chemicznychznaczonych w próbkach pobranych od dawców należących do wszystkich kategorii: aktywnych palaczy palących powyżej 10 papierosów dziennie, aktywnych palaczy palących mniej niż 10 papierosów dziennie, biernych palaczy i grupy kontrolnej.

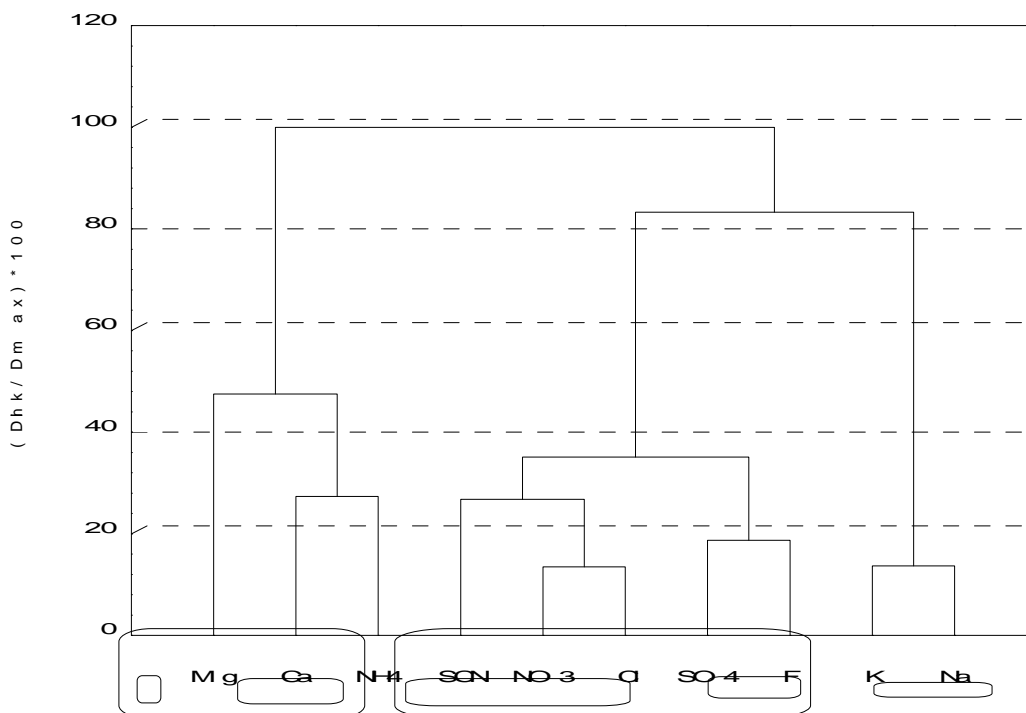
Z analizy danych wynika, iż jony PO₄³⁻, NO₃²⁻, Br⁻ oraz F⁻ nie mogą spełniać roli jonów wskaźnikowych, ponieważ ich stężenia w próbkach potu są podobne dla wszystkich grup dawców.

Z wyników przeprowadzonej analizy chemometrycznej można wysnuć następujące wnioski:

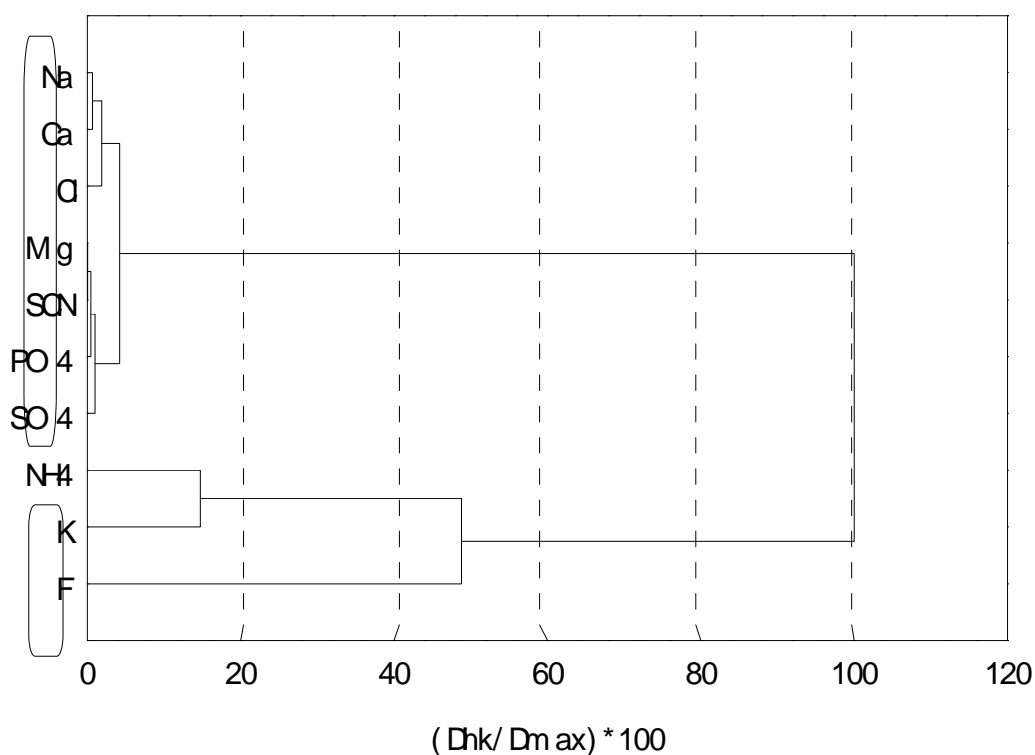
- dla grupy dawców palących więcej niż 10 papierosów dziennie rolę jonu wskaźnikowego mogą pełnić jony Ca²⁺;
- dla grupy dawców palących mniej niż 10 papierosów dziennie rolę jonów wskaźnikowych mogą pełnić jony Na⁺, SO₄²⁻ oraz SCN⁻;
- dla grupy dawców narażonych na bierne palenie oraz dla grupy kontrolnej nie zanotowano występowania żadnych zależności.

Na Rysunkach 35-38 przedstawiono dendogramy dla wyników znaczeń poszczególnych parametrów chemicznych w próbkach potu pobranych od:

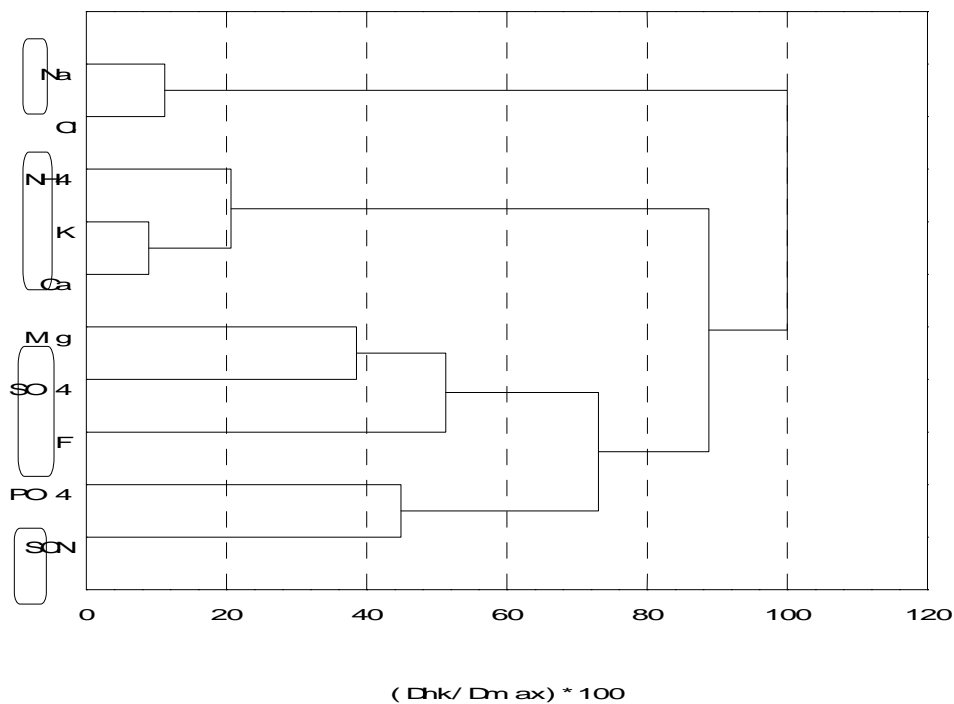
- aktywnych palaczy, palących powyżej 10 sztuk papierosów dziennie (Rysunek 35);
- aktywnych palaczy palących mniej niż 10 sztuk papierosów dziennie (Rysunek 36);
- dawców narażonych na bierne palenie (Rysunek 37);
- grupy kontrolnej (Rysunek 38).



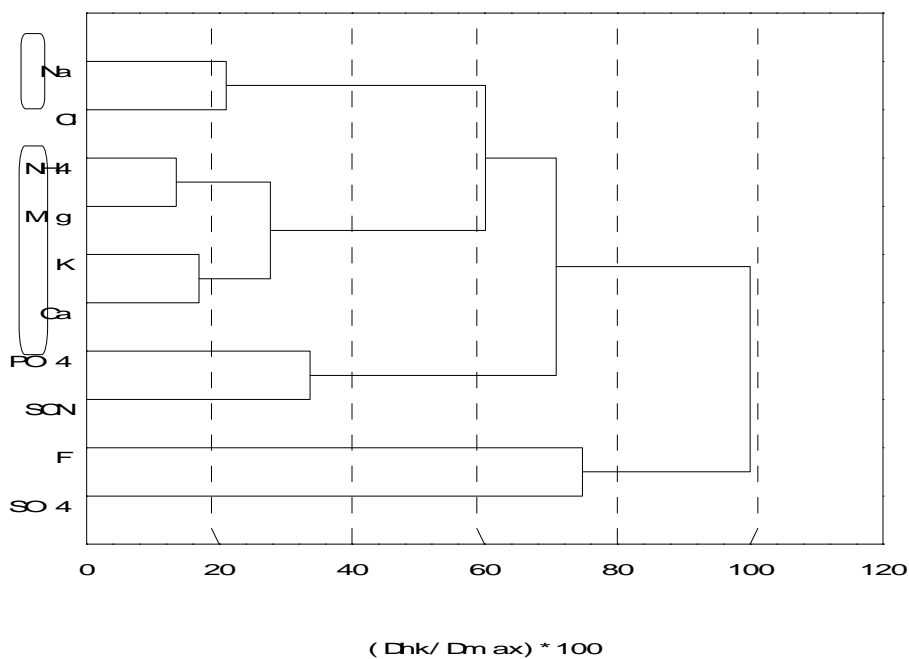
Rysunek 35 Dendrogram dla wyników oznaczania wybranych parametrów chemicznych w próbkach pobranych od dawców palących powyżej 10 sztuk papierosów dziennie



Rysunek 36 Dendrogram dla wyników oznaczania wybranych parametrów chemicznych w próbkach pobranych od dawców palących poniżej 10 sztuk papierosów dziennie



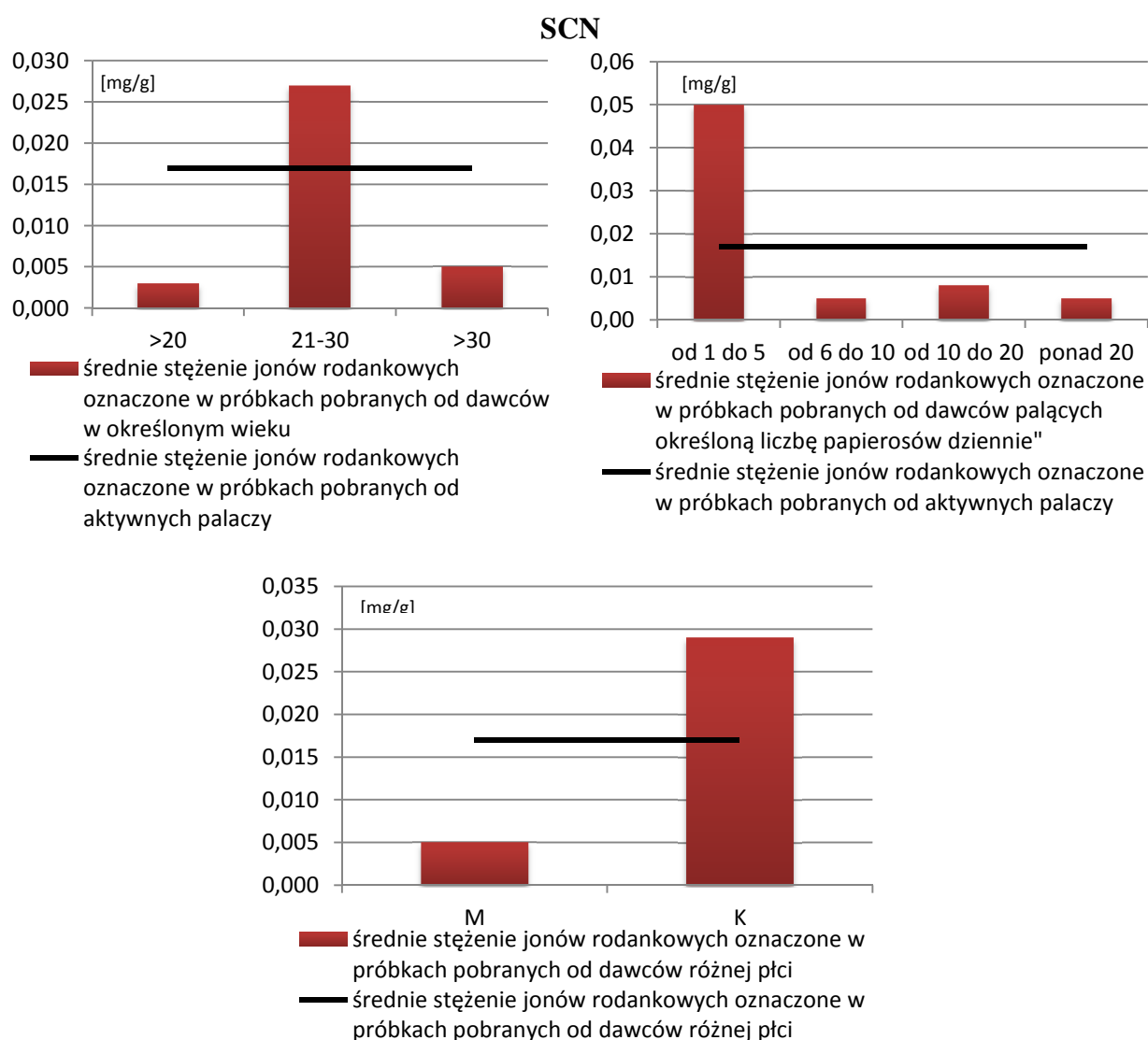
Rysunek 35 Dendrogram dla wyników oznaczania wybranych parametrów chemicznych w próbkach pobranych od dawców narażonych na bierne palenie



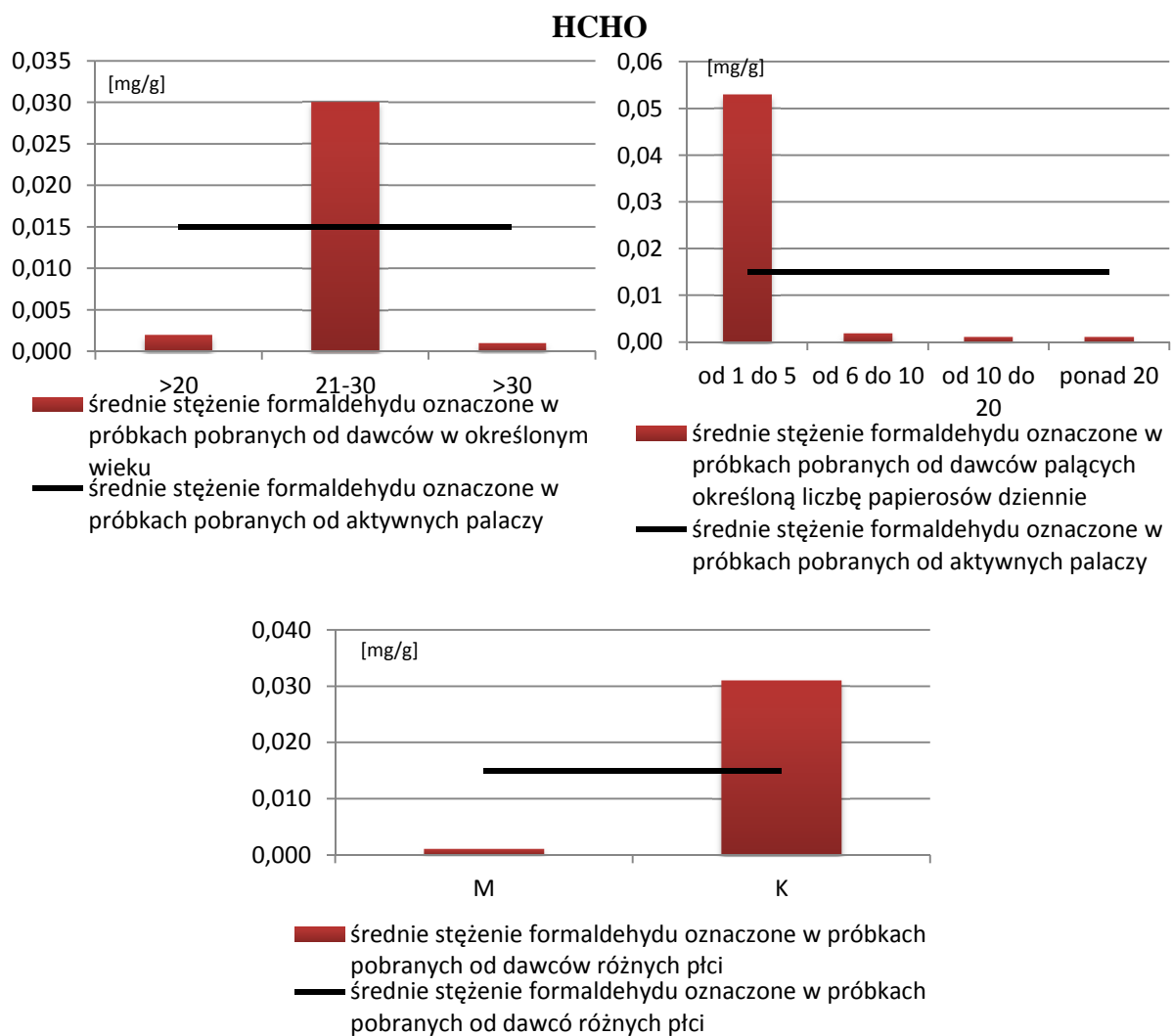
Rysunek 35 Dendrogram dla wyników oznaczania wybranych parametrów chemicznych w próbkach pobranych od dawców z grupy kontrolnej

Analiza danych zawartych w ankietach osobowych prowadzi do następujących wniosków (Rysunek 36):

- największe stężenie jonów rodankowych oznaczono w próbce potu pobranej od mężczyzny palącego od 11-20 sztuk papierosów marki *Golden Americian* dziennie;
- w grupie osób palących tytoń 45% stanowiły kobiety, natomiast 55% próbek pobrano od mężczyzn. Mimo takiego rozkładu płci, aż 62% próbek, w których stężenie jonów rodankowych było większe niż średnia zawartość tych jonów należało do kobiet;
- w grupie osób palących, 70% próbek pobrano od osób, które nie przekroczyły 30 roku życia, natomiast 30% należało do osób starszych. Największe stężenie parametrów chemicznych oznaczono w próbkach potu pobranych od dawców w wieku do 30 roku życia
- największe średnie stężenie parametrów chemicznych oznaczono w próbkach pobranych od osób palących d 1 do 5 sztuk papierosów dziennie.



