

Uniwersytet Jagielloński  
Collegium Medicum  
Wydział Lekarski

**EWA GOMÓŁKA**

**WPŁYW PALENIA TYTONIU NA STEŻENIE OŁOWIU  
I KADMU W MOCZU KOBIET CIĘŻARNYCH**

*Praca doktorska*

Promotor: prof. dr hab. Wojciech Piekoszewski

Pracę wykonano w Zakładzie Toksykologii Analitycznej  
i Terapii Monitorowanej Katedry Medycyny Pracy i Chorób  
Środowiskowych

Kierownik jednostki: prof. dr hab. Janusz Pach

Kraków, 2006

Dziękuję serdecznie:

Mojemu promotorowi Panu prof. dr hab. Wojciechowi Piekoszewskiemu za pomoc, życzliwość i cenne wskazówki przy realizacji niniejszej pracy

Mojemu kierownikowi Panu prof. dr hab. Januszowi Pachowi za wsparcie i zrozumienie podczas realizacji niniejszej pracy

Moim współpracownikom z Zakładu Toksykologii Analitycznej i Terapii Monitorowanej oraz Pracowni Toksykologii Oddziału Toksykologii WSS im. L. Rydygiera za pomoc, zrozumienie i życzliwą atmosferę podczas realizacji niniejszej pracy.

## Spis treści

1 Streszczenie.....	4
2 Abstract .....	5
3 Wstęp .....	6
4 Część teoretyczna.....	9
4.1 Epidemiologia palenia tytoniu .....	9
4.1.1 Palenie tytoniu w Polsce .....	9
4.1.2 Palenie tytoniu na świecie .....	10
4.2 Historia tytoniu .....	12
4.3 Chemia dymu tytoniowego .....	12
4.4 Wpływ dymu tytoniowego na organizm człowieka .....	16
4.4.1 Działanie niekancerogenne dymu tytoniowego .....	16
4.4.2 Działanie kancerogenne składników dymu tytoniowego .....	18
4.4.3 Wpływ palenia tytoniu i narażenia na środowiskowy dym tytoniowy na kobietę ciężarną i płód .....	21
4.5 Ołów – jego występowanie i działanie biologiczne .....	24
4.6 Kadm – jego występowanie i działanie biologiczne .....	28
4.7 Biomarkery narażenia na dym tytoniowy .....	33
4.7.1 Nikotyna .....	33
4.7.2 Kotynina .....	35
4.7.3 Inne markery narażenia na dym tytoniowy .....	36
4.7.3.1 Tlenek węgla i karboksyhemoglobina .....	36
4.7.3.2 Tiocyjaniany .....	37
4.7.3.3 1-Hydroksypiren (1-Pyrenol) .....	38
4.7.3.4 N-Nitrozoaminy .....	38
4.7.3.5 Addukty z białkami i DNA .....	39
5 Cel pracy .....	40
6 Materiał i metody .....	41
6.1 Opis grupy .....	41
6.2 Ankieta.....	41
6.3 Materiał biologiczny.....	45
6.4 Metodyka oznaczania kotyniny w moczu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej .....	45
6.4.1 Walidacja metody oznaczania kotyniny w moczu metodą HPLC .....	47
6.5 Metodyka oznaczania kreatyniny w moczu .....	48

6.6	Oznaczanie ołowiu i kadmu w moczu .....	49
6.6.1	Metodyka oznaczania ołowiu w moczu metodą spektrometrii absorpcji atomowej .....	49
6.6.2	Metodyka oznaczania kadmu w moczu metodą spektrometrii absorpcji atomowej .....	50
6.6.3	Walidacja metod oznaczania ołowiu i kadmu w moczu metodą AAS .....	52
6.7	Analiza statystyczna .....	53
7	Wyniki.....	54
7.1	Ogólna charakterystyka badanej grupy na podstawie ankiet .....	54
7.1.1	Wiek kobiet .....	55
7.1.2	Wykształcenie kobiet .....	56
7.1.3	Miejsce zamieszkania kobiet.....	57
7.1.4	Dochód na jednego członka rodziny .....	57
7.1.5	Aktywność zawodowa kobiet w okresie ciąży .....	59
7.2	Palenie tytoniu i narażenie na środowiskowy dym tytoniowy.....	59
7.2.1	Palenie tytoniu przez kobiety przed zajściem w ciążę .....	59
7.2.2	Palenie tytoniu przez kobiety w okresie ciąży .....	60
7.2.3	Rezygnacja kobiet z palenia tytoniu w czasie trwania ciąży .....	61
7.2.4	Palenie tytoniu przez partnerów kobiet .....	62
7.2.5	Świadomość kobiet ciężarnych dotycząca szkodliwego wpływu palenia tytoniu .....	64
7.2.6	Informacja o niekorzystnym działaniu dymu tytoniowego na płód uzyskana od lekarza/położnej.....	65
7.3	Przebieg porodu i stan zdrowotny noworodków .....	65
7.3.1	Czas trwania ciąży .....	65
7.3.2	Rodzaj porodu .....	66
7.3.3	Poród przedwczesny .....	67
7.3.4	Płeć noworodków .....	68
7.3.5	Urodzeniowa masa ciała.....	68
7.3.6	Noworodki z niską urodzeniową masą ciała.....	69
7.3.7	Noworodki hipotroficzne, eutroficzne i hipotroficzne urodzone o czasie i przedwcześnie .....	71
7.3.8	Długość ciała noworodków .....	73
7.3.9	Kondycja noworodków wyrażona w skali Apgar w pierwszej minucie po urodzeniu.....	74
7.3.10	pH krwi pępowinowej .....	75
7.3.11	Hospitalizacja noworodka.....	76

7.4 Biochemiczna ocena narażenia na dym tytoniowy i metale ciężkie .....	77
7.4.1 Wyniki oznaczeń kotyniny w moczu kobiet ciężarnych .....	77
7.4.2 Wyniki oznaczeń ołowiu i kadmu w moczu .....	78
7.4.3 Korelacja między stężeniem kadmu i kotyniny w moczu kobiet .....	82
7.4.4 Korelacje pomiędzy urodzeniową masą ciała i długością ciała noworodków a narażeniem matek na dym tytoniowy w okresie ciąży.....	83
7.4.5 Korelacje pomiędzy urodzeniową masą ciała i długością ciała noworodków a stężeniem kadmu w moczu matek .....	85
8 Dyskusja .....	87
9 Wnioski.....	100
10 Bibliografia .....	101

## 1 Streszczenie

Celem pracy było zbadanie stężenia ołowiu i kadmu w moczu ciężarnych kobiet palących tytoń, narażonych na środowiskowy dym tytoniowy (ETS) oraz niepalących. Określono, z jakimi czynnikami socjoekonomicznymi koreluje palenie tytoniu i narażenie badanych kobiet na środowiskowy dym tytoniowy. Sprawdzone związki między paleniem tytoniu i narażeniem na ETS a przebiegiem ciąży i porodu oraz parametrami urodzeniowymi noworodków.