Rysunek 36 Informacje o średnim stężeniu SCN i HCHO w próbkach potu w zależności od płci, wieku oraz liczby wypalanych dziennie papierosów



Rysunek 36 Informacje o średnim stężeniu SCN⁻ i HCHO w próbkach potu w zależności od płci, wieku oraz liczby wypalanych dziennie papierosów

3.6.5 Ślina pobrana od kobiet w ciąży

W Tabeli 27 podano informacje o zakresach stężeń poszczególnych analitów oznaczonych w próbkach śliny, odchyleniu standardowym oraz o częstości występowania danego składnika w próbce (f-wyrażone w procentach).

Na Rysunku 37 przedstawiono informacje o stężeniu jonów rodankowych, biomarkera narażenia na składniki dymu tytoniowego, oznaczonym w próbkach pobranych od kobiet palących tytoń, oraz informacje o średnim stężeniu tych jonów oznaczonym w próbkach pobranych od kobiet należących do grupy kontrolnej. Na Rysunku 38 przedstawiono informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w badanych próbkach śliny pobranej od kobiet w ciąży.

Z wyników zebranych w Tabeli 27 oraz przedstawionych poglądowo na Rysunkach 37 i 38 można wysnuć następujące wnioski:

- największe średnie stężenie jonów rodankowych oznaczono w próbkach śliny pobranych od kobiet należących do grupy aktywnie palących, było ono 5-cio krotnie większe niż średnie stężenie tych jonów oznaczone w próbkach pobranych od kobiet należących do grupy kontrolnej;
- największe średnie stężenie jonów amonowych oraz potasu oznaczono w próbkach pobranych od kobiet z grupy aktywnie palących;
- procentowy udział jonów rodankowych w całkowitej zawartości jonów w próbkach śliny było największe w przypadku próbek pobranych od grupy aktywnych palaczy.

Obliczono wartości liczbowe współczynników korelacji jakie występują pomiędzy stężeniami poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach śliny pobranej od kobiet w ciąży. Wartości liczbowe współczynnika korelacji dla próbek śliny zestawiono w Tabeli 28. Występowanie największych wartości liczbowych współczynników korelacji stwierdzono pomiędzy:

- jonami Br^- a NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , SCN^- , Na^+ , K^+ , jonami NO_3^- a NH_4^+ i K^+ , jonami PO_4^{3-} a SCN^- i K^+ , oraz jonami SCN^- a K^+ ;
- w grupie biernych palaczy istotne wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono między jonami Cl^- a SO_4^{2-} i K^+ , NO_2^- a NO_3^- i PO_4^{3-} , oraz między jonami SO_4^{2-} i K^+ .

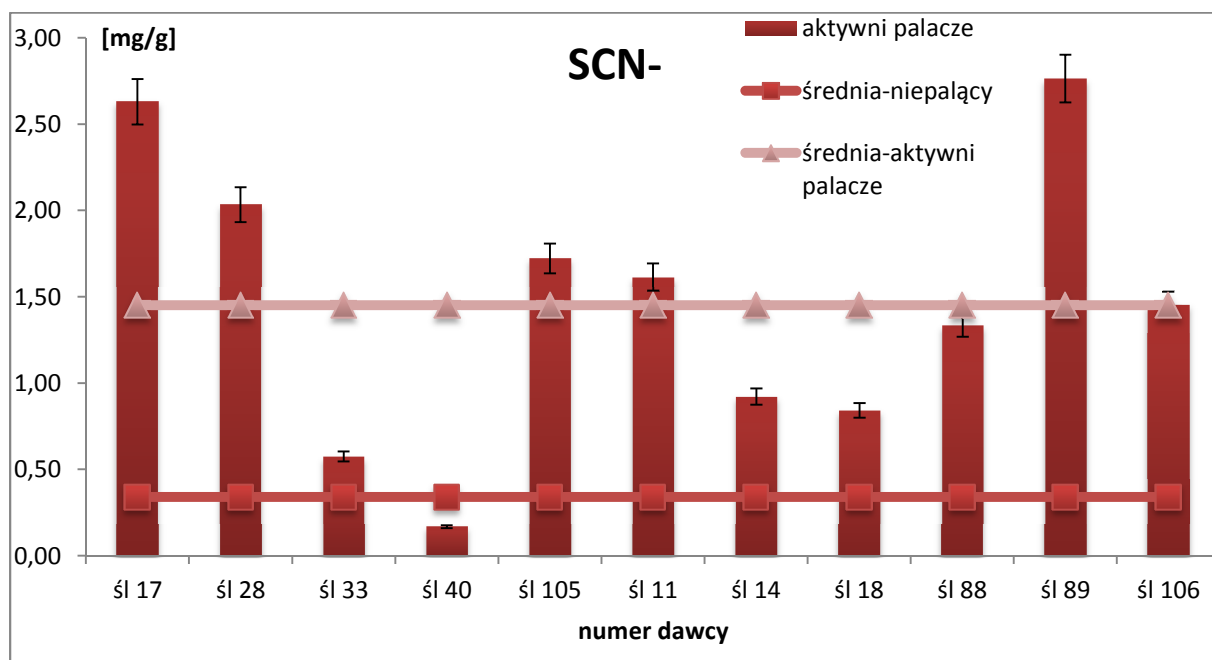
Przeprowadzono również analizę informacji dotyczących stanu zdrowia noworodka po porodzie zawartych w kwestionariuszach osobowych, które wypełniły kobiety biorące udział w badaniach. W związku z przypadkami odmowy udzielenia odpowiedzi na niektóre z pytań, pod uwagę wzięto jedynie te ankiety, w których dawczynie próbek udzieliły pełnych odpowiedzi na pytania.

Z danych zawartych w ankietach dotyczących próbek śliny wynika, iż w przypadku noworodków urodzonych przez kobiety palące w trakcie ciąży, jedynie jedno z dzieci uzyskało maksymalną wartość punktacji w skali Apgar, określającej stan zdrowia tuż po porodzie. Średnia ilość punktów uzyskanych przez noworodki, których matki należały do grupy aktywnych palaczek wynosiła 8,7. Średnia waga urodzeniowa dzieci, których matki paliły w trakcie ciąży wynosiła 3647 g. Nie zanotowano przypadku, w którym masa dziecka mogłaby zostać uznana za zbyt niską. Trójka dzieci wymagała dodatkowych obserwacji przez okres kilku godzin po porodzie. Nie zauważono wpływu przyjmowanych leków na zawartości poszczególnych parametrów chemicznych. Również marka palonych przez kobiety papierosów nie miała wpływu na wielkość stężenia jonów rodankowych w próbkach śliny.

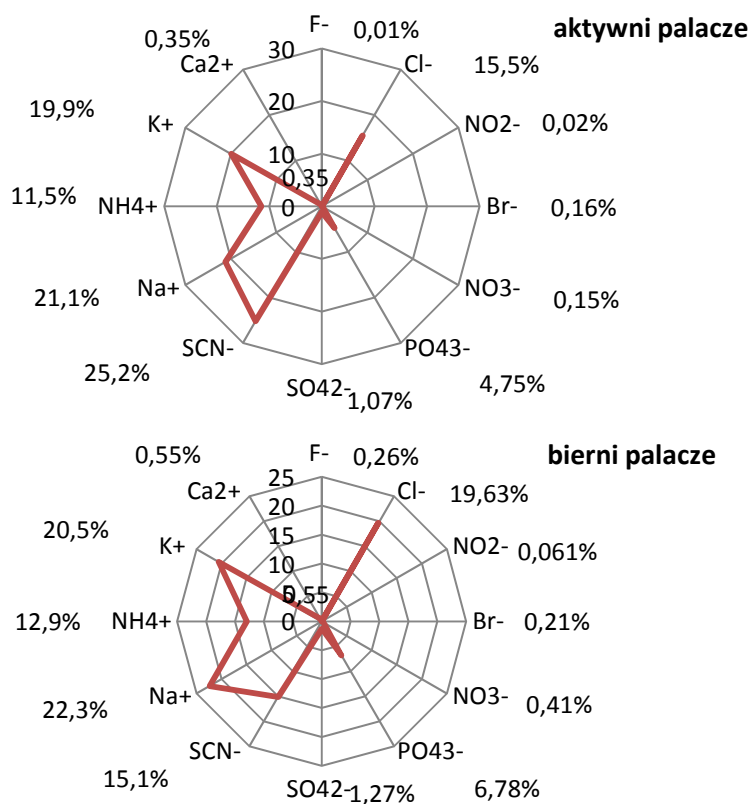
Tabela 27 Informacje o wynikach uzyskanych podczas oznaczania wybranych jonów w próbkach śliny pobranej od kobiet w ciąży

aktywni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
SD	0,001	0,305	0,002	0,007	0,010	0,144	0,035	0,776	0,709	0,442	0,584	0,047
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,003	0,434-1,48	<LOD-0,007	<LOD-0,021	<LOD-0,033	0,126-0,668	0,012-0,127	0,167-2,76	0,322-2,59	<LOD-1,79	0,433-2,43	<LOD-0,152
Średnia [mg/g]	0,001	0,898	0,001	0,010	0,009	0,275	0,062	1,459	1,225	0,668	1,152	0,020
f [%]	27	100	27	91	49	100	100	100	100	91	100	18
bierni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
SD	0,001	0,260	0,006	0,007	0,025	0,090	0,069	0,366	0,568	0,376	0,309	0,041
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,004	0,463-1,634	<LOD-0,026	<LOD-0,029	<LOD-0,103	0,063-0,507	0,003-0,345	0,168-1,58	0,186-2,08	<LOD-1,453	<LOD-1,555	<LOD-0,125
Średnia [mg/g]	0,001	0,789	0,002	0,008	0,016	0,273	0,051	0,607	0,900	0,522	0,827	0,022
f [%]	30	100	30	95	75	100	100	100	100	85	95	20
grupa kontrolna												
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
SD	0,003	0,278	0,003	0,019	0,019	0,136	0,047	0,257	0,858	0,290	0,498	0,065
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,017	0,068-1,341	<LOD-0,011	<LOD-0,113	<LOD-0,077	<LOD-0,672	<LOD-0,216	<LOD-0,941	<LOD-4,017	<LOD-1,263	<LOD-2,594	<LOD-0,333
Średnia [mg/g]	0,001	0,736	0,001	0,012	0,011	0,213	0,049	0,339	0,928	0,499	0,755	0,027
f [%]	21	100	24	87	48	100	97	94	97	91	91	24

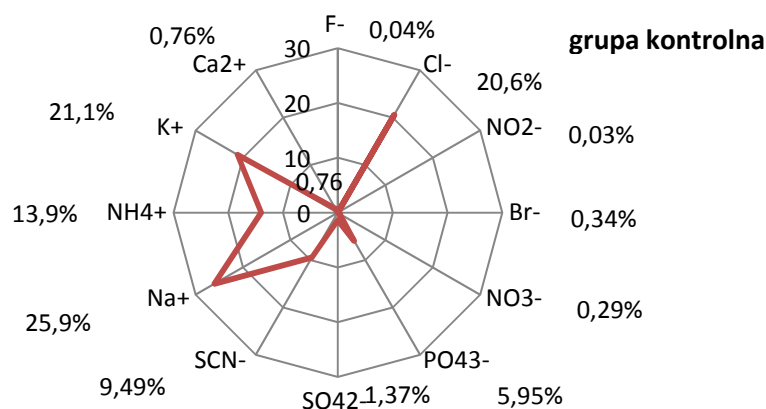
SD-odchylenie standardowe



Rysunek 37 Informacje o stężeniu jonów rodankowych w próbkach pobranych od kobiet palących tytoń oraz o średnim stężeniu tych jonów w próbkach pobranych od kobiet należących do grupy kontrolnej



Rysunek 38 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach śliny pobranej od kobiet w ciąży



Rysunek 38 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach śliny pobranej od kobiet w ciąży

Tabela 28 Informacje o wartościach liczbowych współczynników korelacji obliczonych na podstawie oznaczonych stężeń poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach śliny pobranej od kobiet w ciąży

Aktywni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00											
Cl ⁻	-0,31	1,00										
NO ₂ ⁻	-0,05	-0,39	1,00									
Br ⁻	0,10	0,43	-0,14	1,00								
NO ₃ ⁻	-0,42	0,36	-0,26	0,65	1,00							
PO ₄ ³⁻	-0,08	0,43	-0,21	0,54	0,23	1,00						
SO ₄ ²⁻	0,09	0,02	0,34	0,64	0,38	0,48	1,00					
SCN ⁻	0,20	0,36	-0,50	0,66	0,33	0,71	0,20	1,00				
Na ⁺	0,49	0,01	-0,20	0,70	0,27	0,45	0,69	0,60	1,00			
NH ₄ ⁺	-0,18	0,57	-0,10	0,47	0,56	0,13	0,41	0,13	0,18	1,00		
K ⁺	0,11	0,52	-0,26	0,86	0,58	0,78	0,66	0,75	0,72	0,43	1,00	
Ca ²⁺	-0,21	0,23	0,13	-0,22	-0,38	-0,14	-0,30	-0,05	-0,26	-0,12	-0,43	1,00
Bierni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00											
Cl ⁻	-0,18	1,00										
NO ₂ ⁻	-0,29	0,20	1,00									
Br ⁻	0,50	-0,25	-0,27	1,00								
NO ₃ ⁻	-0,17	-0,12	0,79	0,06	1,00							
PO ₄ ³⁻	-0,28	0,31	0,66	-0,11	0,50	1,00						
SO ₄ ²⁻	-0,13	0,68	0,11	-0,12	-0,15	0,41	1,00					
SCN ⁻	0,12	0,13	0,05	0,17	0,01	0,14	-0,13	1,00				
Na ⁺	0,42	0,16	-0,35	0,55	-0,20	-0,31	0,06	0,05	1,00			
NH ₄ ⁺	0,24	-0,10	0,01	0,04	0,10	0,09	-0,23	0,51	0,06	1,00		
K ⁺	-0,24	0,67	0,07	-0,36	-0,07	0,24	0,57	0,25	-0,11	0,19	1,00	
Ca ²⁺	-0,29	0,33	0,40	-0,32	0,16	0,38	0,49	-0,27	-0,34	-0,35	0,23	1,00
Grupa kontrolna												
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00											
Cl ⁻	-0,20	1,00										
NO ₂ ⁻	-0,12	0,22	1,00									
Br ⁻	0,17	0,07	-0,01	1,00								
NO ₃ ⁻	0,03	-0,16	0,16	0,20	1,00							
PO ₄ ³⁻	-0,03	0,15	0,10	0,38	0,60	1,00						

Tabela 28 cd.

SO₄²⁻	0,53	-0,06	-0,07	0,21	-0,06	0,15	1,00					
SCN⁻	-0,15	0,30	0,18	0,23	0,09	0,41	0,00	1,00				
Na⁺	0,03	-0,09	0,17	0,45	0,38	0,59	0,23	0,20	1,00			
NH₄⁺	-0,36	0,38	0,03	0,28	0,13	0,39	0,22	0,51	0,37	1,00		
K⁺	0,03	0,19	0,20	0,46	0,45	0,82	0,17	0,29	0,68	0,32	1,00	
Ca²⁺	0,58	0,02	-0,15	-0,06	-0,19	-0,23	0,12	-0,03	-0,09	-0,25	-0,10	1,00

W próbkach śliny oznaczono również formaldehyd. Największe średnie stężenie formaldehydu oznaczono w próbkach śliny pobranych od grupy kobiet aktywnie palących w trakcie trwania ciąży. Największe stężenie tego parametru chemicznego oznaczono w próbce pobranej od dawczyni z grupy biernych palaczek (Tabela 29).

Tabela 29 Informacje o średnim stężeniu formaldehydu oznaczonym w próbkach śliny pobranej od kobiet

HCHO*10⁻³[mg/g]	
aktywni palacze	
Średnie stężenie	7,40
Maksymalne oznaczone stężenie	20,20
SD	7,10
bierni palacze	
Średnie stężenie	4,20
Maksymalne oznaczone stężenie	24,30
SD	5,20
grupa kontrolna	
Średnie stężenie	4,10
Maksymalne oznaczone stężenie	13,60
SD	3,70

3.6.6 Mleko

W Tabeli 30 zebrano informacje o zakresach stężeń poszczególnych analitów oznaczonych w próbkach mleka, odchyleniu standardowym oraz o częstości występowania danego składnika w próbce (f-wyrażone w procentach).

Na Rysunku 39 przedstawiono informacje o stężeniu jonów rodankowych, biomarkera narażenia na składniki dymu tytoniowego, oznaczonym w próbkach mleka pobranych od kobiet palących tytoń, oraz informacje o średnim stężeniu tych jonów oznaczonym w próbkach pobranych od kobiet należących do grupy kontrolnej. Na Rysunku 40 przedstawiono informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w badanych próbkach mleka.

Z wyników zebranych w Tabeli 30 oraz przedstawionych poglądowo na Rysunkach 39 i 40 można wysnuć następujące wnioski:

- średnie stężenie jonów rodankowych w próbkach pobranych od kobiet palących tytoń było duże większe w porównaniu do próbek pobranych od kobiet należących do pozostałych grup dawców;
- średnie stężenie jonów amonowych było większe w przypadku próbek pobranych od kobiet palących tytoń, niż w przypadku próbek pobranych od kobiet należących do grupy biernych palaczy i do grupy kontrolnej
- procentowy udział jonów rodankowych w całkowitej zawartości jonów oznaczonych w próbkach mleka był większy w przypadku próbek pobranych od kobiet należących do grupy aktywnych palaczek.

Obliczono wartości liczbowe współczynników korelacji jakie występują pomiędzy stężeniami poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach mleka. Z zebranych w Tabeli 31 danych wynika, iż:

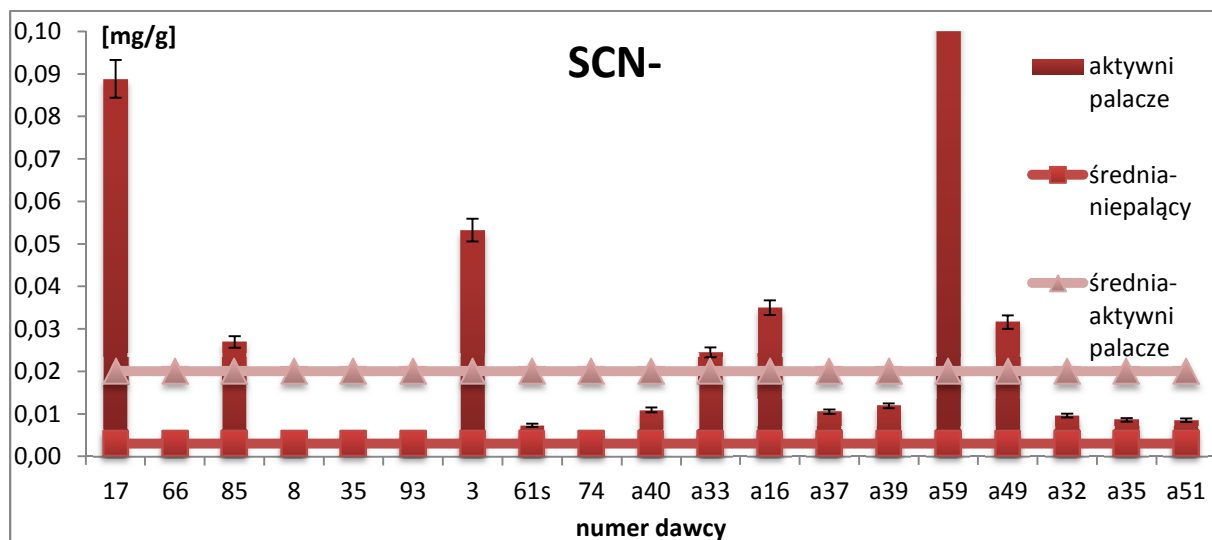
- w grupie osób aktywnie palących największe wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono pomiędzy stężeniami jonów F^- a SO_4^{2-} i Mg^{2+} , dla jonów PO_4^{3-} a Na^+ , NH_4^+ i Mg^{2+} , oraz pomiędzy stężeniami jonów NH_4^+ a K^+ ;
- w grupie biernych palaczy największe wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono pomiędzy stężeniami jonów F^- a SO_4^{2-} , SO_4^{2-} a Mg^{2+} , oraz SCN^- a NH_4^+ ;
- w grupie kontrolnej obliczono największe wartości liczbowe współczynnika korelacji ($>0,9$) pomiędzy stężeniami jonów PO_4^{3-} a SCN^- i Na^+ , pomiędzy stężeniami jonów SCN^- a Na^+ i NH_4^+ oraz pomiędzy stężeniami jonów NH_4^+ a K^+ .

Z danych uzyskanych z kwestionariuszy osobowych wynika, że w przypadku grupy kobiet aktywnie palących tytoń, średnia wartość punktacji w skali Apgar przez noworodka wynosiła 9 (najmniejsza liczba punktów jakie uzyskało dziecko kobiety palącej w trakcie ciąży wynosiła 4) . Średnia masa noworodka w tej grupie wynosiła 3639 g (najniższa masa urodzeniowa noworodka, którego matka paliła w trakcie ciąży wynosiła w tej grupie 2850 g dla dziecka urodzonego w 40 tygodniu ciąży). Analiza informacji dotyczących marki palonych przez kobiety papierosów oraz przyjmowanych pod koniec ciąży leków nie wykazała wpływu na zawartość poszczególnych parametrów chemicznych. Pod uwagę wzięto również dietę kobiet. Okazało się, że spora część kobiet deklarowała wysokie spożycie produktów mlecznych, oraz warzyw kapustnych. Rozkład kobiet stosujących dietę bogatą w te produkty był zbliżony w każdej z grup dawczyń, dlatego wyeliminowany został wpływ przyjmowanych pokarmów na stężenie jonów rodankowych.

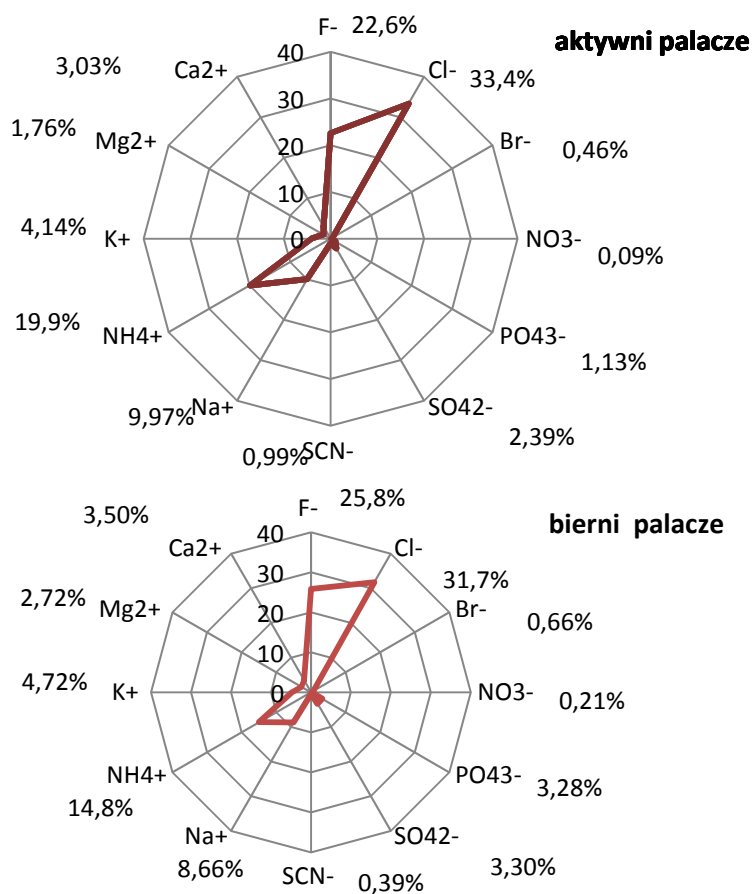
Tabela 30 Informacje o wynikach uzyskanych podczas oznaczania wybranych jonów w próbkach mleka

aktywni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,732	0,819	0,019	0,003	0,027	0,065	0,029	0,315	0,706	0,088	0,046	0,055
Zakres stężeń [mg/g]	0,001-2,408	0,093-2,993	<LOD-0,070	<LOD-0,013	<LOD-0,091	<LOD-0,193	<LOD-0,110	0,013-1,1613	0,011-2,7265	0,027-0,4015	<LOD-0,137	0,019-0,256
Średnia [mg/g]	0,540	0,797	0,011	0,002	0,027	0,057	0,023	0,237	0,476	0,098	0,042	0,072
f [%]	100	100	95	60	95	75	100	100	100	100	45	100
bierni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,521	0,427	0,037	0,008	0,169	0,074	0,009	0,210	0,381	0,078	0,054	0,041
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-1,827	0,142-1,669	<LOD-0,167	<LOD-0,033	<LOD-0,787	<LOD-0,227	<LOD-0,032	0,011-0,832	0,012-1,275	0,025-0,360	<LOD-0,160	0,024-0,173
Średnia [mg/g]	0,525	0,646	0,013	0,004	0,067	0,067	0,008	0,176	0,305	0,096	0,055	0,071
f [%]	100	100	95	75	100	80	95	100	100	100	55	100
grupa kontrolna												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,673	0,791	0,054	0,016	0,057	0,071	0,011	0,964	0,503	0,087	0,053	0,040
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-2,445	0,190-4,847	<LOD-0,295	<LOD-0,086	<LOD-0,355	<LOD-0,268	<LOD-0,062	<LOD-5,872	<LOD-2,958	<LOD-0,509	<LOD-0,190	<LOD-0,191
Średnia [mg/g]	0,701	0,953	0,021	0,007	0,029	0,090	0,003	0,247	0,186	0,070	0,077	0,072
f [%]	97	100	94	67	100	85	59	97	97	97	76	97

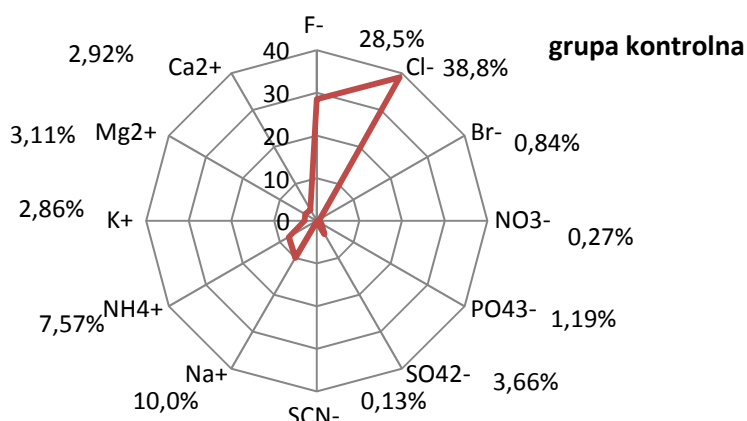
SD-odchylenie standardowe



Rysunek 39 Informacje o stężeniu jonów rodankowych w próbkach mleka pobranych od kobiet palących tytoń oraz o średnim stężeniu tych jonów w próbkach pobranych od kobiet należących do grupy kontrolnej



Rysunek 40 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach mleka



Rysunek 40 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach mleka

Tabela 31 Informacje o wartościach liczbowych współczynników korelacji obliczonych na podstawie oznaczonych stężeń poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach mleka

Aktywni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00											
Cl ⁻	0,49	1,00										
Br ⁻	0,37	0,30	1,00									
NO ₃ ⁻	0,32	0,33	0,45	1,00								
PO ₄ ³⁻	-0,06	0,01	0,10	-0,03	1,00							
SO ₄ ²⁻	0,76	0,42	0,57	0,63	-0,25	1,00						
SCN ⁻	-0,29	-0,25	0,22	0,15	0,38	-0,04	1,00					
Na ⁺	-0,42	-0,09	-0,25	-0,37	0,76	-0,55	0,30	1,00				
NH ₄ ⁺	-0,45	-0,28	-0,21	-0,38	0,80	-0,56	0,57	0,82	1,00			
K ⁺	-0,40	-0,24	-0,18	-0,36	0,73	-0,54	0,58	0,71	0,95	1,00		
Mg ²⁺	0,72	0,64	0,32	0,58	-0,36	0,89	-0,07	-0,54	-0,57	-0,53	1,00	
Ca ²⁺	0,17	0,15	0,24	0,16	0,70	0,16	0,62	0,41	0,66	0,71	0,12	1,00
Bierni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00											
Cl ⁻	0,69	1,00										
Br ⁻	0,03	0,06	1,00									
NO ₃ ⁻	0,45	0,09	-0,15	1,00								
PO ₄ ³⁻	0,05	-0,11	-0,11	0,25	1,00							
SO ₄ ²⁻	0,74	0,42	0,31	0,55	-0,24	1,00						
SCN ⁻	-0,55	-0,46	-0,23	-0,37	-0,06	-0,59	1,00					
Na ⁺	-0,65	-0,36	-0,26	-0,29	-0,08	-0,65	0,55	1,00				
NH ₄ ⁺	-0,66	-0,53	-0,25	-0,36	-0,04	-0,66	0,84	0,65	1,00			
K ⁺	-0,51	-0,42	-0,27	-0,32	-0,10	-0,60	0,61	0,41	0,66	1,00		
Mg ²⁺	0,88	0,65	0,18	0,57	0,13	0,83	-0,68	-0,72	-0,75	-0,64	1,00	
Ca ²⁺	0,22	0,17	-0,28	0,09	-0,05	-0,03	0,22	-0,07	0,28	0,57	0,06	1,00
Grupa kontrolna												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00											
Cl ⁻	0,04	1,00										
Br ⁻	0,48	0,01	1,00									
NO ₃ ⁻	0,45	-0,09	0,82	1,00								
PO ₄ ³⁻	-0,13	0,86	-0,12	-0,15	1,00							
SO ₄ ²⁻	0,41	-0,01	-0,16	-0,07	-0,13	1,00						
SCN ⁻	-0,28	0,70	-0,10	-0,12	0,90	-0,34	1,00					
Na ⁺	-0,23	0,79	-0,08	-0,09	0,95	-0,29	0,96	1,00				
NH ₄ ⁺	-0,31	0,67	-0,11	-0,13	0,89	-0,40	0,98	0,97	1,00			
K ⁺	-0,30	0,64	-0,11	-0,11	0,82	-0,37	0,87	0,91	0,95	1,00		
Mg ²⁺	0,62	0,10	0,26	0,35	-0,14	0,72	-0,40	-0,33	-0,46	-0,39	1,00	
Ca ²⁺	0,34	0,68	-0,06	0,03	0,59	0,35	0,40	0,47	0,38	0,43	0,45	1,00

3.6.7 Łożysko

W Tabeli 32 podano informacje o zakresach stężeń poszczególnych analitów oznaczonych w próbkach łożyska, odchyleniu standardowym oraz o częstości występowania danego składnika w próbce (f-wyrażone w procentach).

Na Rysunku 41 przedstawiono informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w badanych próbkach.

Z wyników zebranych w Tabeli 32 oraz przedstawionych poglądowo na Rysunku 41 można wysnuć następujące wnioski:

- średnie stężenie jonów rodankowych było większe w przypadku próbek łożyska pobranych od aktywnych palaczek tytoniu;
- w próbkach pobranych od aktywnych palaczek oznaczono wyższe stężenie jonów fluorkowych, chlorkowych, fosforanowych i siarczanowych, w porównaniu do stężenia tych jonów oznaczonego w próbkach pobranych od dawczyń z innych grup;
- procentowy udział jonów rodankowych w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach łożyska był większy w przypadku próbek pobranych od kobiet palących oraz biernych palaczek w porównaniu z grupą kontrolną.

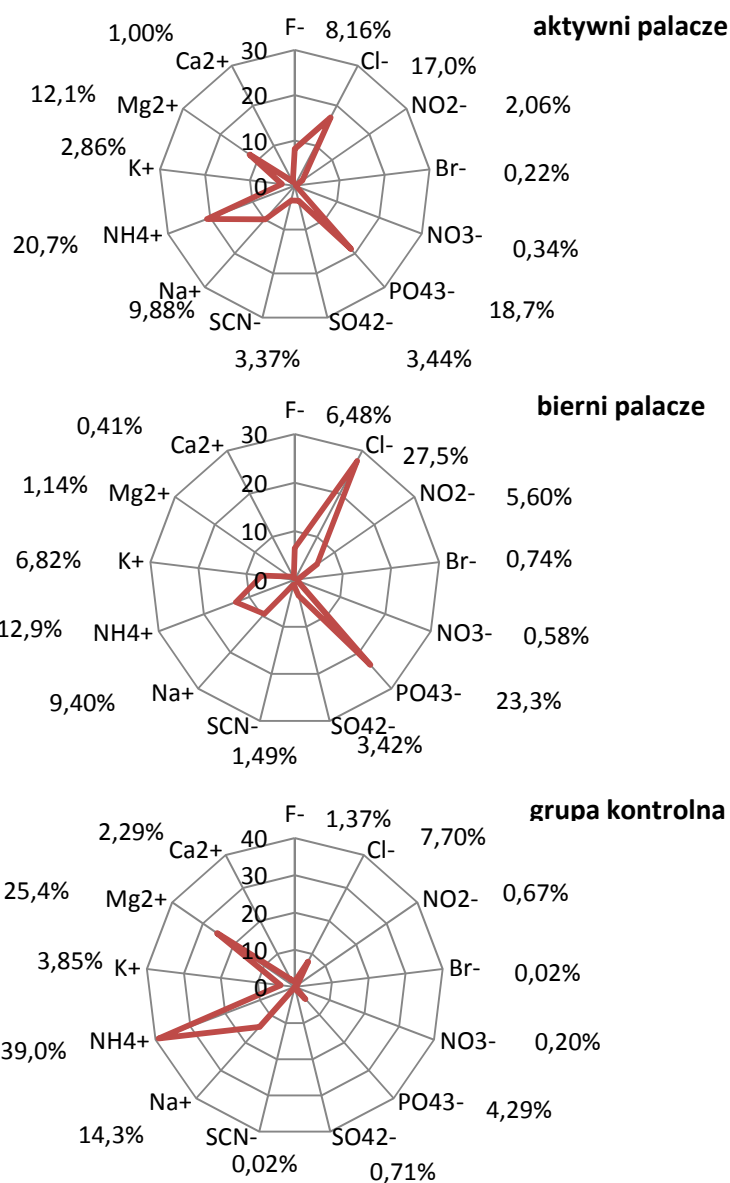
Obliczono wartości liczbowe współczynników korelacji jakie występują pomiędzy stężeniami poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach ekstraktów z łożyska. Analiza danych zebranych w Tabeli 33 prowadzi do następujących wniosków:

- w grupie osób aktywnie palących obliczono największe wartości liczbowe współczynnika korelacji ($>0,9$) pomiędzy stężeniami jonów Na^+ a Ca^+ i Mg^{2+} ; NH_4^+ a Ca^+ i Mg^{2+} oraz między jonami Ca^+ i Mg^{2+} ;
- istotną wartość liczbową współczynnika korelacji obliczono także dla zawartości jonów SCN^- i F^- w próbkach pobranych od aktywnych palaczy;
- w grupie biernych palaczy największe wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono pomiędzy stężeniami jonów Na^+ a NH_4^+ i K^+ ; oraz między NH_4^+ i K^+ ;
- w grupie kontrolnej największe wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono pomiędzy stężeniami jonów Na^+ i Mg^{2+} ; oraz NH_4^+ i Mg^{2+} .