Badaniami objęto 231 kobiet. Informacje dotyczące ich narażenia na dym tytoniowy, statusu socjoekonomicznego, przebiegu ciąży i porodu oraz stanu noworodków zebrano w oparciu o kwestionariusz ankiety. Narażenie badanych kobiet na dym tytoniowy określono na podstawie ankiety oraz oznaczenia stężenia kotyniny (metabolitu nikotyny) w ich moczu. Stężenie ołowiu i kadmu w moczu badanych kobiet metodą spektrometrii absorpcji atomowej z kuwetą grafitową.

Średnie stężenia ołowiu w moczu wynosiły dla grupy kobiet palących, biernie narażonych i niepalących odpowiednio:  $38,16 \pm 59,10$ ;  $36,24 \pm 50,11$ ;  $32,74 \pm 53,48$  ng/mg kreatyniny, a kadmu  $1,86 \pm 1,58$ ;  $1,13 \pm 1,24$ ;  $1,31 \pm 1,50$  ng/mg kreatyniny. Korelacja pomiędzy stężeniem kadmu i kotyniny w moczu badanych kobiet była niewielka, ale istotna statystycznie. Stwierdzono wzrost częstości palenia tytoniu i narażenia na ETS kobiet ciężarnych w wieku poniżej 25 lat, z wykształceniem zawodowym i podstawowym, z dochodami miesięcznymi poniżej 500 zł/członka rodziny, mających palących partnerów. W grupie kobiet palących tytoń w ciąży częściej poród przebiegał przez cięcie cesarskie oraz ze wspomaganiami. Noworodki matek palących tytoń oraz biernie narażonych na środowiskowy dym tytoniowy w czasie ciąży miały urodzeniową masę ciała mniejszą o odpowiednio 348,5 g oraz 281,1 g w porównaniu z masą urodzeniową noworodków matek niepalących. Długość ciała noworodków matek palących i biernie narażonych była mniejsza o 2,8 cm oraz 0,7 cm w porównaniu z długością noworodków matek niepalących.

**Słowa kluczowe:** ołów, kadm, palenie tytoniu, kobiety ciężarne

## 2 Abstract

The purpose of the study was to measure the concentration of lead and cadmium in urine of women who smoked, were exposed to environmental tobacco smoke (ETS) and were unexposed during pregnancy. The correlations between exposition to tobacco smoke and socioeconomic factors, course of pregnancy and health status of newborns were estimated.

The subjects of the study were 231 pregnant women. Information about exposition to tobacco smoke, socioeconomic state, course of pregnancy and health status of newborns were collected from questionnaire. The estimation of tobacco smoke exposition of the women was based on the questionnaire data and their urine cotinine concentration. The urine concentration of lead and cadmium was measured by atomic absorption spectrometry with graphite furnace.

The mean urine lead concentration of women who smoked, were exposed to ETS and unexposed to tobacco smoke during pregnancy were respectively:  $38,16 \pm 59,10$ ;  $36,24 \pm 50,11$ ;  $32,74 \pm 53,48$  ng/mg of creatinine, and mean cadmium concentration were respectively:  $1,86 \pm 1,58$ ;  $1,13 \pm 1,24$ ;  $1,31 \pm 1,50$  ng/mg of creatinine. The correlation between the urine concentration of cadmium and cotinine was statistically significant. Increased frequency of tobacco smoking was in the group of the women aged less than 25 years, that finished primary or vocational school, had monthly income less than 500 zł/family member, and have smoking partners. In the group of women who smoked during pregnancy the childbirth was statistically more often by caesarian and supported delivery. The newborns of mothers who smoked and were exposed to ETS had birth weight respectively 348,5 g and 281,1 g smaller than newborns of unexposed mothers. The length of newborns of smoking and ETS exposed mothers were respectively 2,8 cm and 0,7 cm shorter than newborns of unexposed mothers.

**Key words:** lead, cadmium, tobacco smoking, pregnant women

### 3 Wstęp

Tytoń został przywieziony do Europy w XV wieku z Ameryki Południowej. Zwyczaje związane z przyjmowaniem tytoniu szybko rozpowszechniły się i palenie znalazło zwolenników na całym świecie. Początkowo stosowany jako lekarstwo tytoń stał się powszechnie stosowaną używką. Pierwsze wzmianki o szkodliwych skutkach palenia wyrobów tytoniowych zaczęły pojawiać się na początku XX wieku. Nikotyna – główny alkaloid tytoniu została uznana za substancję odpowiedzialną za powstawanie uzależnienia, a palenie wyrobów tytoniowych za czynnik zwiększający ryzyko występowania wielu chorób. Stwierdzono, że prawdopodobieństwo zachorowania na choroby układu oddechowego, choroby układu sercowo – naczyniowego, choroby nowotworowe i wiele innych jest wyraźnie większe u osób palących tytoń w porównaniu z grupą niepalących.

Pomimo powszechnej wiedzy o szkodliwości palenia tytoniu liczba palaczy na świecie nie maleje, a prognozy przewidują nawet jej wzrost. Stosunkowo dużą grupę osób uzależnionych stanowią ludzie młodzi, którzy zakładają rodziny. Większość palaczy tytoniu to mężczyźni, lecz zmiany społeczne i obyczajowe w dwudziestym wieku zaowocowały istotnym wzrostem odsetka palących kobiet. Problemem jest także narażenie na środowiskowy dym tytoniowy (Environmental Tobacco Smoke – ETS) w domu i w miejscu pracy.