Tabela 32 Informacje o wynikach uzyskanych podczas oznaczania wybranych jonów w próbkach łożyska

aktywni palacze													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	2,187	1,677	1,526	0,094	0,202	6,069	0,928	1,344	4,425	12,633	0,874	9,676	0,721
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-9,133	0,858-7,333	<LOD-10,207	<LOD-0,519	<LOD-1,293	<LOD-34,477	<LOD-4,330	<LOD-6,442	0,392-27,608	<LOD-59,610	<LOD-3,410	<LOD-64,974	0,011-3,815
Średnia [mg/g]	1,784	3,716	0,451	0,050	0,075	4,087	0,752	0,737	2,157	4,531	0,626	2,648	0,220
f [%]	73	98	14,4	48	62	97	94	98	100	98	70	97	100
bierni palacze													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	1,085	1,562	1,646	0,559	0,272	2,713	0,432	0,566	0,918	1,169	0,864	0,203	0,033
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-5,102	<LOD-9,741	<LOD-10,203	<LOD-4,841	<LOD-1,945	<LOD-10,808	<LOD-2,599	0,002-4,285	0,2289-5,200	0,082-5,777	<LOD-3,906	<LOD-0,670	0,005-0,160
Średnia [mg/g]	0,706	2,992	0,610	0,081	0,064	2,544	0,372	0,165	1,023	1,409	0,743	0,125	0,045
f [%]	60	97	27	48	58	13,5	91	100	100	100	94	73	100
grupa kontrolna													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,945	1,672	0,823	0,025	0,506	1,491	0,371	0,015	6,661	19,749	5,311	15,794	1,861
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-6,712	<LOD-12,325	<LOD-5,676	<LOD-0,245	<LOD-7,638	<LOD-10,407	<LOD-2,524	<LOD-0,067	<LOD-46,517	<LOD-81,436	<LOD-81,873	<LOD-131,677	<LOD-20,557
Średnia [mg/g]	0,434	2,438	0,215	0,006	0,064	1,358	0,227	0,008	4,535	12,366	1,220	8,045	0,727
f [%]	70	99	14	39	38	93	92	31,6	99	99	93	97	99

SD-odchylenie standardowe



Rysunek33 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach łożyska

Z analizy danych zawartych w ankietach osobowych wynika, że średnia liczba punktów Apgar przyznanych noworodkom urodzonym przez kobiety palące w trakcie ciąży wynosiła 9,3 (najniższa przyznana ilość punktów wynosiła 8), natomiast średnia masa urodzeniowa wynosiła 3574 g (najniższa masa noworodka wyniosła 2480 g). Niemal 31% noworodków po porodzie wymagało przebywania pod szczególną obserwacją, co spowodowane było problemami zdrowotnymi takimi jak wrodzone wady serca czy zaburzenia adaptacji. Najwyższa zawartość jonów rodankowych oznaczona została w próbce łożyska pobranej od kobiety palącej papierosy marki *L&M* jednak nie zabserwowano, aby marka palonych papierosów miała wpływ na zawartość tych jonów.

Tabela 33 Informacje o wartościach liczbowych współczynników korelacji obliczonych na podstawie oznaczonych stężeń poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach łożyska

Aktywni palacze													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00												
Cl ⁻	0,55	1,00											
NO ₂ ⁻	-0,23	-0,12	1,00										
Br ⁻	0,64	0,32	0,14	1,00									
NO ₃ ⁻	0,13	0,24	-0,01	-0,02	1,00								
PO ₄ ³⁻	0,58	0,52	-0,18	0,40	0,20	1,00							
SO ₄ ²⁻	0,37	0,42	-0,06	0,24	0,01	-0,11	1,00						
SCN ⁻	0,54	0,18	-0,12	0,40	0,08	0,41	0,30	1,00					
Na ⁺	-0,28	-0,18	0,02	-0,12	-0,12	-0,19	-0,23	-0,18	1,00				
NH ₄ ⁺	-0,22	-0,21	-0,05	-0,10	-0,10	-0,16	-0,20	-0,15	0,95	1,00			
K ⁺	-0,51	-0,31	0,19	-0,25	-0,15	-0,36	-0,30	-0,24	0,27	0,18	1,00		
Mg ²⁺	-0,15	-0,11	-0,08	-0,08	-0,08	-0,10	-0,16	-0,11	0,96	0,92	0,03	1,00	
Ca ²⁺	-0,21	-0,20	-0,07	-0,09	-0,10	-0,14	-0,19	-0,15	0,94	0,99	0,99	0,91	1,00
Bierni palacze													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00												
Cl ⁻	0,24	1,00											
NO ₂ ⁻	-0,14	-0,09	1,00										
Br ⁻	-0,04	-0,15	0,07	1,00									
NO ₃ ⁻	0,25	0,29	-0,07	0,09	1,00								
PO ₄ ³⁻	0,60	0,35	-0,27	-0,06	0,21	1,00							
SO ₄ ²⁻	0,13	0,18	0,33	0,03	-0,11	-0,16	1,00						
SCN ⁻	-0,01	0,06	-0,09	-0,03	-0,04	-0,04	0,68	1,00					
Na ⁺	-0,26	0,24	0,48	0,10	0,17	-0,37	0,11	-0,18	1,00				
NH ₄ ⁺	-0,34	0,23	0,38	0,07	0,21	-0,45	-0,09	-0,18	0,86	1,00			
K ⁺	-0,40	0,08	0,31	0,16	0,10	-0,52	-0,06	-0,19	0,88	0,89	1,00		
Mg ²⁺	0,46	0,25	-0,22	-0,03	0,09	0,48	0,23	0,32	-0,33	-0,38	-0,41	1,00	
Ca ²⁺	0,14	0,36	0,29	-0,03	0,14	-0,03	-0,08	-0,17	0,61	0,52	0,52	0,10	1,00
Grupa kontrolna													
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00												
Cl ⁻	0,21	1,00											
NO ₂ ⁻	-0,11	-0,15	1,00										
Br ⁻	0,54	0,12	-0,07	1,00									
NO ₃ ⁻	0,15	0,07	-0,02	0,28	1,00								
PO ₄ ³⁻	0,39	0,42	-0,20	0,07	0,00	1,00							
SO ₄ ²⁻	0,45	0,40	-0,07	0,46	0,00	0,08	1,00						
SCN ⁻	0,51	0,14	-0,10	0,26	0,00	0,39	0,39	1,00					
Na ⁺	-0,22	0,09	-0,12	-0,10	-0,07	0,13	-0,20	-0,28	1,00				
NH ₄ ⁺	-0,21	-0,05	-0,14	-0,10	-0,07	0,03	-0,21	-0,27	0,93	1,00			
K ⁺	-0,09	0,01	0,01	-0,03	-0,02	-0,07	-0,04	-0,10	0,17	0,16	1,00		
Mg ²⁺	-0,16	0,09	-0,13	-0,07	-0,06	0,22	-0,19	-0,21	0,94	0,86	-0,03	1,00	
Ca ²⁺	-0,13	0,00	-0,10	-0,06	-0,05	0,06	-0,14	-0,16	0,63	0,61	0,61	0,57	1,00

3.6.8 Krew żylna pobrana od kobiet w ciąży

W Tabeli 34 podano informacje o zakresach stężeń poszczególnych analitów oznaczonych w próbkach krwi żylniej, odchyleniu standardowym oraz o częstości występowania danego składnika w próbce (f-wyrażone w procentach). Na Rysunku 42 przedstawiono informacje o stężeniu jonów rodankowych, biomarkera narażenia na składniki dymu tytoniowego, oznaczonym

w próbkach krwi żyłnej pobranej od kobiet palących tytoń, oraz informacje o średnim stężeniu tych jonów oznaczonym w próbkach pobranych od kobiet należących do grupy kontrolnej. Na kolejnym Rysunku 43 przedstawiono informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w badanych próbkach.

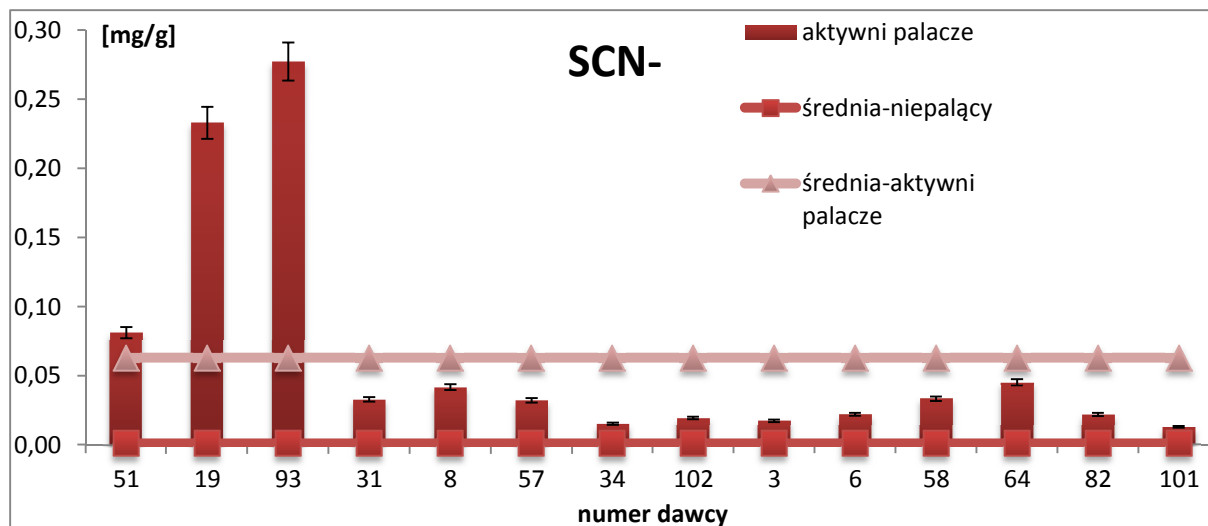
Z wyników zebranych w Tabeli 34 oraz przedstawionych poglądowo na Rysunkach 42 i 43 można wysnuć następujące wnioski:

- średnia zawartość jonów rodankowych w próbkach krwi żyłnej była większa w porównaniu ze średnią zawartością tych jonów w próbkach krwi pobranych od kobiet z innych grup dawców;
- stężenie jonów rodankowych we wszystkich próbkach krwi pobranych od kobiet z grupy aktywnych palaczek było większe niż średnie stężenie tych jonów w próbkach pobranych od osób z grupy kontrolnej
- w próbkach krwi pobranych od kobiet należących do grupy aktywnych palaczek oznaczono największe stężenie jonów fluorkowych oraz chlorkowych;
- procentowy udział jonów rodankowych w całkowitej zawartości jonów oznaczonych w próbkach krwi żyłnej był większy w próbkach pobranych od grupy aktywnych palaczy.

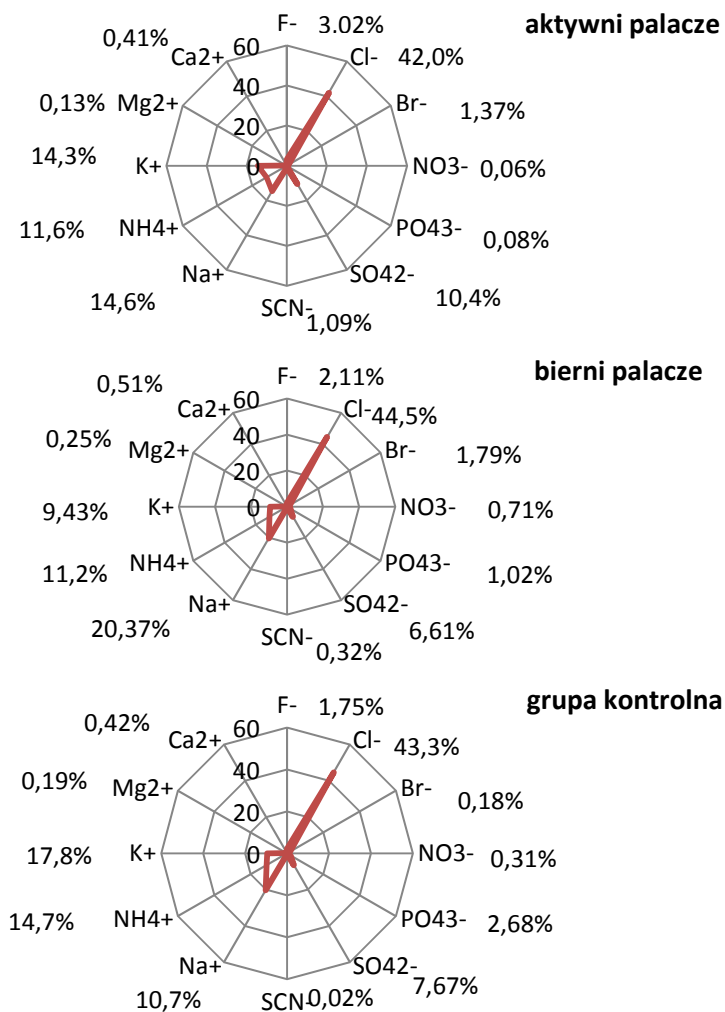
Obliczono wartości liczbowe współczynników korelacji jakie występują pomiędzy stężeniami poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach krwi żyłnej (Tabela 35). Analiza uzyskanych danych prowadzi do następujących wniosków:

- największe wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono w grupie kobiet narażonych na bierne palenie pomiędzy stężeniami jonów F^- a NH_4^+ i K^+ ;
- istotną wartość liczbową współczynnika korelacji obliczono także dla jonów SCN^- i NH_4^+ ; jonów Na^+ i Ca^{2+} w grupie aktywnych palaczy;
- w grupie kontrolnej największe wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono pomiędzy stężeniami jonów K^+ i Mg^{2+} .

Z danych zawartych w ankietach wynika, że średnia liczba punktów Apgar przyznanych noworodkom urodzonym przez matki należące do grupy palaczek wynosiła 9,57, natomiast średnia masa urodzeniowa wynosiła 3465 g. Wśród dzieci, których matki paliły w ciąży tytoń, 14% wymagało szczególnej opieki po porodzie. Przeprowadzono również analizę informacji dotyczących przyzwyczajzeń żywieniowych, jednak nie zanotowano podwyższonego poziomu zawartości jonów rodankowych spowodowanych spożywaniem produktów mlecznych i warzyw kapustnych przez kobiety.



Rysunek 42 Informacje o stężeniu jonów rodankowych w próbkach krwi żyłnej pobranych od kobiet palących tytoń oraz o średnim stężeniu tych jonów w próbkach pobranych od kobiet należących do grupy kontrolnej



Rysunek 43 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach krwi żyłnej

Tabela 34 Informacje o wynikach uzyskanych podczas oznaczania wybranych jonów w próbkach krwi żyłnej pobranej od kobiet w ciąży

aktywni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,038	0,772	0,131	0,049	0,011	0,404	0,081	0,412	0,211	0,242	0,006	0,011
Zakres stężeń [mg/g]	0,082-0,236	<LOD-3,416	<LOD-0,379	<LOD-0,132	<LOD-0,041	0,123-1,619	0,012-0,277	<LOD-1,37	0,478-1,25	0,400-1,35	<LOD-0,022	<LOD-0,051
Średnia [mg/g]	0,176	2,442	0,079	0,035	0,005	0,609	0,063	0,850	0,679	0,836	0,008	0,024
f [%]	100	93	35	42	28	100	100	86	100	100	72	93
bierni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,073	0,869	0,169	0,051	0,149	0,351	0,006	0,298	0,087	0,446	0,005	0,008
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,247	0,231-2,99	<LOD-0,564	<LOD-0,178	<LOD-0,475	0,002-1,10	0,007-0,033	0,092-1,43	0,357-0,670	<LOD-1,22	<LOD-0,024	0,006-0,034
Średnia [mg/g]	0,092	1,934	0,078	0,031	0,088	0,287	0,014	0,884	0,489	0,409	0,011	0,022
f [%]	84	100	24	64	76	100	100	100	100	92	92	100
grupa kontrolna												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
SD	0,069	0,901	0,035	0,041	0,182	0,522	0,002	0,564	0,122	0,290	0,007	0,012
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,322	0,569-3,56	<LOD-0,212	<LOD-0,164	<LOD-0,646	<LOD-2,605	<LOD-0,007	<LOD-1,61	0,409-1,02	<LOD-1,55	<LOD-0,030	<LOD-0,061
Średnia [mg/g]	0,074	1,827	0,008	0,013	0,113	0,324	0,001	0,455	0,624	0,754	0,008	0,018
f [%]	76	100	9	21	60	84	21	48	100	97	80	97

SD-odchylenie standardowe

Tabela 35 Informacje o wartościach liczbowych współczynników korelacji obliczonych na podstawie oznaczonych stężeń poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach krwi żyłnej

Aktywni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00											
Cl ⁻	-0,19	1,00										
Br ⁻	-0,33	0,06	1,00									
NO ₃ ⁻	0,15	0,00	-0,40	1,00								
PO ₄ ³⁻	-0,37	-0,16	0,01	-0,11	1,00							
SO ₄ ²⁻	0,28	0,01	-0,30	-0,22	-0,45	1,00						
SCN ⁻	0,10	0,20	0,17	-0,22	-0,03	-0,08	1,00					
Na ⁺	0,44	0,18	-0,38	0,31	0,16	-0,20	-0,12	1,00				
NH ₄ ⁺	0,24	-0,02	0,04	-0,38	-0,27	0,42	0,77	-0,42	1,00			
K ⁺	-0,10	0,58	-0,19	0,39	0,37	-0,40	0,34	0,48	-0,13	1,00		
Mg ²⁺	-0,50	0,15	0,62	-0,02	-0,22	-0,16	-0,28	-0,25	-0,41	-0,17	1,00	
Ca ²⁺	-0,04	0,28	-0,11	0,33	0,57	-0,26	-0,32	0,66	-0,63	0,57	0,03	1,00
Bierni palacze												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00											
Cl ⁻	0,57	1,00										
Br ⁻	0,76	0,37	1,00									
NO ₃ ⁻	0,13	0,31	-0,25	1,00								
PO ₄ ³⁻	-0,45	0,02	-0,16	-0,31	1,00							
SO ₄ ²⁻	0,60	0,65	0,41	-0,05	-0,43	1,00						
SCN ⁻	0,03	0,10	0,22	-0,03	-0,24	0,44	1,00					
Na ⁺	0,32	0,63	0,17	0,22	0,07	0,40	-0,14	1,00				
NH ₄ ⁺	0,81	0,60	0,67	0,00	-0,15	0,57	0,13	0,38	1,00			
K ⁺	0,87	0,74	0,46	0,40	-0,40	0,69	-0,04	0,52	0,72	1,00		
Mg ²⁺	0,56	0,47	0,52	0,11	-0,01	0,17	-0,41	0,75	0,57	0,51	1,00	
Ca ²⁺	0,03	0,43	-0,13	0,41	-0,05	0,25	0,04	0,83	0,20	0,27	0,54	1,00
Grupa kontrolna												
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00											
Cl ⁻	0,61	1,00										
Br ⁻	0,09	0,05	1,00									
NO ₃ ⁻	0,65	0,40	-0,07	1,00								
PO ₄ ³⁻	-0,06	0,25	-0,14	-0,12	1,00							
SO ₄ ²⁻	0,25	0,48	0,09	0,10	-0,35	1,00						
SCN ⁻	0,57	0,45	0,03	0,67	0,22	0,07	1,00					
Na ⁺	0,56	0,62	-0,06	0,48	-0,41	0,61	0,27	1,00				
NH ₄ ⁺	-0,21	0,00	-0,16	-0,23	0,31	-0,26	0,01	-0,30	1,00			
K ⁺	0,38	0,45	-0,15	0,51	0,12	0,05	0,55	0,27	0,20	1,00		
Mg ²⁺	0,36	0,33	0,02	0,59	-0,09	0,05	0,42	0,28	0,13	0,71	1,00	
Ca ²⁺	0,38	0,33	-0,15	0,54	-0,02	0,06	0,49	0,34	-0,08	0,53	0,34	1,00

3.6.9 Smółka

W Tabeli 36 podano informacje o zakresach stężeń poszczególnych analitów oznaczonych w próbkach smółki, odchyleniu standardowym oraz o częstotliwości występowania danego składnika w próbce (f-wyrażone w procentach).

Na Rysunku 44 przedstawiono informacje o stężeniu jonów rodankowych, biomarkera narażenia na składniki dymu tytoniowego, oznaczonym w próbkach smółki pobranych od noworodków, których matki paliły tytoń, oraz informacje o średnim stężeniu tych jonów oznaczonym w próbkach smółki pobranych od noworodków, których matki należały do grupy kontrolnej. Na kolejnym Rysunku 45 przedstawiono informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w badanych próbkach smółki.

Z wyników zebranych w Tabeli 36 oraz przedstawionych poglądowo na Rysunkach 44 i 45 można wysnuć następujące wnioski:

- średnie stężenie jonów rodankowych jest największe w przypadku próbek smółki pobranych od noworodków, których matki aktywnie paliły tytoń w czasie ciąży;
- w próbkach smółki pobranych od narodków, których matki aktywnie paliły w trakcie ciąży oznaczono największe stężenie jonów sodowych, amonowych i potasowych, oraz najmniejsze stężenie jonów siarczanowych w porównaniu do innych grup dawców;
- procentowy udział jonów rodankowych w całkowitej zawartości jonów oznaczonych w próbkach smółki był największy w przypadku próbek pobranych od noworodków, których matki paliły tytoń.

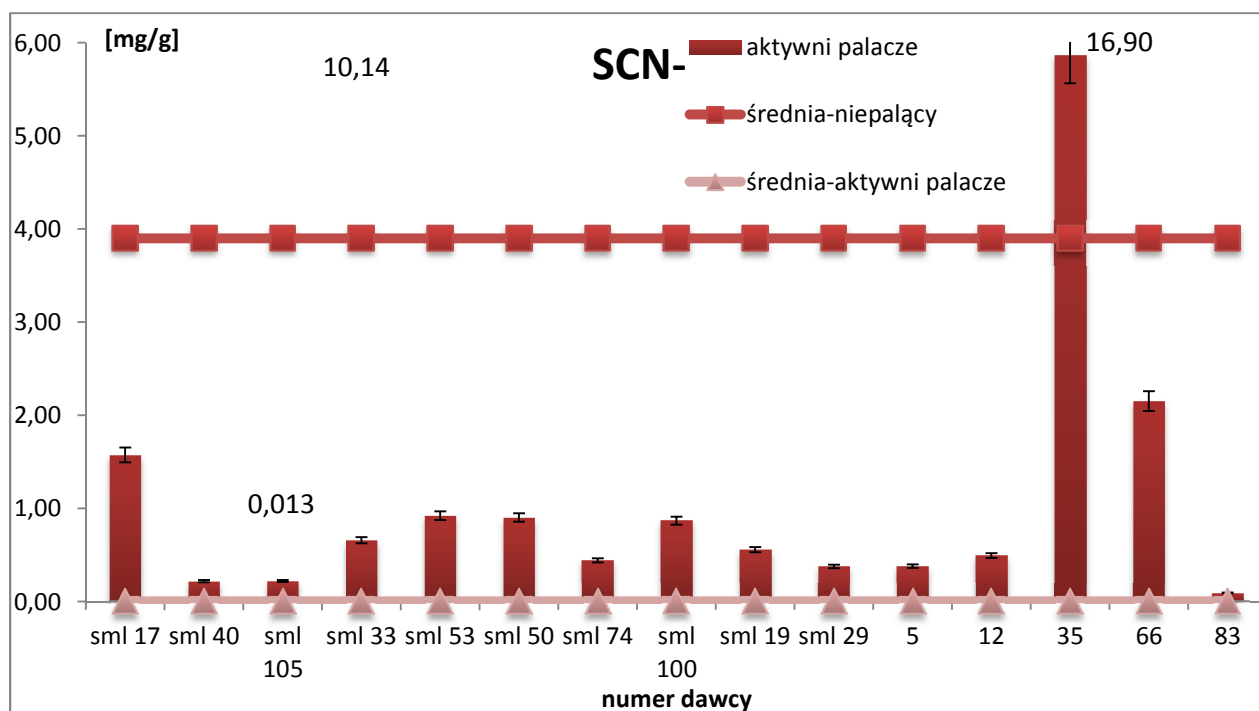
Obliczono wartości liczbowe współczynników korelacji jakie występują pomiędzy stężeniami poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach smółki (Tabela 37). Analiza uzyskanych wyników prowadzi do następujących wniosków:

- największe wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono w grupie kobiet aktywnie palących pomiędzy stężeniami jonów Cl^- a Na^+ , Ca^+ ; SCN^- i NH_4^+ ;
- istotną wartość liczbową współczynnika korelacji obliczono także dla jonów SCN^- a Na^+ , NH_4^+ i Ca^{2+} w grupie aktywnych palaczy;
- w grupie biernych palaczy największe wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono pomiędzy jonami Br^- a NH_4^+ ;
- w grupie kontrolnej największe wartości liczbowe współczynnika korelacji obliczono pomiędzy stężeniami jonów K^+ i Ca^+ .

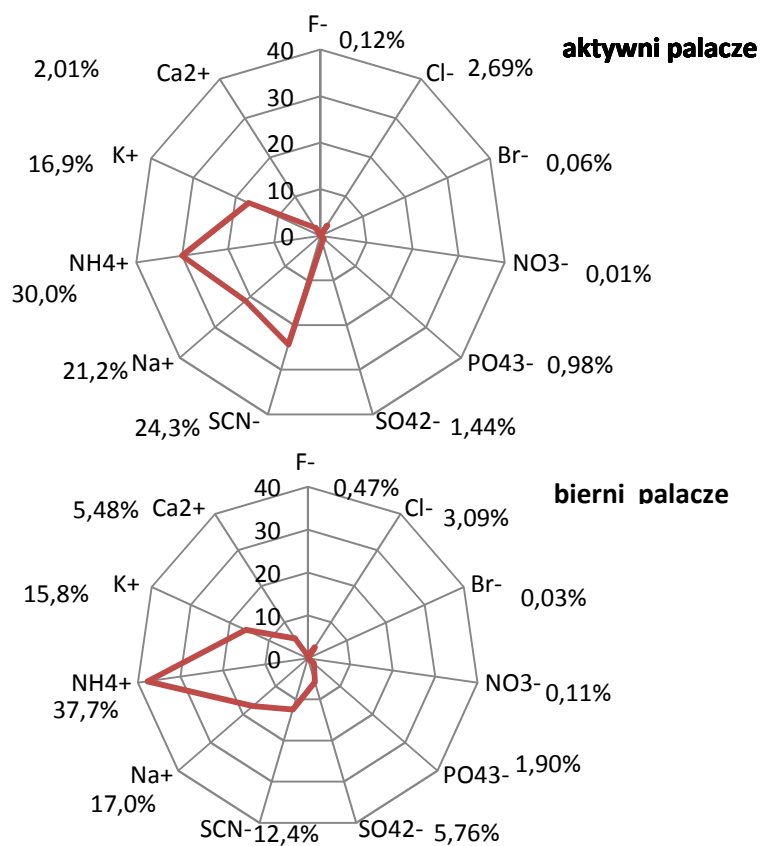
Tabela 36 Informacje o wynikach uzyskanych podczas oznaczania wybranych jonów w próbkach smółki

Aktywni palacze											
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
SD	0,017	0,168	0,001	0,087	0,224	4,264	1,389	1,679	1,345	0,103	0,103
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,067	0,033-0,732	<LOD-0,006	<LOD-0,328	<LOD-0,902	0,013-16,9	0,086-5,85	0,302-6,02	0,059-4,81	<LOD-0,415	<LOD-0,415
Średnia [mg/g]	0,005	0,133	0,003	0,005	0,049	0,071	3,897	1,047	1,478	0,835	0,099
f [%]	40	100	42	6,7	67	34	100	100	100	100	93
Bierni palacze											
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
SD	0,045	0,114	0,003	0,007	0,118	0,375	0,727	0,364	1,209	0,414	0,156
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,186	<LOD-0,405	<LOD-0,015	<LOD-0,023	<LOD-0,415	<LOD-1,19	<LOD-2,84	0,051-1,43	0,307-5,47	0,054-1,47	0,036-0,679
Średnia [mg/g]	0,017	0,109	0,001	0,004	0,067	0,204	0,441	0,601	1,334	0,562	0,194
f [%]	30	100	18	48	82	38	6	100	100	100	100
Grupa kontrolna											
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
SD	0,008	0,126	0,002	0,008	0,166	0,322	1,038	0,382	0,703	0,335	0,129
Zakres stężeń [mg/g]	<LOD-0,025	<LOD-0,525	<LOD-0,009	<LOD-0,037	<LOD-0,716	<LOD-1,10	<LOD-3,53	0,068-1,38	0,103-3,25	0,017-1,27	<LOD-0,429
Średnia [mg/g]	0,004	0,105	0,001	0,003	0,065	0,161	0,666	0,562	0,932	0,424	0,134
f [%]	30	100	20	30	70	35	5	100	100	100	95

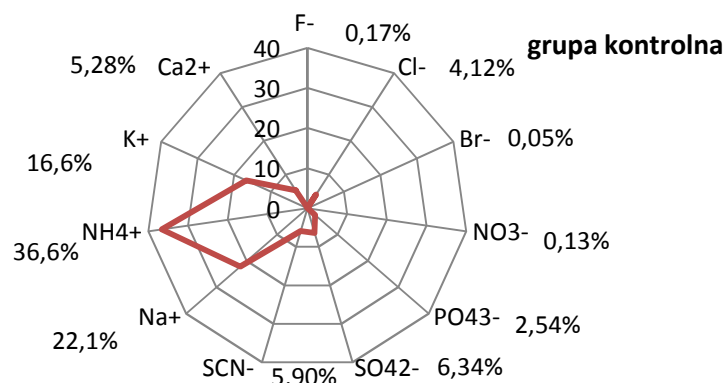
SD-odchylenie standardowe



Rysunek 44 Informacje o stężeniu jonów rodankowych w próbkach smółki pobranych od noworodków, których matki paliły tytoń oraz o średnim stężeniu tych jonów w próbkach smółki pobranej od noworodków, których matki należały do grupy kontrolnej



Rysunek 45 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach smółki



Rysunek 45 Informacje o procentowym udziale poszczególnych jonów w całkowitej zawartości jonów obecnych w próbkach smółki

Tabela 37 Informacje o wartościach liczbowych współczynników korelacji obliczonych na podstawie oznaczonych stężeń poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach smółki

Aktywni palacze											
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00										
Cl ⁻	0,05	1,00									
Br ⁻	0,67	0,13	1,00								
NO ₃ ⁻	-0,11	-0,01	0,04	1,00							
PO ₄ ³⁻	0,18	0,31	0,01	-0,08	1,00						
SO ₄ ²⁻	-0,08	0,02	-0,18	-0,09	-0,17	1,00					
SCN ⁻	0,38	0,83	0,40	0,15	0,26	-0,26	1,00				
Na ⁺	-0,04	0,90	0,01	0,30	0,26	0,08	0,83	1,00			
NH ₄ ⁺	0,71	0,69	0,58	0,06	0,32	0,00	0,84	0,65	1,00		
K ⁺	-0,10	0,48	0,03	0,84	0,07	-0,11	0,59	0,74	0,38	1,00	
Ca ²⁺	0,36	0,92	0,36	-0,17	0,36	0,05	0,84	0,78	0,85	0,29	1,00
Bierni palacze											
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00										
Cl ⁻	0,69	1,00									
Br ⁻	0,04	0,17	1,00								
NO ₃ ⁻	-0,04	0,16	-0,16	1,00							
PO ₄ ³⁻	-0,09	0,40	0,05	0,15	1,00						
SO ₄ ²⁻	-0,18	-0,15	0,29	-0,14	-0,19	1,00					
SCN ⁻	-0,17	-0,18	-0,15	-0,09	-0,24	-0,12	1,00				
Na ⁺	0,57	0,77	0,26	-0,09	0,14	0,01	-0,21	1,00			
NH ₄ ⁺	0,18	0,50	0,86	-0,06	0,24	0,29	-0,24	0,58	1,00		
K ⁺	-0,01	0,09	-0,05	0,32	0,26	0,30	-0,18	0,25	0,15	1,00	
Ca ²⁺	-0,15	0,01	0,09	0,27	0,63	0,23	-0,11	-0,05	0,20	0,65	1,00
Grupa kontrolna											
	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
F ⁻	1,00										
Cl ⁻	-0,19	1,00									
Br ⁻	0,19	-0,06	1,00								
NO ₃ ⁻	0,08	-0,17	-0,17	1,00							
PO ₄ ³⁻	-0,18	-0,04	-0,04	-0,11	1,00						
SO ₄ ²⁻	-0,27	0,40	-0,06	0,14	-0,14	1,00					
SCN ⁻	0,11	0,07	0,47	-0,21	-0,19	-0,29	1,00				
Na ⁺	-0,24	0,27	0,19	-0,29	0,29	0,50	0,08	1,00			
NH ₄ ⁺	-0,04	0,47	-0,02	-0,15	0,18	0,70	-0,25	0,76	1,00		
K ⁺	-0,02	0,34	0,01	-0,17	0,51	0,14	-0,05	0,38	0,57	1,00	
Ca ²⁺	-0,15	0,34	-0,14	-0,10	0,45	0,43	-0,24	0,41	0,64	0,84	1,00

Z analizy danych zawartych w ankietach wypełnianych przez kobiety, które zgodziły się na oddanie próbek smółki swoich dzieci wynika, że średnia liczba punktów Apgar przyznaných noworodkom po porodzie wynosiła 9,1. Średnia masa urodzeniowa noworodków, których matki paliły w trakcie ciąży wynosiła 3614 g. Wśród dzieci urodzonych przez palące matki, 23% noworodków wymagało szczególnych obserwacji po porodzie. Analiza informacji dotyczących marki palonych papierosów oraz leków przyjmowanych pod koniec ciąży przez kobiety nie wykazała wpływu na zawartość poszczególnych parametrów chemicznych oznaczanych w próbkach smółki. Również stosowana przez matki dieta nie miała wpływu na poziom jonów rodankowych w próbkach smółki.

3.7 Porównanie oznaczonych zawartości związków chemicznych oraz ocena przydatności poszczególnych materiałów biologicznych wykorzystanych do prowadzenia biomonitoringu ludzkiego (HBM)

W celu oceny przydatności próbek poszczególnych materiałów biologicznych w analityce związków pochodzących z dymu tytoniowego porównano wyniki uzyskane w trakcie przeprowadzonych badań. W Tabeli 38 zebrano informacje dotyczące średniego stężenia poszczególnych jonów w próbkach materiałów biologicznych. Na Rysunku 46 przedstawiono informacje o średnim stężeniu jonów rodankowych oznaczonych w próbkach materiałów biologicznych pobranych od osób należących do poszczególnych grup dawców. Największe stężenie jonów rodankowych oznaczono w próbkach takich materiałów biologicznych jak smółka, mocz i ślina, natomiast najmniejsze w próbkach potu i mleka. Różnica między stężeniem jonów rodankowych wynosi nawet kilka rzędów wielkości w zależności od rodzaju materiału biologicznego.