Palenie wyrobów tytoniowych przez ciężarne kobiety oraz narażenie matek na środowiskowy dym tytoniowy nie są obojętne dla rozwijającego się płodu. Łóżysko, nie zabezpiecza płodu przed wieloma ksenobiotykami zawartymi w dymie tytoniowym. Efektem ich działania mogą być różnego rodzaju zaburzenia w przebiegu ciąży i rozwoju płodu. Stwierdzono wzrost ryzyka wystąpienia poronień, zaburzeń wzrostu wewnątrzmacicznego oraz słabej kondycji noworodków matek, które paliły tytoń.

Środowiskowy dym tytoniowy niewiele różni się składem jakościowym od dymu inhalowanego przez palacza. ETS uważany jest za najczęstsze źródło szkodliwych substancji w pomieszczeniach mieszkalnych. Zawiera większość składników dymu tytoniowego uznanych za najbardziej szkodliwe: nikotynę, tlenek węgla, N-nitrozoaminy, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), tlenki azotu i inne. Skład dymu tytoniowego obejmuje ponad 4200 związków chemicznych. Są wśród nich metale ciężkie zaabsorbowane przez tytoń z gleby, wody i powietrza (między innymi ołów i kadm). Zawartość metali ciężkich w tytoniu może być różna



i zależy od miejsca upraw. Palenie papierosów uznawane jest za istotne (po diecie i wodzie) źródło narażenia na kadm i ołów. Biodostępność tych pierwiastków przy wchłanianiu przez płuca jest większa niż przy wchłanianiu w przewodzie pokarmowym, a ich absorpcja zależy głównie od wielkości ziaren aerozolu. Metale zawarte we frakcji respirabilnej dymu tytoniowego wchłonięte przez pęcherzyki płucne dostają się wprost do krwiobiegu. Procesy kumulacji rozpoczynają się już w okresie życia płodowego i trwają przez całe życie. Ołów gromadzony jest w kościach, tkankach, erytrocytach oraz w jądrach komórkowych w postaci ciałek inkluzyjnych. Kadm wiązany jest z metalotioneiną – niskocząsteczkowym białkiem obecnym głównie w wątrobie i nerkach. W pewnych warunkach możliwa jest mobilizacja tych metali z tkanek (np. w czasie stosowania drastycznej diety oraz u kobiet w okresie ciąży). W takim wypadku wzrost stężenia ołowiu i kadmu w płynach ustrojowych niekoniecznie musi być związany z aktualną ekspozycją, lecz odzwierciedla wcześniejsze narażenie na te metale. Wpływ ołowiu i kadmu na ustrój jest złożony. Skutki narażenia kobiet ciężarnych na metale ciężkie obejmują zaburzenia, które mogą ujawniać się u płodu na każdym etapie rozwoju wewnątrzmacicznego, u noworodka zaraz po urodzeniu, a także w okresie późniejszego wzrostu. Narażenie matki na ołów i kadm może też objawiać się w postaci deficytów w rozwoju układu nerwowego, zaburzeń emocjonalnych, intelektualnych i psychicznych u dzieci starszych.

Aby prawidłowo ocenić narażenie na dym tytoniowy stosuje się badania ankietowe oraz oznaczenia biomarkerów. Jednym z najczęściej stosowanych biomarkerów narażenia na dym tytoniowy jest kotynina – główny metabolit nikotyny. Oznaczenie kotyniny w moczu pozwala rozróżnić osoby palące, narażone na ETS i niepalące.

Rozwój technik analitycznych, jaki nastąpił w ostatniej dekadzie dwudziestego wieku umożliwił oznaczanie śladowych ilości ksenobiotyków w płynach ustrojowych. Technika bezpłomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej z kuwetą grafitową (GF-AAS) umożliwia oznaczenie ołowiu i kadmu w moczu na poziomie wystarczającym dla badania grupy osób narażonych przewlekłe na śladowe stężenia tych metali.

Technika wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) stała się niezastąpiona przy oznaczaniu ksenobiotyków i ich metabolitów dając możliwość badania narażenia na czynniki środowiskowe przez oznaczanie odpowiednich biomarkerów. W takim aspekcie możliwe stało się badanie zależności stężenie – efekt, jakie nie było możliwe

wcześniej oraz określanie, czy obserwowane efekty można wiązać z narażeniem na konkretny czynnik, na przykład dym tytoniowy.

## **4 Część teoretyczna**

### **4.1 Epidemiologia palenia tytoniu**

#### **4.1.1 Palenie tytoniu w Polsce**

W Polsce tytoń stał się najbardziej popularny po II wojnie światowej. Produkcja papierosów od 1937 do 1977 roku wzrosła dwunastokrotnie. Spożycie papierosów na 1 mieszkańca wzrosło w okresie od 1948 do 1978 roku ośmiokrotnie.

Dzięki powszechnym działaniom edukacyjnym i wdrożeniu „Ustawy o ochronie zdrowia przed następstwami używania tytoniu i wyrobów tytoniowych” w 1995 z późniejszymi poprawkami w roku 1999 zanotowano spadek częstości palenia w Polsce.

W latach 1994 – 1998 w Polsce paliło 44 % mężczyzn i 24 % kobiet. W latach 1999 – 2001 odsetek palących mężczyzn i kobiet zmalał odpowiednio do 42 % i 23 %. W latach 2002 – 2005 zanotowano dalsze zmniejszenie palenia tytoniu wśród mężczyzn do 38 %, natomiast odsetek palących kobiet wzrósł do 25,6 %. [WHO, 2005].

Obecnie według danych statystycznych około 9 milionów Polaków to nałogowi palacze. Najczęściej palą osoby w wieku 30 – 39 lat. W tej populacji wiekowej w 1995 roku 59,4 % mężczyzn i 42,2 % kobiet paliło tytoń codziennie. Roczna konsumpcja papierosów w Polsce wynosiła w 2000 roku 1934,24 papierosów na osobę, a palacze wypalali średnio 20 papierosów dziennie.

Konieczność prowadzenia działań profilaktycznych wśród dzieci i młodzieży wiąże się z faktem, że jedynie około 11 % palaczy uzależnia się w wieku powyżej 18 roku życia. Rocznie próbuje palenia ok. 180 tysięcy dzieci. Próby palenia rozpoczynają się wśród dzieci już około 8 roku życia w przypadku chłopców i 12 roku życia w przypadku dziewcząt. W grupie młodzieży w wieku 15 lat w latach 1995 – 1997 paliło 27 % chłopców i 20 % dziewcząt, a w latach 2002 – 2005 26,3 % chłopców i 17 % dziewcząt [WHO, 2005].