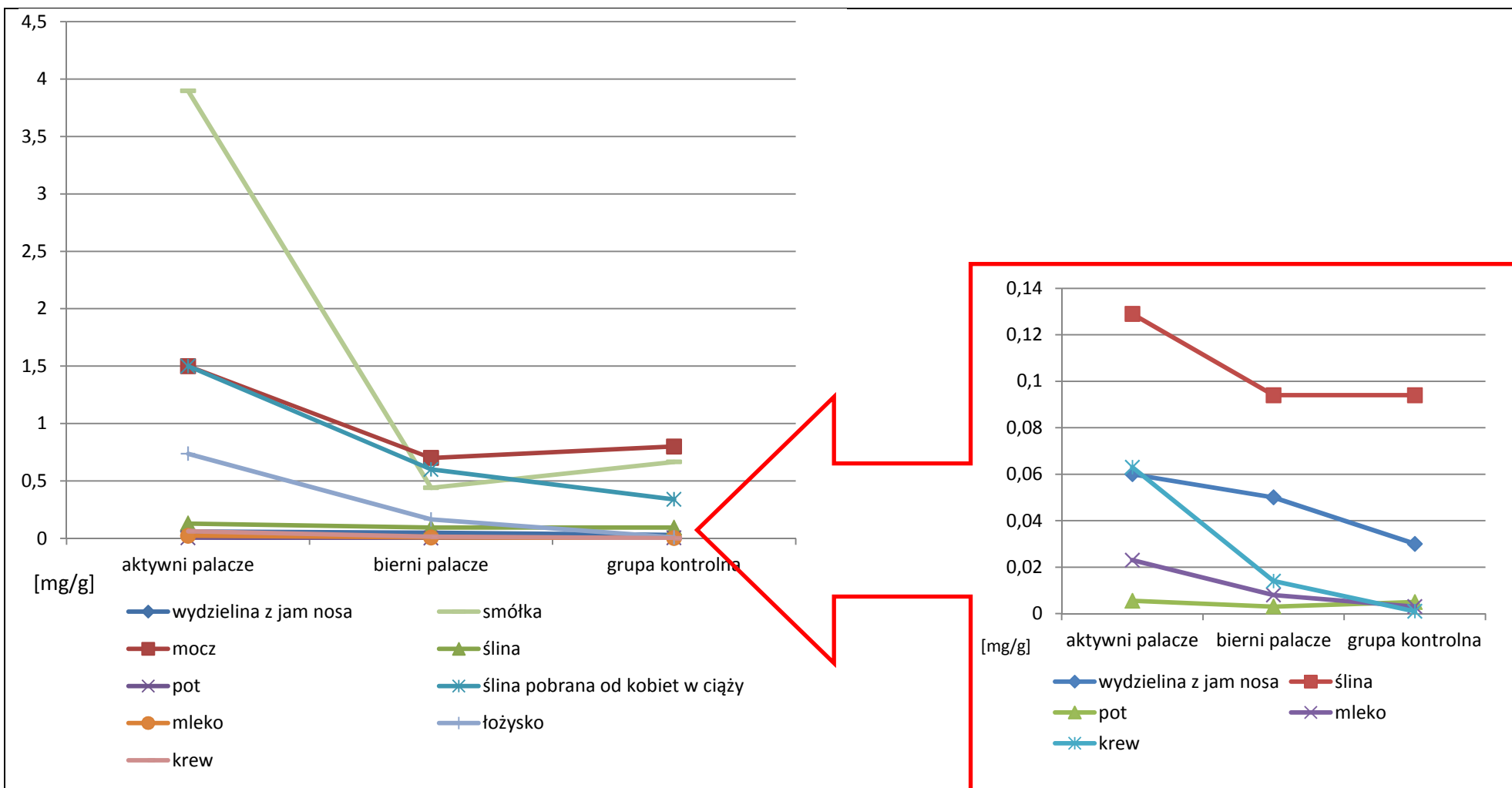
Z informacji zawartych w Tabeli 38 można wysnuć następujące wnioski:

- średnie stężenie jonów F^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} oraz Ca^{2+} było największe w przypadku próbek moczu;
- średnie stężenie jonów F^- najmniejsze było w przypadku próbek śliny, nie oznaczono tego jonu w próbkach wydzieliny z jamy nosa;
- najmniejsze średnie stężenie jonów Cl^- występowało w przypadku próbek smółki;
- najmniejsze średnie stężenie jonów NO_2^- występowało w przypadku próbek, jony te nie zostały oznaczone w próbkach takich materiałów jak: pot, mleko, krew żylna i smółka;
- najmniejsze średnie stężenie jonów Br^- występowało w przypadku próbek potu;
- najmniejsze średnie stężenie jonów NO_3^- występowało w przypadku próbek smółki i mleka;

- najmniejsze średnie stężenie jonów PO_4^{3-} występowało w przypadku próbek potu;
- najmniejsze średnie stężenie jonów SO_4^{2-} występowało w przypadku próbek śliny pobranej od kobiet oraz mleka kobiecego;
- najmniejsze średnie stężenie jonów Na^+ występowało w próbkach śliny;
- najmniejsze średnie stężenie jonów NH_4^+ występowało w próbkach śliny; potu oraz mleka kobiecego;
- najmniejsze średnie stężenie jonów K^+ występowało w próbkach mleka kobiecego;
- najmniejsze średnie stężenie jonów Mg^{2+} występowało w próbkach śliny pobranych od grupy studentów, jony te nie zostały oznaczone w próbkach wydzieliny z jamy nosa, śliny pobranej od kobiet oraz smółki.

Na Rysunku 47 w sposób schematyczny przedstawiono informacje dotyczące średniego stężenia wybranych jonów w materiałach biologicznych pobranych od człowieka.

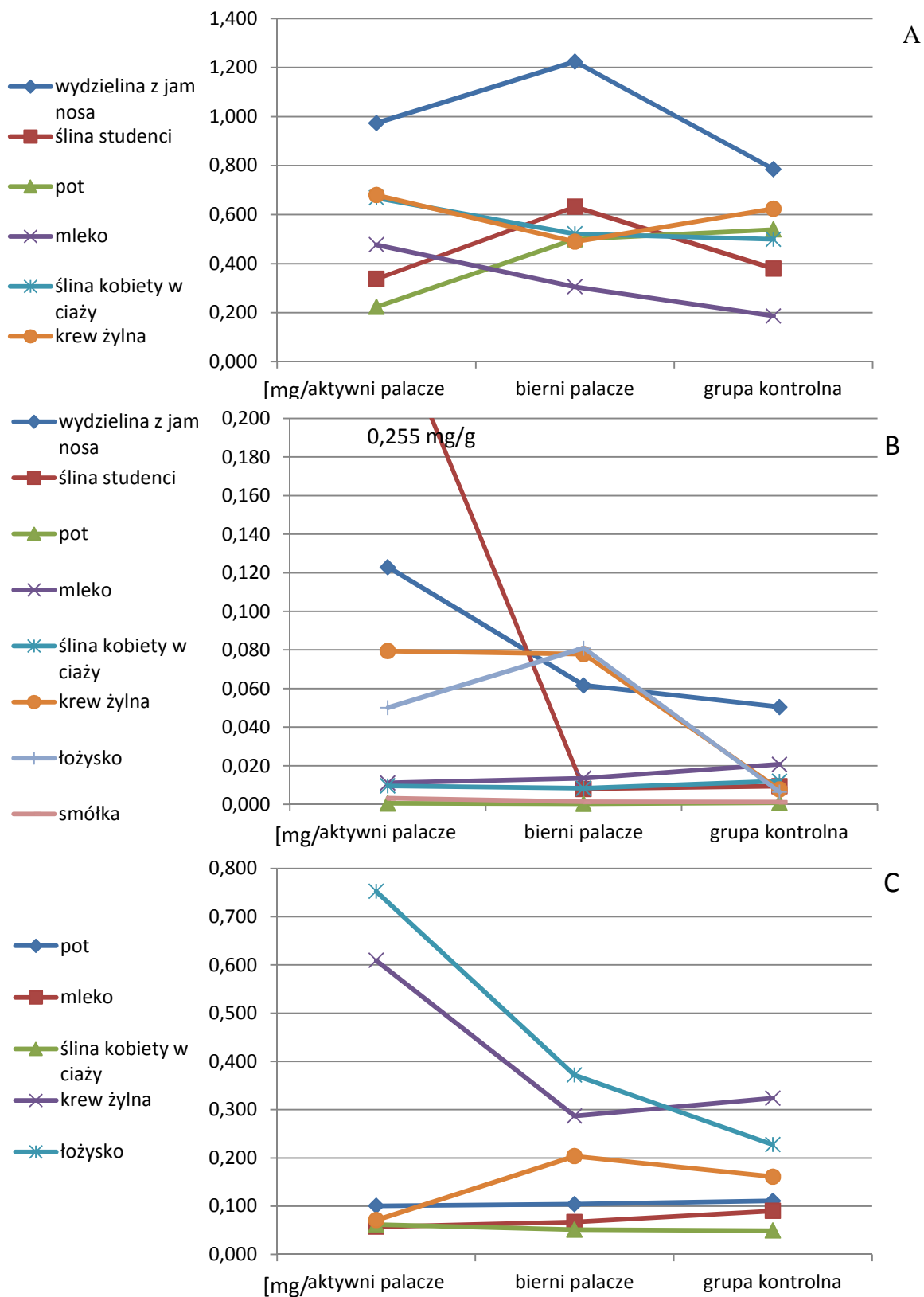
Zbiory danych pomiarowych uzyskane po oznaczeniu wybranych jonów nieorganicznych w próbkach smółki, mleka, śliny pobranej od kobiet, krwi i łożyska również poddano analizie chemometrycznej. Celem analizy było uzyskanie informacji o różnicach między poszczególnymi grupami dawców, oraz o możliwości zastosowania poszczególnych jonów nieorganicznych jako biomarkera narażenia na składniki dymu tytoniowego. Po wstępnej analizie danych uznano, iż nie będzie konieczne przeprowadzanie wielowymiarowej analizy statystycznej. Dokonano analizę na podstawie uzyskanych średnich, przy czym podjęto próby znalezienia takich jonów, które umożliwią rozróżnienie poszczególnych grup dawców. Na Rysunku 48 przedstawiono dendrogram ukazujący związki pomiędzy próbkami wszystkich materiałów biologicznych pobranych od kobiet należących do różnych grup dawców. Na kolejnym dendrogramie (Rysunek 49) przedstawiono informacje o podobieństwach pomiędzy stężeniami poszczególnych parametrów oznaczonych w próbkach określonych materiałów biologicznych. Wyniki uzyskane w trakcie analizy danych pomiarowych uzyskanych dla stężenia jonów nieorganicznych oznaczonych w próbkach mleka, krwi, łożyska, śliny i smółki zestawiono w Tabeli 39. Analiza wyników pozwala na stwierdzenie, który z parametrów chemicznych może różnicować poszczególne grupy dawców między sobą. Z informacji zawartych w Tabeli wynika, że dla próbek krwi i mleka nie ma parametru chemicznego, który w istotny sposób różnicowałby poszczególne grupy dawców między sobą, i pozwalał na odróżnienie grupy kobiet palących wyroby tytoniowe od grupy kontrolnej. Może to wynikać z faktu, iż substancje wraz z krwią rozprzodkowane są po całym organizmie, a mleko matki ma różny skład w zależności od pory dnia.



Rysunek 46 Schematyczne przedstawienie informacji o średnim stężeniu jonów rodankowych oznaczonym w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka

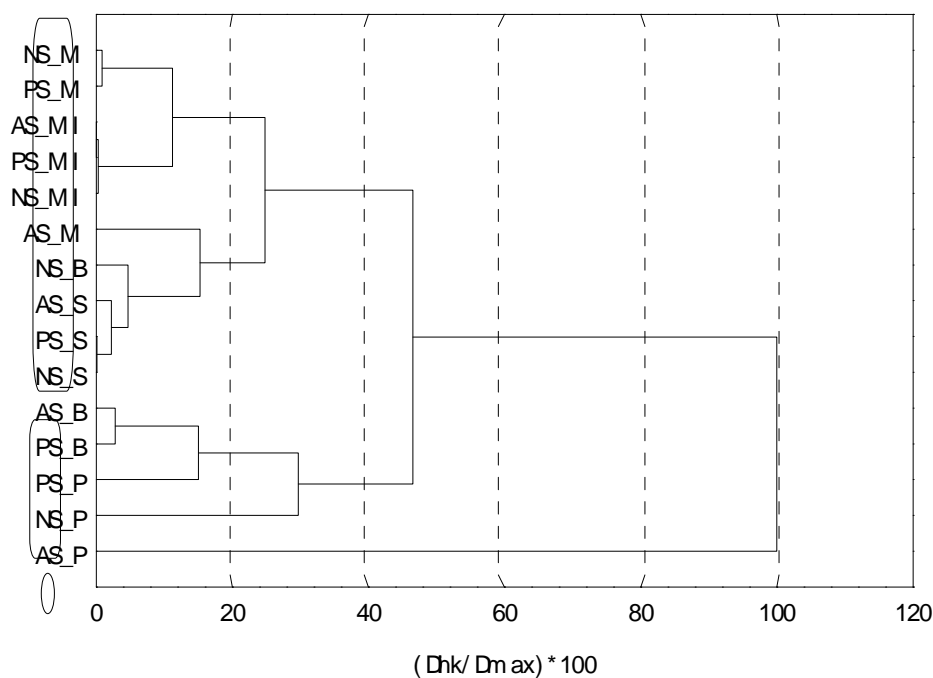
Tabela 38 Informacje o średnim stężeniu poszczególnych jonów w próbkach materiałów biologicznych

	F ⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
wydzielina z jam nosa	-	3,18	0,169	0,123	0,063	-	-	0,059	2,126	0,973	0,783	-	0,432
mocz	26,8	387	1,24	2,19	0,386	536	117	1,49	94,3	433	74,0	150	6,99
ślina (S)	0,045	0,787	0,038	0,255	0,334	3,593	2,876	0,129	0,047	0,337	1,04	0,007	0,123
pot	0,171	8,775	-	0,001	0,003	0,001	0,101	0,005	1,670	0,223	0,216	0,082	4,434
mleko	0,540	0,797	-	0,011	0,002	0,027	0,057	0,024	0,238	0,477	0,099	0,042	0,072
ślina (K)	0,001	0,898	0,001	0,010	0,009	0,275	0,062	1,45	1,225	0,668	1,152	-	0,020
krew żylna	0,176	2,44	-	0,079	0,035	0,005	0,609	0,063	0,850	0,679	0,836	0,008	0,024
łożysko	1,78	3,71	0,451	0,050	0,075	4,087	0,752	0,737	2,15	4,53	0,626	2,64	
smółka	0,005	0,133	-	0,003	0,001	0,049	0,071	3,89	1,047	1,478	0,835	-	0,099
wydzielina z jam nosa	-	4,51	0,018	0,062	0,646	-	-	0,049	2,98	1,22	0,889	-	0,153
mocz	78,5	399	4,31	46,2	0,844	383	90,7	0,652	72,3	268	127	66,1	5,78
ślina (S)	0,071	0,743	0,015	0,008	0,010	0,655	2,71	0,094	0,091	0,632	1,637	0,010	0,123
pot	0,202	7,83	-	0,001	0,004	0,001	0,104	0,003	3,276	0,499	0,820	0,022	0,078
mleko	0,525	0,646	-	0,014	0,004	0,067	0,067	0,008	0,176	0,305	0,096	0,055	0,071
ślina (K)	0,001	0,789	0,002	0,008	0,016	0,273	0,051	0,607	0,900	0,522	0,827	-	0,022
krew żylna	0,092	1,93	-	0,078	0,031	0,088	0,287	0,014	0,884	0,489	0,409	0,011	0,022
łożysko	0,706	2,99	0,610	0,081	0,064	2,54	0,372	0,165	1,023	1,409	0,743	0,125	-
smółka	0,017	0,109	-	0,001	0,004	0,067	0,204	0,441	0,601	1,334	0,562	-	0,194
wydzielina z jam nosa	-	3,38	0,026	0,050	0,107	-	-	0,028	1,712	0,785	0,562	-	0,088
mocz	292	298	1,26	0,498	0,116	230	127	0,797	54,9	167	13,2	144	6,51
ślina (S)	0,053	0,762	0,018	0,009	0,340	1,88	3,00	0,094	0,086	0,379	1,22	0,010	0,122
pot	0,209	10,0	-	0,001	0,003	0,001	0,111	0,005	4,13	0,539	0,667	0,020	0,058
mleko	0,701	0,953	-	0,021	0,007	0,029	0,090	0,003	0,247	0,186	0,070	0,077	0,072
ślina (K)	0,001	0,736	0,001	0,012	0,011	0,213	0,049	0,339	0,928	0,499	0,755	-	0,027
krew żylna	0,074	1,827	-	0,008	0,013	0,113	0,324	0,001	0,455	0,624	0,754	0,008	0,018
łożysko	0,434	2,438	0,215	0,006	0,064	1,358	0,227	0,008	4,53	12,3	1,220	8,04	
smółka	0,004	0,105	-	0,001	0,003	0,065	0,161	0,666	0,562	0,932	0,424	-	0,134

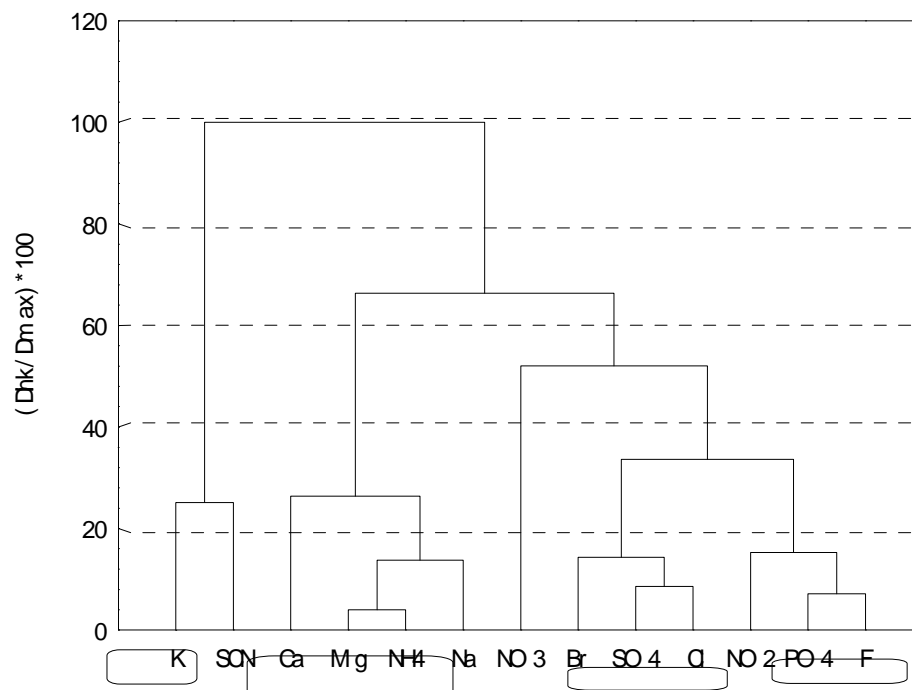


Rysunek 47 Schematyczne przedstawienie informacji o średnim stężeniu jonów: $A-NH_4^+$, $B-Br^-$, $C-SO_4^{2-}$ w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka

Dla próbek smółki, śliny, oraz w szczególności łożyska zaobserwowano występowanie kilku jonów, które mogą pełnić rolę jonów wskaźnikowych. W przypadku próbek łożyska, obserwować można wysoki poziom większości jonów (w przypadku próbek pobranych od osób aktywnie palących). Wyjątek stanowią jony NO_3^- oraz Mg^{2+} . W próbkach smółki pobranych od aktywnych palaczy można obserwować wysokie stężenie jonów: SCN^- , Na^+ , NH_4^+ , K^+ . Natomiast w próbkach śliny zaobserwowano większe stężenie jonów SCN^- , Na^+ , i K^+ . Można wysnuć wniosek, że te jony mogą pełnić rolę jonów wskaźnikowych w wymienionych materiałach biologicznych. Drugim wnioskiem jest przydatność poszczególnych materiałów biologicznych w ocenie narażenia na składniki obecne w dymie tytoniowym. Z uzyskanych wyników można wnioskować, że dobrymi materiałami biologicznymi z analityce jonów nieorganicznych są: łożysko, smółka oraz ślina.



Rysunek 48 Dendrogram dla wszystkich dawców poszczególnych materiałów biologicznych: M-smółki, MI-mleka, B-krwi, S-śliny, P-łożyska; należących do różnych grup: NS-grupa kontrolna, PS- grupa biernych palaczy, AS-grupa osób palących.



Rysunek 49 Hierarchiczny diagram związkowy pomiędzy zmiennymi chemicznymi oznaczonymi w próbkach materiałów biologicznych pobranych od kobiet

Tabela 39 Informacje o średnich wartościach stężenia poszczególnych jonów oznaczonych w próbkach materiałów biologicznych

Stężenie jonów	Smółka	Krew	Mleko	Łożysko	Ślina
F ⁻	-	-	-	wysokie dla AP	-
Cl ⁻	-	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP-BP-GK	-	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP-BP-GK	-
NO ₂ ⁻	-	-	-	wysokie dla BP	-
Br ⁻	-	wysokie dla AP i BP	-	wysokie dla AP i BP	-
NO ₃ ⁻	-	-	-	-	-
PO ₄ ³⁻	-	-	-	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP-BP-GK	-
SO ₄ ²⁻	-	wysokie dla AP	-	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP-BP-GK	-
SCN ⁻	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP-GK	-	-	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP-GK	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP-GK
Na ⁺	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP-GK	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP-GK	-	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP-GK	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP-GK

Tabela 39 cd.

NH₄⁺	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP- GK	-	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP- GK	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP- GK	-
K⁺	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP- GK	wysokie dla AP	-	wysokie dla BP i AP	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP- GK
Mg²⁺	-	-	-	-	-
Ca²⁺	wysokie dla BP	-	-	wysokie dla AP; liniowy spadek w zależności AP- BP- GK	-

- brak istotnych relacji pomiędzy grupami dawców

4 Wnioski i podsumowanie

Przedstawiona rozprawa doktorska stanowi podsumowanie programu badawczego ukierunkowanego na oszacowanie poziomów zawartości markerów dymu tytoniowego w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka w różnym stopniu narażonego na jego działanie.

Pierwszy etap pracy polegał na zebraniu danych literaturowych, które stanowiły bazę do prowadzenia dalszych badań. Następnie, opracowano procedury analityczne pozwalające oznaczać w próbkach materiałów biologicznych wybrane zanieczyszczenia pochodzące z dymu tytoniowego, w tym substancje zwane biomarkerami. Szczególny nacisk położono na to, aby etap przygotowania próbek do analizy nie wymagał stosowania szkodliwych dla środowiska rozpuszczalników organicznych. Na etapie przygotowania próbek łożyska wykorzystano technikę ekstrakcji przyspieszonej za pomocą rozpuszczalnika. Jako rozpuszczalnik wykorzystano wodę dejonizowaną, co skutecznie minimalizowało zużycie szkodliwych odczynników chemicznych.

Przeprowadzono proces optymalizacji opracowanych procedur oznaczania wybranych zanieczyszczeń w próbkach materiałów biologicznych, oraz wyznaczono podstawowe parametry walidacyjne takie jak granica wykrywalności i oznaczalności.

Kolejnym etapem było przeprowadzenie badań na rzeczywistych próbkach materiałów biologicznych, pobranych od różnych grup dawców:

- grupy osób palących tytoń;
- grupy osób narażonych na bierne palenie (wdychających składniki środowiskowego dymu tytoniowego);

- grupy kontrolnej, złożonej z osób niepalących i nie narażonych na składniki środowiskowego dymu tytoniowego.

W trakcie tego etapu opracowano techniki pobierania i przygotowania próbek materiałów biologicznych do analizy z wykorzystaniem technik takich jak chromatografia jonowa, cieczowa oraz spektrofotometria. W przygotowanych próbkach oznaczono następujące związki:

- wybrane jony nieorganiczne: F^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} oraz CN^- (prekursor jonów SCN^-) oraz jony SCN^- (biomarker narażenia na składniki dymu tytoniowego);
- wybrane hormony steroidowe (kortyzon, kortyzol, tetrahydrokortyzon, tetrahydrokortyzol-biomarkery narażenia na składniki dymu tytoniowego);
- związek organiczny HCHO (zanieczyszczenie pochodzące z dymu tytoniowego)

Analiza zbiorów danych uzyskanych w wyniku oznaczania wymienionych związków w próbkach materiałów biologicznych pochodzących od człowieka pozwala na wysnuenie wielu wniosków:

- hormony steroidowe mogą pełnić rolę biomarkera narażenia na substancje obecne w dymie tytoniowym;
- formaldehyd (będący zanieczyszczeniem pochodzącym z dymu tytoniowego) oraz jony cyjankowe (będące prekursorem jonów rodankowych) występują na poziomie wyższym w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka aktywnie palącego tytoń;
- jony rodankowe (biomarker narażenia na składniki dymu tytoniowego) występują na poziomie wyższym w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka palącego tytoń i mogą być stosowane do rozróżnienia tej grupy dawców od grupy kontrolnej w przypadku analizy takich materiałów biologicznych jak: mocz, ślina, pot, wydzielina z jamy nosa, łożysko oraz smółka;
- pomiędzy jonami nieorganicznymi oznaczonymi w próbkach materiałów biologicznych występują korelacje, które wskazują na wzajemną zależność tych jonów i na wpływ palenia tytoniu na ich zawartość w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka narażonego na substancje obecne w dymie tytoniowym;
- przeprowadzona analiza chemometryczna zbiorów danych pomiarowych wykazała, że niektóre z jonów nieorganicznych oznaczonych w próbkach materiałów biologicznych mogą pełnić rolę jonów wskaźnikowych pozwalających na odróżnienie grupy osób

aktywnie palących od grupy osób niepalących nie narażonych na substancje obecne w środowiskowym dymie tytoniowym;

- techniki chromatografii cieczowej i jonowej, oraz technika spektrofotometryczna mogą być wykorzystywane w analizie związków pochodzących z dymu tytoniowego w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka;
- technika ekstrakcji przyspieszonej za pomocą rozpuszczalnika może być stosowana na etapie przygotowania próbek łożyska do analizy.

STRESZCZENIE

Narażenie człowieka na związki obecne w dymie tytoniowym może skutkować występowaniem wielu chorób odytoniowych. Szczególny problem stanowią kobiety w ciąży, ponieważ związki chemiczne obecne w dymie tytoniowym mogą przenikać od matki do płodu, co może powodować znane skutki narażenia na te substancje zarówno w organizmie matki jak i dziecka. W przypadku narażenia wynikającego z aktywnego bądź biernego palenia matki, substancje obecne w dymie tytoniowym pokonują bariery biologiczne (między innymi łożysko) i dostają się do organizmu dziecka.

W związku ze szkodliwością dymu tytoniowego konieczne jest monitorowanie poziomu substancji toksycznych, które dostają się do organizmu człowieka palącego tytoń, lub narażonego na bierne palenie. W tym celu prowadzone są badania, które mają na celu zidentyfikowanie substancji toksycznych pochodzących z dymu tytoniowego w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka, oraz ich ilościowe oznaczenie.

Przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej badania obejmowały oznaczanie wybranych zanieczyszczeń pochodzących z dymu tytoniowego za pomocą dostępnych technik analitycznych jak:

- chromatografia jonowa;
- chromatografia gazowa;
- spektrofotometria.

Materiały biologiczne pobrane zostały od trzech różnych grup dawców:

- od człowieka w wieku rozrodczym;
- od kobiet ciężarnych i położnic;
- od noworodka.

Wybór trzech różnych grup dawców pozwolił na ocenę narażenia człowieka na substancje obecne w dymie tytoniowym na każdym etapie życia.

W wybranych materiałach biologicznych oznaczone zostały:

- substancje zwane biomarkerami narażenia na składniki obecne w dymie tytoniowym (jony rodankowe, hormony steroidowe);
- zanieczyszczenia pochodzące z dymu tytoniowego (jony cyjankowe, formaldehyd), a także jony nieorganiczne, które mogą pełnić rolę jonów wskaźnikowych.

Wyniki przeprowadzonych badań prowadzą do wniosku, że jony rodankowe występują na wyższym poziomie stężeń w próbkach pobranych od osób należących do grupy aktywnych palaczy tytoniu. Zarówno jony rodankowe jak i hormony steroidowe mogą pełnić rolę biomarkera narażenia na związki obecne w dymie tytoniowym w większości materiałów biologicznych pobranych od człowieka.

STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM

Human exposure to compounds present in tobacco smoke can result in a many tobacco-related diseases. A particular problem refers to pregnant women, because the chemicals present in tobacco smoke can pass from the mother to the fetus, which may cause known effects of exposure to these substances in both the mother and child. In the case of exposure from mothers active or passive smoking, substances present in tobacco smoke overcome biological barriers (including placenta) and enter the body of the child.

Due to the harmful effects of tobacco smoke, it is necessary to monitor the level of toxic substances which enter the body of active smokers or people who are exposed to passive smoking. Research is carried out in order to identify toxic substances from the cigarette smoke in samples of human biological material and their quantitative determination.

Tests conducted as part of dissertation research included the determination of selected pollutants from tobacco smoke using the available analytical techniques as:

- ion chromatography;
- gas chromatography;
- spectrophotometry.

Biological materials were collected from three different groups of donors:

- the man in the child-bearing age;
- from pregnant women and maternity;
- newborn.

Selection of three different groups of donors allowed the assessment of human exposure to substances present in tobacco smoke at every stage of his life.

In selected biological materials were marked:

- substances called biomarkers of exposure to the components present in tobacco smoke (thiocyanate ions, hormones, steroids);
- pollution from tobacco smoke (cyanide ions, formaldehyde), and inorganic ions, which ions can be used as the indicator.

The results of studies lead to the conclusion that the thiocyanate ion occur at higher concentration in samples collected from people that belong to the active smokers group. The thiocyanate ions or steroid hormones can be used as a biomarker of exposure to the compounds present in tobacco smoke, in most biological material taken from a human.

LITERATURA

- [1] J. Zieliński, Obciążenia wynikające z palenia tytoniu, *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 76, 170, 2008.
- [2] D.M. DeMarini, *Mutat. Res.*, 567, 447, 2004.
- [3] M. Chelchowska, K. Jabłonka-Salach, J. Ambroszkiewicz, T. Maciejewski, J. Gajewska, E. Bulska, T. Laskowska-Klita, J. Leibschang, J. Barciszewski, *Med. Wieku Rozw.*, 3, 196, 2012.
- [4] I. Crooks, D.M. Dillon, J.K. Scott, M. Ballantyne, C. Meredith, *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 65, 196, 2013.
- [5] D. Thorne, J. Adamson, *Exp. Toxicol. Pathol.*, 65, 1183, 2013.
- [6] R.L. Stedman, *Chem. Rev.*, 68, 153, 1968.
- [7] T.A. Perfetti, A. Rodgman, *Beitr. Tabakfors. Intern.*, 24, 21, 2011.
- [8] C. Garcia-Canton, A. Anadon, C. Meredith, *Toxicol. Letters*, 223, 81, 2013.
- [9] M. Borgerdinga, H. Klus, *Exp. Toxicol. Pathol.* 57, 43, 2005.
- [10] S. Chung, L. Baker, P. Jenkins, D. Julian, S. Lum, L. Miyasato, J. Polakoff, D. Shimer, B. Takemoto, B. Winder, *Proposed identification of Environmental Tobacco Smoke as a toxic air contaminant Part A: Exposure assessment* As approved by the Scientific Review Panel: June 24, 2005,
- [11] M.D. Miller, R. Broadwin, S. Green, M.A. Marty, J. Polakoff, A.G. Salmon, B. Winder, *Proposed identification of Environmental Tobacco Smoke as a toxic air contaminant Part B: Health effects*; As approved by the Scientific Review Panel: June 24, 2005
- [12] R.S. Pappas, G.M. Polzin, L. Zhang, C.H. Watson, D.C Paschal, D.L. Ashley, *Food. Chem. Toxicol.* 44, 714, 2006.
- [13] A. Thielen, H. Klus, L. Müaller, *Exp. Toxicol. Pathol.* 60, 141, 2008

- [14] F.H. Cunningham, S. Fiebelkorn, M. Johnson, C. Meredith, *Food Chem. Toxicol.* 49, 2921, 2011.
- [15] S. Kumar Pandey, K. Ki-Hyun, *Trends Anal. Chem.* 29, 804, 2010.
- [16] The Scientific Basis of Tobacco Product Regulation. WHO Technical Report Series, no. 951. http://www.who.int/tobacco/global_interaction/tobreg/publications/9789241209519.pdf, WHO, 2008.
- [17] D.M. Burns, E. Dybing, N. Gray, S. Hecht, C. Anderson, T. Sanner, R. O'Connor, M. Djordjevic, C. Dresler, P. Hainaut, M. Jarvis, A. Opperhuizen, K. Straif, K. *Tob. Control.* 17, 132, 2008.
- [18] V.T. Rummenie, Y. Matsumoto, M. Dogru, Y. Wang, Y. Hu, S.K. Ward, A. Igarashi, T. Wakamatsu, O. Ibrahim, E. Goto, G. Luyten, H. Inoue, I. Saito, J. Shimazaki, K. Tsubota, *Cytokine*, 43, 200, 2008.
- [19] G. Scherer, *Exp. Toxicol. Pathol.* 58, 101, 2006.
- [20] H. Dresbach, L. Sanderow, The Invisible Environment Fact Sheet Series Environmental Tobacco Smoke, The Ohio State University, 2008
- [21] A. Avşar, O. Darka, B. Topaloğlu, Y. Bek, *Archs. Oral. Biol.* 53, 969, 2008.
- [22] K. Frost-Pineda, B.K. Zedler, Q. Liang, H.J. Roething, *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, 52, 118, 2008.
- [23] J. Kowalewski, A. Sędlak, *Kardioch. i Torakoch. Pol.* 6, 359, 2009.
- [24] A. Kowalska, W. Stelmach, J. Krakowiak, A. Rzeźnicki, M. Pikala, E. Dziadkowska-Zaborszczyk, W. Drygas, *Przeg. Lek.*, 65, 626, 2008.
- [25] M. Kośmicki, *Przew. Lek.* 4, 38, 2001.
- [26] S. Collins, T.P. Rollason, L.S. Young, B.J. Woodman, *Eur. J. Cancer.* 46, 405, 2010.
- [27] J.A. Baker, O.O. Odunuga, K.J. Rodabaugh, M.E. Reid, R.J. Menezes, K.B. Moysich, *Int. J. Gynecol. Cancer*, 16, 211, 2006 .
- [28] S.K. Taya, K.J. Taya, *Gynecol. Oncol.* 93, 116, 2004.
- [29] C. Chen, S.I. Cho, A.I. Damokosh, D. Chen, G. Li, X. Wang, X., Xu, *Environ. Health. Perspect.*, 108, 1019, 2000..
- [30] J. Dejmek, I. Solansky, K. Podrazilová, R.J. Srám, *Environ. Health. Perspect.* 110, 601, 2002.
- [31] E. Jauniaux, G.J. Burton, *Early Hum. Dev.* 83, 699, 2007.
- [32] J.M. Rogers, *Reprod. Toxicol.* 28, 152, 2009.
- [33] A.J. Henderson, *Ped. Resp. Rev.* 9, 21, 2008.
- [34] D. Olds, *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.*, 3, 257, 1997.