Należy też zwrócić uwagę na problem szkodliwości biernego narażenia na dym tytoniowy szczególnie wśród dzieci i kobiet ciężarnych. Spośród osób niepalących 47 % mężczyzn i 52 % kobiet było narażonych na środowiskowy dym tytoniowy w domu, a 55 % mężczyzn i 27 % kobiet było narażonych na ETS w miejscu pracy [Hruba and Kachlik, 2000]. ETS jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych i szkodliwych czynników występujących w pomieszczeniach zamkniętych. Kobiety świadome szkodliwości palenia papierosów w okresie ciąży coraz częściej decydują się

na rezygnację z tego nałogu. Ilość kobiet palących tytoń w okresie ciąży zmalała z około 30 % w 1990 roku do około 15 % pod koniec lat 90 [Florek i wsp., 2001; Florek i wsp., 2004d].

#### **4.1.2 Palenie tytoniu na świecie**

Największy wzrost konsumpcji tytoniu zanotowano na początku XX wieku. W USA w 1910 roku liczba wypalanych papierosów rocznie na 1 mieszkańca wynosiła średnio 140 sztuk i wzrosła do 3900 sztuk w roku 1960. Zauważalny spadek konsumpcji wyrobów tytoniowych zaobserwowano dopiero w latach 90 XX wieku. Odsetek palących mężczyzn w USA zmniejszył się z 51,9 % w 1965 roku do 27 % w 1995 roku i 25,7 % w 1999 roku, natomiast odsetek palących kobiet wynosił odpowiednio: 33,9 %, 22,6 % i 21,5 %. Celem organizacji zdrowia w USA stało się zmniejszenie odsetka osób palących do 12 % w roku 2010 [American Lung Association, 1998].

W państwach Europy zachodniej również zauważono spadek liczby osób palących tytoń. W Wielkiej Brytanii odsetek palaczy w 1980 roku wynosił 40 %, w 1998 roku 28 %, a w 2002 roku 27 %. W Holandii odsetek palących mężczyzn wynosił w latach 1980, 1996 i 2002 odpowiednio 52 %, 39 % i 31 % a kobiet 34 %, 32 % i 28 %. W Belgii odsetek palaczy zmieniał się z 53 % wśród mężczyzn i 28 % wśród kobiet w 1982 roku do odpowiednio 31 % i 22 % w 1997 roku oraz 30 % i 25 % w 2002 roku [Joosens, 1999; WHO Health for All Database, 2005]. W Niemczech odsetek palaczy zmalał z 36,7 % w latach 1994 – 1998 do 33,9 % w latach 2002 – 2005. We Francji zaobserwowano spadek odsetka palaczy z 28 % w latach 1994 – 1998 do 25,4 % w latach 2002 – 2005 [WHO, 2005].

Najmniejszy odsetek palaczy tytoniu obserwowano w Szwecji. Tam zanotowano spadek odsetka palących wśród mężczyzn z 36 % w 1982 roku do 22 % w 1997 roku i 14 % w 2002 roku, a wśród kobiet odpowiednio z 28 % do 24 % i 19 % [Joosens, 1999; WHO, 2005].

W Europie środkowo-wschodniej palacze tytoniu to najczęściej ludzie młodzi w wieku 20 – 29 lat oraz w wieku średnim 30 – 49 lat. Krajem o najwyższym odsetku palaczy są Węgry, gdzie ilość palaczy wśród mężczyzn i kobiet wynosiła odpowiednio 46 % i 28 % w latach 1994 – 1998 i spadła do 40,5 % i 27,8 % w latach 2002 – 2005 [WHO, 2005]. Wzrósł natomiast na Węgrzech odsetek osób palących wśród młodzieży uczącej się z 31,5 % w 1995 roku do 43,1 % w 1999 roku, przy czym wzrost ten spowodowany

był głównie zwiększeniem ilości palących młodych kobiet, podczas gdy liczebność palaczy wśród mężczyzn pozostawała bez większych zmian [Morbidity & Mortality Weekly Report, 2000].

Wzrost rozpowszechnienia palenia nastąpił też na Litwie i podobnie jak na Węgrzech było to spowodowane wzrostem odsetka palących kobiet. W populacji kobiet w wieku 20 – 24 lat odsetek ten wzrósł z 4,3 % do 20 % [Dregval et al., 2000].

Kolejnym krajem, gdzie zanotowano duży udział procentowy osób palących oraz wzrost odsetka palących kobiet jest Rosja. W Rosji w latach 1994 – 1998 paliło 63,2 % mężczyzn i 9,7 % kobiet, natomiast w latach 1999 – 2001 paliło 60,4 % mężczyzn i 15,5 % kobiet [WHO, 2005].

Palenie papierosów wśród osób młodych poniżej 18 roku życia jest zróżnicowane w poszczególnych krajach. Różnice dotyczą też regulacji minimalnego wieku konsumentów, którzy mogą legalnie kupować wyroby tytoniowe. W niektórych krajach (m. in. Francja, Niemcy, Belgia, Holandia) dopuszczalna jest sprzedaż papierosów osobom, które ukończyły 16 lat. We Francji i Niemczech obserwuje się wzrost odsetka młodzieży palącej. W grupie wiekowej 15 – 19 lat we Francji w latach 1993 – 1996 paliło 22 % chłopców i 18 % dziewcząt, a w 2002 – 2005 odpowiednio 26 % i 26,7 %. W Niemczech w grupie 12 – 17 lat odsetek osób palących wzrósł z 21 % wśród chłopców i 20 % wśród dziewcząt w latach 1993 – 1996 do odpowiednio 32,2 % i 33,7 % w latach 2002 – 2005. Najmniej młodzieży pali tytoń w krajach skandynawskich (Szwecja, Norwegia, Finlandia). W tych krajach zaobserwowano też spadek odsetka palących osób wśród młodzieży. W Szwecji w grupie 15 – latków w latach 1997 – 2001 odsetek palących chłopców i dziewcząt wynosił odpowiednio 18 % i 24 %, natomiast w latach 2002 – 2005 11,1 % i 19 %. Szwecja jest jednym z niewielu krajów, gdzie pali więcej kobiet niż mężczyzn [WHO, 2005].

Obecnie według Światowej Organizacji Zdrowia około 1,1 mld ludzi na świecie pali tytoń i według prognoz liczba ta zwiększy się do 1,64 mld w 2025 roku [Waller et al., 1999]. Szczególnie znaczący wzrost liczby palaczy wyrobów tytoniowych przewidywany jest w Chinach [Mackay, 1998].

## 4.2 Historia tytoniu

Tytoń jest rośliną z rodziny psiankowatych (*Solaneacea*). Najpopularniejsze są dwa jego gatunki: tytoń szlachetny (*Nicotiana tabacum L.*) i tytoń bakun (*Nicotiana rustica L.*) zwany machorką. Roślina ta pochodzi z Ameryki Południowej. Liście tytoniu wśród Indian palone były podczas obrzędów i ceremonii. Szamani przypisywali dymowi tytoniu własności magiczne i lecznicze. Do Europy tytoń został przywieziony w XV wieku z Ameryki. Szybko zdobył popularność głównie jako roślina lecznicza, ale także jako ciekawostka towarzyska, a nawet symbol przynależności do warstw zamożnych i oświeconych. Tytoń od XVI wieku uważany był m.in. za lek na migreny, bóle zębów, choroby stawów, nieżyt dróg oddechowych, na przeziębienia i choroby skóry. Stosowany był do zwalczania pasożytów skóry, jako lek przeciwko malarii i żółtej febrze, miał zapobiegać zakażeniu dżumą, a czasami uważany był za panaceum na wszelkie choroby. Największą popularność tytoń uzyskał na początku XX wieku, kiedy rozwinął się przemysł tytoniowy, a produkcja i sprzedaż tanich wyrobów tytoniowych osiągnęły najwyższy poziom.

## 4.3 Chemia dymu tytoniowego

Dym tytoniowy to mieszanina ponad 4200 związków chemicznych, z czego około 40 substancji ma udowodnione działanie rakotwórcze. Podczas żarzenia papierosa zachodzi szereg reakcji, m.in. reakcje utleniania, pirolizy, pirosyntezy, redukcji, dekarboksylacji, dehydratacji, destylacji i kondensacji. Temperatura strefy żarzenia osiąga 700-1000 °C w czasie zaciągania się papierosem i około 600 °C w przerwach między zaciągnięciami. W trakcie palenia tytoniu można rozróżnić główny strumień (mainstream smoke – MS), czyli strumień dymu wciągany przez palacza oraz boczny strumień (sidestream smoke – SS) powstający w przerwach między zaciąganiem. Ilościowy skład MS i SS nie jest taki sam. SS powstaje w niższej temperaturze przy ograniczonym dostępie powietrza, stąd więcej w nim produktów niecałkowitego spalania (np. tlenku węgla). SS zawiera też więcej ditlenku węgla, benzenu, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) i N-nitrozoamin [Namieśnik, 1993; Jongeneelen, 1994; Piekoszewski i Florek, 2001]. Różnice w strumieniu głównym i bocznym dymu tytoniowego dotyczą też ich własności fizykochemicznych. Odczyn strumienia głównego dymu papierosa jest bardziej kwaśny (pH = 5,8–6,2) niż strumienia bocznego (pH = 6,8–7,5). MS zawiera więcej cząstek

stałych ( $5 \times 10^9/\text{cm}^3$ ) w porównaniu z SS ( $10^5\text{--}10^6/\text{cm}^3$ ). Średnica cząstek stałych natomiast jest większa w strumieniu bocznym ( $0,1\text{--}1,5 \mu\text{m}$ ) niż w strumieniu głównym ( $0,1\text{--}1,0 \mu\text{m}$ ) [Piekoszewski i Florek, 2001].

W dymie tytoniowym rozróżniamy fazę gazową i fazę cząstkową. Faza gazowa zawiera między innymi: azot, tlen, tlenek węgla, ditlenek węgla, tlenki azotu, amoniak, cyjanowodor, węglowodory (izopren, toluen, etylobenzen, ksylen), ketony (aceton), aminy (metyloamina, dimetyloamina, izopropiloamina), zasady organiczne, lotne N-nitrozoaminy (N-nitrozodimetyloamina), nikotynę, wolne rodniki. Składniki te stanowią około 85–95 % całkowitej masy MS [Hoffmann et al., 1994; Piekoszewski i Florek, 2001; Miller et al., 2004; Zhang et al., 2005]. Faza cząstkowa zawiera alkaloidy pirydynowe (głównie nikotynę, która stanowi 85–90% ogólnej masy alkaloidów), WWA (naftalen, piren, fenantren, benzo(a)antracen, benzo(a)piren, benzofluoranteny), fenole (fenol, katechol), alkohole (solanesol), kwasy organiczne, fitosterole (stigmasterol), składniki nieorganiczne (potas, wapń, nikiel, ołów, selen, kadm, cynk), pierwiastki promieniotwórcze (polon-210), N-nitrozoaminy swoiste dla tytoniu (NNN, NNK), wolne rodniki [Piekoszewski i Florek, 2001; Hecht, 2002; Murphy et al., 2004].

Porównanie stężeń niektórych składników w fazie parowej i cząstkowej MS i SS papierosów bez filtra przedstawia tabela I.

Tabela I. Zawartość wybranych substancji chemicznych obecnych w fazie parowej i cząstkowej strumienia głównego (MS) powstającego po wypaleniu 1 papierosa oraz stosunek zawartości substancji w strumieniu bocznym do zawartości w strumieniu głównym (SS/MS).

Substancja chemiczna	MS	SS/MS
Faza parowa		
Tlenek węgla [mg]	10-23	2,5-4,7
Ditlenek węgla [mg]	20-60	8-11
Benzen [ $\mu\text{g}$ ]	12-48	10
Toluen [ $\mu\text{g}$ ]	160	6-8
Formaldehyd [ $\mu\text{g}$ ]	70-100	0,1-50
Akroleina [ $\mu\text{g}$ ]	60-100	8-15