- [35] S. Narkowicz, Ź. Polowska, B. Kielbratowska, J. Namieśnik, *Crit. Rev. Environ. Scie. Technol.* 43, 121, 2013.
- [36] J.A. Marx, R.S. Hockberger, R.M. Wall, J. Adams, 2002. Rosen's emergency medicine: concepts and clinical practice. 5th ed. pp. 2396-2400. St. Louis: CV Mosby
- [37] W. Jedrychowski, E. Flak, *Environ. Health. Perspect.* 105, 302, 1997.
- [38] S.E. Wilson, R.S. Kahn, J. Khoury, B.P. Lanphear, *Environ. Health Persp.* 3, 362, 2005.
- [40] M.I. Gilmour, M.S. Jaakkola, S.L. London, A.E. Nel, C.A. Rogers, *Environ. Health. Perspect.* 114, 627, 2007.
- [41] B. Eskenazi, R. Castorina, *Environ. Health. Perspect.* 107, 991, 1999.
- [42] J. Angerer, U. Ewers, M. Wilhelm, *Int. J. Hyg. Environ.-Health*, 210, 201, 2007.
- [43] M.A. Huestis, E.J. Cone, Alternative testing matrices. In Karch, S. B (ed.) Drug Abuse Handbook. 2nd ed. pp. 799–857. Boca Raton: CRC Press. 1998.
- [44] J. Lozano, O. García-Algar, O. Vall, R. De la Torre, G. Scaravelli, S. Pichini, *Ther. Drug. Monit.* 29, 711, 2007.
- [45] G.V. Iyengar, A. Rapp, *Sci. Total Environ.*, 280, 195, 2001.
- [46] J. Topinka, A. Milcova, H. Libalova, Z. Novakova, P. Rossner Jr., I. Balascak, R.J. Sram, *Mutat. Res. Fund. Mol. Mech. Mut.* 669, 13, 2009.
- [47] R. Heinrich-Ramm, R. Wegnera, A. Helene Gardeb, X. Baura, *Int. J. Hyg. Environ. Health* 205, 493, 2002.
- [48] E.M. Kratz, M. Pupek, A. Chełmowska-Soyta, I. Kałnik-Prastowska, *Adv. Clin. Exp. Med.*, 13, 541, 2004.
- [49] J. Gareri, J. Klein, G. Koren, *Clin. Chim. Acta*, 366, 101, 2006.
- [50] X.L. Tong, L. Wang, T.B. Gao, Y.G. Qin, Y.Q. Qi1, Y.P. Xu, *J. Chin. Med. Assoc.*, 72, 368, 2009.
- [51] M. Esteban, A. Castaño, *Environ. Int.* 35, 438, 2009.
- [52] E.M. Van der Aa, J.H. Peereboom-Stegeman, J. Noordhoek, F.W. Gribnau, F.G. Russel, *Pharm World Sci.*, 20, 139, 1998.
- [53] M. Myren, T. Mose, L. Mathiesen, L.E. Knudsen, *Toxicol. Vitro.* 21, 1332, 2007.
- [54] O. Leino, H. Kiviranta, A.K. Karjalainen, C. Kronberg-Kippilä, H. Sinkko, E.H. Larsen, S. Virtanen, J.T. Tuomisto, Pollutant concentrations in placenta. *Food Chem. Toxicol.*, 54, 59, 2013.
- [55] J. Hakkola, M. Pasanen, J. Hukkanen, O. Pelkonen, J. Mäenpää, R.J. Edwards, A.R. Boobis, H. Raunio, *Biochem. Pharmacol.* 51, 403, 1996.

- [56] P. Myllynen, M. Pasanen, O. Pelkonen, *Placenta* 26, 361, 2005.
- [57] Z. Glatz, S. Novakova, *J. Chromatogr. A*, 916, 273, 2001.
- [58] W. D. Gould, M. King, B. R. Mohapatra, R. A. Cameron, A. Kapoor, D.W. Koren, *Minerals Engin.*, 34, 38, 2012.
- [59] S. Narkowicz, Ż. Polkowska, J. Namieśnik, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 42, 16, 2012.
- [60] D. Yildiz, *Toxicol* 43, 619, 2004.
- [61] A. Kotłowska, W. Kamysz, *Bromat. Chem. Toksykol. – XLIII*, 1, 1, 2010.
- [62] M. Rothbrg, A. Heloma, J. Svinhufvud, E. Kähkönen, K. Reijula, *Ann. Occup. Hyg.*, 42, 129, 1998.
- [63] M. Pellegrini, E. Marchei, S. Rossi, F. Vagnarelli, A. Durgbanshi, O. Garcia-Algar, O. Vall, S. Pichini, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 21, 2693, 2007.
- [64] F. Moriya, Y. Hashimoto, *Leg. Med.*, 6, 164, 2004.
- [65] A.C. Collier, C.A. Pritsos, *Chem.-Biol. Interact.*, 146, 211, 2003.
- [66] K. Polańska, W. Hanke, T. Laudański, J. Kalinka, *Ginekol Pol.*, 78, 796, 2007.
- [67] E.I. Miller, H.R.K. Norris, D.E. Rollins, S.T. Tiffany, D.G. Wilkins, *J. Chrom. B*, 878, 725, 2010.
- [68] F.L. Kaufman, M. Kharrazi, G.N. Delorenze, B. Eskenazi, J.T. Bernert, *J. Exp. Anal. Environ. Epidemiol.* 12, 286, 2002.
- [69] G. Scherer, *Exp. Toxicol. Pathol.*, 57, 75, 2005.
- [70] A. Burguet, M. Kamiński, P. Truffert, A. Menget, L. Marpeau, M. Voyer, J.C. Roze, B. Escande, G. Cambonie, J.M. Hascoet, H. Grandjean, G. Breart, B. Larroque, *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* 90, 41, 2005.
- [71] B. Byrne, S. Cunningham, D. Igoe, R. Conroy, T.J. McKenna, *Acta Endocrinol. (Copenh)*. 124, 370, 1991.
- [72] A.J. Hartz, S. Kelber, H. Borkowf, R. Wild, B.L. Gillis, A.A. Rimm, *Public Health Rep.* 102, 254, 1987.
- [73] A. Kotłowska, E. Maliński, K. Sworzak, J. Kumirska, P. Stepnowski, The urinary steroid profile in patients diagnosed with adrenal incidentaloma *Clin. Biochem.*, 42, 448, 2009.
- [74] A. Kotłowska, K. Sworzak, P. Stepnowski, *J. Chromatogr. B*, 879, 359, 2011.
- [75] O.P. Soldin, K.H. Makambi, S.J. Sldin, D.M. O'Mara, *Steroids*, 76, 653, 2011.
- [76] S. Narkowicz, J. Płotka, Ż. Polkowska, M. Biziuk, J. Namieśnik, *Environ. Int.*, 54, 41, 2013.

- [77] C.D.R. De Oliveira, M. Roehsig, R.M. De Almeida, W.L. Rocha, M. Yonamine, *Curr. Pharm. Anal.* 3, 95, 2007.
- [78] T. Gray, M. Huestis, *Anal. Bioanal. Chem.* 388, 1455, 2007.
- [79] S. Chinaka, N. Takayama, Y. Michigami, K. Ueda, *J. Chromatogr. B*, 713, 353, 1998.
- [80] B.C. Blount, L. Valentin-Blasini, L. Anal. Chim. Acta, 67, 87, 2006.
- [81] S.Y. Chou, H.H. Hsu, H.H., Kuo, H.W. Kuo, *Acta Pædiatrica*, 97, 76, 2008.
- [82] M. Page-Sharp, T.W. Hale, L.P. Hackett, J.H. Kristensen, K.F. Ilett, *J. Chromatogr. B*, 796, 173, 2003.
- [83] S.L. Youso, G.A. Rockwood, L.P. Lee, B.A. Logue, *Anal. Chim. Acta*, 677, 24, 2010.
- [84] M. Nakajima, T. Yamamoto, Y. Kurowa, T. Yokoi, *J. Chromatogr. B*, 724, 211, 2000.
- [85] G. Scherer, M. Urban, H.W. Hagedorn, R. Serafin, F. Shixia, S. Kapur, R. Muhammad, M. Sarkar, H.J. Roethig, *J. Chrom. B*, 878, 2520, 2010.
- [86] C.N. Man, A.I. Fathelrahman, G.L. Harn, R. Lajis, A. Shalihin, M. Samin, M. Omar, R. Awang, N.A. Bayanuddin, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 28, 92, 2009.
- [87] P.B. Doctor, V.N. Gokani, P.K. Kulkarni, J.R. Parikh, H.N. Saiyed, *J. Chromatogr. B*, 802, 323, 2004.
- [88] P. Manini, G. De Palma, R. Andreoli, D. Poli, M. Petyx, M. Corradi, A. Mutti, P. Apostoli, *Toxicol. Letters*, 181, 25, 2005.
- [89] C. Oddoze, A.M. Pauli, J. Pastor, *J. Chrom. B*, 708, 95, 1998.
- [90] F. Moria, Y. Hashimoto, Y., *Legal Medicine*, 6, 164, 2004.
- [91] J. Yang, Y. Hu, J.B. Cai, X.L. Zhu, Q.D. Su, Y.Q. Hu, F.X. Liang, *Food Chem. Toxicol*, 45, 896, 2007..
- [92] D. Connolly, L. Barron, B. Paull, *J. Chrom. B*, 767, 175, 2002.
- [93] I. Demkowska, Ź. Polkowska, B. Kiełbratowska, J. Namieśnik, *J. Anal. Toxicol.*, 34, 533, 2010.
- [94] R. Pacifici, I. Altieri, L. Gandini, A. Lenzi, A.R. Passa, S. Pichini, M. Rosa, P. Zuccaro, F. Dendero, *Environm. Resarch*, 68, 69, 1995.
- [95] I. Demkowska, Ź. Polkowska, J. Namieśnik, *J. Chrom. B*, 875, 419, 2008.
- [96] I. Berlin, C. Heilbronner, S. Georgieu, C. Meier, O. Spreux-Varguaux, *Drug Alcohol Depend.* 107, 250, 2010.
- [97] S. Pichini, O. Garcia-Algar ,L. M. Oz, O. Vall, R. Pacifici, C. Figueroa, J. A. Pascual, D. Diaz, J. Sunyerd, *J. Exp. Anal. Environ. Epidemiol.* 13, 144, 2003.
- [98] T.R. Gray, R.D. Eiden, K.E. Leonar, G.J. Connors, S. Shisler, M.A. Huestis, *Clin. Chem.* 56, 1442, 2010.

- [99] S. Chattaraj, A. K. Das, *Spectrochim. Acta B* 47, 675, 1992.
- [100] T.R. Gray, D.M. Shakleya, M.A. Huestis, *J Chromatogr B* 863, 107, 2008.
- [101] F. Mari, L. Politi, E. Bertol, *Forensic Sci Int.* 179, 176, 2008.
- [102] J. Milerad, A. Vege, S.H. Opdal, T.O. Rognum, *J. Pediatr.*, 133, 232, 1998.
- [103] M. Hamosh, *Medsc. Gen. Med.* 1, 1, 1996.
- [104] M. Sørensen, H. Bisgaard, M. Stage, S. Loft, *Biomarkers* 12, 3846, 2007.
- [105] P. Konieczka, J. Namieśnik, B. Zygmunt, E. Bulka, A. witaj-Zawadka, A. Naganowska, E. Kremer, M. Rompa, Ocena i kontrola jakości wyników analitycznych (red. Konieczka P., Namieśnik J.), CEEAM, Gdańsk 2004.
- [106] A. Astel, J. Mazerski, J. Namieśnik, Wykorzystanie technik chemometrycznych w badaniach analitycznych środowiska, [w:] Nowe horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym, Namieśnik J., Chrzanowski W., Szpinek P. (edytorzy), Centrum Doskonałości Analityki i Monitoringu Środowiskowego, Gdańsk 2003.
- [107] A. Astel, Chemometria jako wydajne narzędzie analizy danych środowiskowych (część II). Analiza rozpoznawcza, *LAB*, 3, 38, 2007.

DOROBEK NAUKOWY

Publikacje w czasopismach z listy filadelfijskiej:

- 1 **S. Narkowicz**, J. Płotka, Ż. Polkowska, M. Biziuk, J. Namieśnik, „Prenatal exposure to substance of abuse: a worldwide problem” *Environment International* 54 (2013) 141-163
- 2 **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, J. Namieśnik, “Determination of Formaldehyde and Cyanide Ion in Human Nasal Discharge by Using Simple Spectrophotometric Methods”, *Central European Journal of Chemistry* 11 (2013) 16-24
- 3 **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, M. Marć, V. Simeonov, J. Namieśnik “Determination of thiocyanate (biomarkers of ETS) and other inorganic ions in human nasal discharge samples using ion chromatography” *Ecotoxicology and Environmental Safety* 96 (2013) 131-138
- 4 J. Płotka, **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, M. Biziuk, J. Namieśnik, Effects of Addictive Substances During Pregnancy and Infancy and Their Analysis in Biological Materials, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 227 (2014) 55-77

- 5 **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, J. Namieśnik, Analysis of markers of exposure to constituents of environmental tobacco smoke (ETS), *Critical Review in Analytical Chemistry* 42 (2012), 16-37
- 6 **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, B. Kiełbratowska, J. Namieśnik, Environmental tobacco smoke – exposure, health effects and analysis, *Critical Review in Environmental Science and Technology* 4 (2013) 121-161
- 7 **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, B. Kiełbratowski, J. Namieśnik, Meconium samples used to assess infant exposure to components of ETS during pregnancy, *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* -wysłane do recenzji
- 8 **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, B. Kiełbratowski, J. Namieśnik, Determination of thiocyanate and other inorganic ion in placenta samples, *Journal of Analytical Toxicology*-w recenzji
- 9 **A. Kotłowska**, **S. Narkowicz**, B. Kiełbratowska, J. Namieśnik, P. Szefer, Relationships between steroid hormone concentrations in placenta and tobacco smoke- potential use as biomarkers and indicators for prenatal exposure- *Environment International*-w recenzji

Publikacje w czasopismach recenzowanych:

- 1 **S. Mędrzycka**, Ż. Polkowska, J. Namieśnik, Biomarkery do oceny prenatalnego i postnatalnego narażenia na składniki Środowiskowego Dymu Tytoniowego, *Analityka*, 2 (2012) 54-57
- 2 P. Bigus, **S. Narkowicz** J. Namieśnik, Analityka hormonów steroidowych w próbkach materiałów biologicznych pobranych od człowieka, *Analityka* 4 (2013) 57-61
- 3 J. Płotka, **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, J. Namieśnik, „Rola łożyska ludzkiego w analityce ksenobiotyków”, *Analityka* 1 (2014) 36- 40

Postery

- 1 **S. Narkowicz**, J. Płotka, Ż. Polkowska, M. Biziuk, J. Namieśnik, *Recent developments in biological sample chromatographic methods for the confirmation of gestational exposure to tobacco smoke and drugs of abused*, 29 Międzynarodowe Sympozjum Chromatograficzne, Toruń, 9-13 Wrzesień 2012, str. 419

- 2 **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, B. Kiełbratowska, J. Namieśnik, *Ion Chromatography determination of thiocyanate biomarker of ETS exposure) in human placenta samples*, 29 Międzynarodowe Sympozjum Chromatograficzne, Toruń. 9-13 Wrzesień 2012, str. 417
- 3 **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, B. Kiełbratowska, J. Namieśnik, *Ion Chromatography determination of thiocyanate and other inorganic ions in newborns meconium samples*, 29 Międzynarodowe Sympozjum Chromatograficzne, Toruń. 9-13 Wrzesień 2012, str. 418
- 4 A. Kotłowska, **S. Mędrzycka**, J. Namieśnik, P. Szefer, *Poszukiwanie biomarkerów ekspozycji na dym tytoniowy w oparciu o metabolomikę oraz chemometryczną analizę danych*, V Konferencja Naukowo-Szkoleniowa "Zrozumieć podstawy metod chemometrycznych", Zakopane, 18-21 października 2012, str.
- 5 B. Kiełbratowska, **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, J. Namieśnik, K. Preis, *Meconium Samales analysis as an information about infant tobacco smoke exposure*, 14th WAIMH World Congress, 14 – 18 June 2014, Edinburgh, Scotland
- 6 B. Kiełbratowska, **S. Narkowicz**, Ż. Polkowska, J. Namieśnik, K. Preis, *Placenta samples analysis as an information about tobacco smoke exposure*, 14th WAIMH World Congress, 14 – 18 June 2014, Edinburgh, Scotland

Zajęcia popularyzujące naukę:

-udział w XII Bałtyckim Festiwalu nauki 26-27.05.2011, Gdańsk

Nagrody i wyróżnienia:

- Stypendium w ramach I edycji konkursu o stypendia doktoranckie z dotacji projakościowej za rok akademicki 2010/2011;
- Stypendium z projektu Rozwój interdyscyplinarnych studiów doktoranckich na Politechnice Gdańskiej w zakresie nowoczesnych technologii (Projekt: POKL.04.01.01-00-368/09) za rok 2010/2011;
- Stypendium w ramach II edycji konkursu o stypendia doktoranckie z dotacji projakościowej za rok akademicki 2011/2012;
- Stypendium z własnego funduszu stypendialnego Rektora Politechniki Gdańskiej dla studentów, doktorantów, pracowników za rok akademicki 2012/2013;
- Stypendium dla najlepszych doktorantów za rok akademicki 2012/2013;
- Stypendium w ramach III edycji konkursu o stypendia doktoranckie z dotacji projakościowej za rok akademicki 2012/2013;
- Stypendium z projektu Rozwój interdyscyplinarnych studiów doktoranckich na

Politechnice Gdańskiej w zakresie nowoczesnych technologii (Projekt: POKL.04.01.01-00-368/09) za rok 2012/2013.

ZAŁĄCZNIKI

Tabela 40 Informacje o pytaniach zawartych w ankiecie wypełnianej przez dawcę materiałów biologicznych

ANKIETA DAWCY
Czy pali Pan/i tytoń? a) Tak b) Nie
O jakiej porze dnia wypala Pan/i najczęściej papierosów? a) Rano b) Popołudniu c) Wieczorem
Ile papierosów dziennie Pan/i wypala? a) 1-5 b) 6-10 c) 11-20 d) >20
Czy jest Pan/i narażony na bierne palenie w miejscu zamieszkania? a) Tak b) Nie c) Czasami
Czy jest Pan/i narażona na bierne palenie w miejscu pracy? a) Tak b) Nie c) Czasami
Jakiej marki papierosy Pan/i pali?
Czy przyjmuje Pan/i jakieś lekarstwa? Jak długo?
Wzrost i masa ciała (lub wartość wskaźnika BMI)
Wiek a) <20 b) 21-30 c) 31-40 d) 41-50 e) 51-60 f) >60
Płeć a) Kobieta b) Mężczyzna
Wykształcenie a) Podstawowe b) Średnie c) Wyższe

Tabela 41 Informacje o pytaniach zawartych w dodatkowych ankietach wypełnianych przez dawczynie próbek materiałów biologicznych przebywających na Oddziale Położniczym

ANKIETA DODATKOWA DLA KOBIET W CIĄŻY I POŁOŻNIC
Płeć dziecka a) Dziewczynka b) Chłopiec
Sposób zakończenia porodu a) CC b) SN
Czy po porodzie przystawiono dziecko do piersi? a) Tak b) Nie
Ile punktów Apgar uzyskało dziecko?
Czy dziecko miało wybroczyny na twarzy?
Czy matka choruje na cukrzycę?
Czy u matki występują zaburzenia endokrynologiczne?
Czy po porodzie dziecko przebywało na obserwacji?
W jaki sposób dziecko było żywione? a) Wyłącznie pokarm matki b) Wyłącznie pokarm sztuczny c) Mieszanie
Ocena ilości pokarmu przez matkę
Masa ciała noworodka