Aceton [ $\mu\text{g}$ ]	100-250	2-5
Pirydyna [ $\mu\text{g}$ ]	16-40	7-20
3-Winylopirydyna [ $\mu\text{g}$ ]	15-30	20-40
Cyjanowodór [ $\mu\text{g}$ ]	400-500	0,1-0,25
Hydrazyna [ng]	32	3,0
Amoniak [ $\mu\text{g}$ ]	50-150	40-170
Metyloamina [ $\mu\text{g}$ ]	17,5-28,7	4,2-6,4
Dimetyloamina [ $\mu\text{g}$ ]	7,8-10	3,7-5,1
Tlenki azotu [ $\mu\text{g}$ ]	100-600	4-10
N-Nitrozodimetyloamina [ng]	10-40	20-100
N-Nitrozopirolidyna [ng]	6-30	6-30
Kwas mrówkowy [ $\mu\text{g}$ ]	210-478	01,4-1,6
Kwas octowy [ $\mu\text{g}$ ]	330-810	1,9-3,9
Faza cząstkowa		
Stała pozostałość [mg]	15-40	1,3-1,9
Nikotyna [mg]	1,7-3,3	1,8-3,3
Anatabina [ $\mu\text{g}$ ]	2,4-20,1	0,1-0,5
Fenol [ $\mu\text{g}$ ]	60-140	1,6-3,0
Katechol [ $\mu\text{g}$ ]	100-360	0,6-0,9
Hydrochinon [ $\mu\text{g}$ ]	110-300	0,7-0,9
Anilina [ng]	360	30
o-Toluidyna [ng]	160	19
2-Naftyloamina [ng]	1,7	30
4-Aminobifenyl [ng]	4,6	31
Benzo(a)antracen [ng]	20-70	2,2-4,0
Benzo(a)piren [ng]	20-40	2,5-3,5



Cholesterol [ $\mu\text{g}$ ]	14,2	0,9
Lakton kwasu $\gamma$ -masłowego [ $\mu\text{g}$ ]	10-22	3,6-5,0
Chinolina [ $\mu\text{g}$ ]	0,5-2,0	8-11
1-Metylo-9H-pirydo-(3,4b)-indol [ $\mu\text{g}$ ]	1,7-3,1	0,7-1,9
N'-Nitrozonornikotyna [ng]	200-3000	0,5-3
4-(Metylonitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanon [ng]	100-1000	1,4
N-Nitrozodietanoloamina [ng]	20-70	1,2
Kadm [ng]	100	3,6-7,2
Nikiel [ng]	20-80	0,2-30
Cynk [ng]	60	0,2-6,7
Polon-210 [pCi]	0,03-0,5	1,06-3,7
Kwas benzoesowy [ $\mu\text{g}$ ]	14-28	0,67-0,95
Kwas mlekowy [ $\mu\text{g}$ ]	63-174	0,5-0,7
Kwas hydroksooctowy [ $\mu\text{g}$ ]	37-126	0,6-0,95
Kwas bursztynowy [ $\mu\text{g}$ ]	112-163	0,43-0,62

Źródło: Otson and Fellin, 1982; IARC Monographs, 1986; Cooke, 1991; Florek, 1999; Piekoszewski i Florek, 2001.

Składniki dymu tytoniowego mają różne źródło pochodzenia. Obecne są w nim substancje będące składnikami liści tytoniu: alkaloidy pirydynowe (np. nikotyna) oraz zaabsorbowane z wody, gleby i powietrza (np. ołów, kadm, pierwiastki promieniotwórcze). Kolejną grupą substancji obecnych w dymie tytoniowym są związki generowane podczas żarzenia tytoniu w wyniku zachodzących reakcji (m in. tlenek węgla, ditlenek węgla, WWA, N-nitrozoaminy). Poza tym do tytoniu dodawane są w procesach produkcji substancje, które wpływają na właściwości smakowo-zapachowe, zmniejszają działanie drażniące dymu, wpływają na wartości pH dymu i na działanie farmakologiczne składników tytoniu (np. nikotyny). Obecnie dopuszczonych jest ok. 600 takich substancji [Piekoszewski i Florek, 2001].

## 4.4 Wpływ dymu tytoniowego na organizm człowieka

### 4.4.1 Działanie niekancerogenne dymu tytoniowego

Składniki dymu tytoniowego z pęcherzyków płucnych po wchłonięciu do krwi wywołują szereg niekorzystnych działań na cały ustrój. Wykazują działanie duszące i drażniące na układ oddechowy w sposób bezpośredni oraz w sposób pośredni przez obkurczenie mięśni gładkich prowadzące do zmniejszenia światła oskrzeli i oskrzelików [Corbo et al., 1996; Gilliland et al., 2002; Jaakkola and Gissler, 2004; Siroux et al., 2004; Yasuda et al., 2005]. Wpływ bezpośredni związany jest z działaniem chemicznym i mechanicznym składników dymu. Tlenek węgla obecny w dymie tytoniowym wiąże się z hemoglobina oraz innymi hemoproteinami zawierającymi żelazo lub miedź, czego efektem jest stan przewlekłego niedotlenienia i niekorzystne działanie na ośrodkowy i obwodowy układ nerwowy, układ krążenia i mięsień sercowy oraz inne narządy. Czynnikiem powodującymi hipoksję są też obecne w dymie tytoniowym cyjanowodor i siarkowodor, które inaktywują enzymy (oksydazę cytochromową, cytochrom c), w wyniku czego dochodzi do blokowania procesu oddychania na poziomie komórkowym [Mutschler et al., 2001; Seńczuk, 2005]. Inne składniki dymu tytoniowego, np. akroleina i amoniak mają działanie drażniące na błony śluzowe, hamują ruchy rzęsek nabłonka oskrzeli, wywołują nieżyty. Efektem wieloletniego wdychania dymu tytoniowego jest działanie drażniące na krtań (zgrubienie głosu, chrypa, kaszel), na oskrzela (zmniejszenie aktywności rzęskowej błon oskrzeli, nieżyt oskrzeli, hipersekcja śluzu), na płuca (zatrącenie elastyczności, niszczenie elementów sprężystych pęcherzyków, wzrost przepuszczalności nabłonka płucnego). Zmianom cytomorfologicznym płuc towarzyszy degradacja białek strukturalnych miąższu płucnego i upośledzenie procesów odnowy. Konsekwencjami mogą być: zaporowa choroba płuc i przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP), zapalenia oskrzeli z nadmiernym wydzielaniem śluzu i kaszlem, przewlekły nieżyt oskrzelików i obturacja dystalnych dróg oddechowych, rozedma płuc z powiększoną dystalną przestrzenią powietrzną i utratą śródmiąższu pęcherzykowego [Corbo et al., 1996; Dockery and Trichopoulos, 1997; Gilliland et al., 2002; Bridenbaker, 2003; Jaakkola and Gissler, 2004; Jimenez-Ruiz et al., 2004; Siroux et al., 2004].

Stany zapalne dróg oddechowych są dodatkowo powodowane osłabieniem (awitaminoza), spadkiem odporności i upośledzoną fagocytozą [Cogswell et al., 2003; Doyle et al., 2003]

Działanie składników dymu tytoniowego na układ trawienny wiąże się głównie z działaniem nikotyny. Małe dawki nikotyny powodują pobudzenie perystaltyki, a nawet skurcze oraz wzmożenie wydzielania soku żołądkowego. Działanie nikotyny na receptory  $\alpha$ - i  $\beta$ -adrenergiczne prowadzi do zmniejszenia ukrwienia ścian żołądka oraz hamowania przepływu krwi przez trzustkę i dwunastnicę. Efektem może być powstawanie wrzodów trawiennych żołądka i dwunastnicy. Działanie nikotyny wiąże się również ze zmniejszeniem ukrwienia wątroby. Oprócz tego u palaczy często stwierdza się przytępienie zmysłów powonienia i smaku oraz wzmożone wydzielanie śliny i zmniejszenie uczucia łaknienia [Wald and Hackshaw, 1996; Klein et al., 2004].

Działanie na układ nerwowy dymu tytoniowego również wiąże się głównie z działaniem nikotyny. Nikotyna ma działanie pobudzające na ośrodkowy i obwodowy układ nerwowy. Wykazuje działanie cholinergiczne i adrenergiczne. W dużych stężeniach poraża synapsy nerwowe i może doprowadzić do śmierci. Dawka śmiertelna nikotyny wynosi około 50 mg. Jeden papieros zawiera około 1 mg nikotyny. Nikotyna działa stymulująco na OUN, zwoje wegetatywne, rdzeń nadnerczy i zakończenia nerwów naczyniowych [Mutschler et al., 2001; Seńczuk, 2005].

Nikotyna wywiera działanie na mięśnie gładkie, a tym samym na układ naczyniowy. Powoduje wzrost ciśnienia tętniczego krwi na drodze różnych mechanizmów. Pod wpływem nikotyny dochodzi do obkurczenia naczyń krwionośnych. Działanie adrenergiczne nikotyny prowadzi do uwolnienia adrenaliny z nadnerczy i wzrostu stężenia serotoniny. Nikotyna powoduje też przyspieszenie akcji serca oraz wzrost stężenia wazopresyny, hormonu antydiuretycznego uwalnianego z przysadki mózgowej, co prowadzi do skurczu naczyń wieńcowych serca. U osób palących tytoń stwierdza się dodatkowo zaburzenia przemiany lipidowej i cholesterolowej, wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych, cholesterolu i  $\beta$ -lipoprotein w surowicy krwi [Steenland et al., 1998; Bridenbaker, 2003; Mirza et al., 2005]. Działanie niekorzystne nikotyny na układ krążenia, może objawić się częstoskurczem i wzrostem objętości wyrzutowej i minutowej serca, co prowadzi do zwiększonego zapotrzebowania na tlen przez mięsień sercowy i wzrostu przepływu krwi przez lewą komorę serca i jego naczynia wieńcowe. Efektem długotrwałego działania nikotyny na układ sercowo naczyniowy mogą być nadciśnienie, przyspieszenie czynności serca, wzrost tętna o 5 do 10 uderzeń na minutę, odkładanie w naczyniach cholesterolu i soli wapnia prowadzące do stwardnienia naczyń, miażdżyca, choroba wieńcowa, a ostatecznie dusznica bolesna,

zawał mięśnia sercowego oraz wylew krwi do mózgu [Steenland et al., 1998; Bridenbaker, 2003; Moolchan et al., 2004; Leone, 2005].

Działanie składników dymu tytoniowego wywołuje efekt synergistyczny, czyli większy niż arytmetyczna suma efektów działań poszczególnych substancji. U palaczy stwierdza się zwiększone zapotrzebowanie na witaminy i mikroelementy (hipowitaminoza). Hipowitaminoza witaminy C sprzyja podwyższeniu poziomu wolnych kwasów tłuszczowych, cholesterolu i zaburzeniom w składzie lipoprotein [Monsen et al., 2004]. Osoby palące narażone są na zjawisko przedwczesnego przekwitania (andropauza, menopauza) [Vermeulen and Kaufman, 1995; Tan and Phillip, 1999].

Palenie tytoniu wpływa na płodność mężczyzn i kobiet [Jędrzejczak i wsp., 2004; Ludwikowski i wsp., 2004; Errard-Lalande and Halimi, 2005].

Aktywne palenie tytoniu sprzyja też chorobom związanym z prawidłowym uwapnieniem kości (osteoporoza, osteomalacja) [Wald and Hackshaw, 1996; Bergstorm, 2004].

Palenie papierosów i narażenie na ETS niekorzystnie wpływa na dzieci i młodzież. Może być przyczyną wzrostu zachorowania na alergię i choroby układu oddechowego oraz zaburzeń rozwoju fizycznego i psychicznego dzieci [Corbo et al., 1996; Knight et al., 1996; Weaver et al., 1996; Irvine et al., 1997; Esamai, 1998; Leong et al., 1998; Skolnick et al., 1998; Oddo et al., 1999; Bielska i Ołdak, 2004; Złotkowska, 2004].

#### **4.4.2 Działanie kancerogenne składników dymu tytoniowego**

W skład dymu tytoniowego wchodzi około 40 związków mających działanie kancerogenne. Są to między innymi: związki organiczne (np. wielopierścieniowe i jednopierścieniowe węglowodory aromatyczne, N-nitrozoaminy, aminy aromatyczne) oraz związki nieorganiczne (np. kadm) [Dziennik Ustaw nr 121, Załącznik nr 1 do rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11.09.1996].

Do rakotwórczych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych obecnych w dymie tytoniowym należą np. benzo(a)piren, benzo(a)antracen i dibenzo(a,b)antracen. Związki te powstają podczas niecałkowitego spalania materiałów organicznych. Narażenie na te związki wiąże się z paleniem tytoniu i narażeniem na ETS, a także ekspozycją zawodową lub środowiskową. WWA są przyczyną powstania nowotworu głównie w miejscu działania (np. raka płuca u palaczy tytoniu), chociaż wywołują też działanie ogólne. Wielopierścieniowe

węglowodory aromatyczne należą do prokancerogenów, co oznacza, że efekt kancerogeny wywołany jest przez metabolity związków macierzystych – związki epoksydowe będące produktami reakcji utleniania WWA. Proces kancerogenezy w płucach jest inicjowany tworzeniem adduktów DNA-kancerogen [Godschalk et al., 2005]. Dochodzi też do reakcji, oddziaływań związków rakotwórczych z białkami komórkowymi. Udowodniono wzrost stężenia adduktów DNA-WWA w krwi obwodowej i w tkankach palaczy tytoniu i osób niepalących narażonych na ETS [Gyorffy et al., 2004; Phillips et al., 2004]. Zagrożenie rakiem płuca jest zależne od liczby wypalanych papierosów, czasu trwania nałogu i głębokości inhalacji dymu [Pavanello and Clonfero, 2000]. Ryzyko efektu genotoksycznego zależy też od polimorfizmu metabolicznego. Na metabolizm wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych wpływa aktywność izoenzymów cytochromu P450 (CYP1A1, CYP1B1, CYP\*2A), epoksyhidrolazy mikrosomalnej (EPHX) oraz lizoforn S-transferazy glutationowej (GSTM1, GSTP1, GSTT1) [Pavanello and Clonfero, 2000; Piipari et al., 2003; Georgiadis et al., 2004; Lodovici et al., 2004; Czekaj i wsp., 2005]. Indywidualne różnice w aktywności enzymów odpowiedzialnych za aktywację metaboliczną prokancerogenów w płucach wpływają na stężenia i dawki efektywne dla tego organu. S-transferaza glutationowa (GST) pełni rolę ochronną (efektem jej działania jest zmniejszenie liczby adduktów DNA-WWA), lecz tylko u osób wypalających mniej niż 20 papierosów dziennie. U pozostałych palaczy (tzw. „heavy smokers”) nie zauważono wpływu aktywności GST na stężenie adduktów DNA-WWA [Piipari et al., 2003; Hurt et al., 2004].

Węglowodory aromatyczne jednopierścieniowe (np. benzen) wykazują działanie analogiczne do WWA. Dodatkowo związki te w organizmie ulegają biotransformacji z wytworzeniem wysokoreaktywnych rodników i aktywnych postaci tlenu prowadzące do uszkodzenia DNA na drodze oksydacji. Wolne rodniki, które obecne są też w dymie tytoniowym inhalowanym przez palaczy tytoniu indukują stres oksydacyjny, następstwem czego jest peroksydacja lipidów [Phillips et al., 2004; Van der Vaart et al., 2004; Godschalk et al., 2005]. Palenie tytoniu może być przyczyną nie tylko raka płuca, ale górnego odcinka układu oddechowego (jamy ustnej, gardła, przełyku, krtani), przewodu pokarmowego, trzustki, wątroby i układu moczowego [Pavanello and Clonfero, 2000; Phillips et al., 2004, DeMarini and Preston, 2005].

Wśród N-nitrozoamin obecnych w dymie tytoniowym działanie rakotwórcze wykazują: NNN – N'-nitrozonornikotyna, NNK – keton 4-(metylonitrozoamino)-4-(3-pirydylo)

masłowy i NNAL – alkohol 4-(metylonitrozoamino)-1-(3-pirydylo)masłowy. [Hoffman et al., 1994]. Związki nitrozowe w wyniku oksydatywnej biotransformacji tworzą związki alkilujące, których działanie rakotwórcze jest następstwem reakcji alkilacji łańcuchów DNA [Mutschler et al., 2001]. Podobnie jak WWA N-nitrozoaminy wpływają na powstawanie nowotworu w miejscu ich działania. U osób palących stężenie N-nitrozoamin specyficznych dla tytoniu w moczu koreluje z ryzykiem wystąpienia raka płuca, a u osób żujących tytoń z ryzykiem wystąpienia nowotworu górnych odcinków przewodu pokarmowego [Hoffman et al., 1994; Husgarfel–Pursiainen, 2002; Anderson et al., 2003].

Aminy aromatyczne obecne w dymie tytoniowym (np. o-toluidyna, 4-aminobifenyl, 2-naftylamina, benzydyna, difenyloamina) podobnie jak WWA należą do prokancerogenów. Ich aktywacja następuje przez utlenienie i dalszą biotransformację do elektrofilnych półproduktów reagujących z białkami i kwasami nukleinowymi [Mutschler et al., 2001]. Aminy aromatyczne nie działają miejscowo, lecz wywołują efekt w narządach typowych dla poszczególnych związków (organotropizm), np. 4-aminobifenyl, 2-naftylamina i benzydyna są odpowiedzialne za powstawanie raka pęcherza moczowego. Ryzyko wystąpienia raka pęcherza moczowego odzwierciedla stężenie adduktu hemoglobina-4-aminobifenyl [DeMarini, 2004].

Do nieorganicznych kancerogenów obecnych w dymie tytoniowym należą metale ciężkie (np. kadm). Ich działanie rakotwórcze związane jest z nukleofilnym atakiem na DNA, czego efektem są punktowe mutacje. Poza tym kancerogenne działanie kadmu związane jest z powinowactwem tego metalu do enzymów związanych z replikacją komórkową [Stohs and Bagchi, 1995; Mutschler et al., 2001].

Narażenie środowiskowe na dym tytoniowy oraz palenie papierosów przez matki w okresie ciąży może zwiększać ryzyko występowania chorób nowotworowych u dzieci w wieku dorosłym [Rodriguez et al., 2002].

Dym tytoniowy jest jednym ze źródeł ekspozycji na kancerogeny, który można w znacznej mierze zredukować. Jednak wielkość tej ekspozycji oraz ryzyko zachorowania na nowotwór nie maleją przy paleniu tak zwanych papierosów „lekkich” [Hatsukami et al., 2004; Hecht et al., 2004; Rose and Behm, 2004; Benovitz, 2005; Hecht et al., 2005]. Jedynie zaprzestanie palenia wpływa na zmniejszenie częstości występowania nowotworów zależnych od palenia. Po zaprzestaniu palenia po kilkunastu latach ryzyko zachorowania na raka płuca jest takie jak u osoby nigdy niepalącej papierosów [Hill et al., 2003; Hughes et al., 2004; Thurston et al., 2005].

#### **4.4.3 Wpływ palenia tytoniu i narażenia na środowiskowy dym tytoniowy na kobietę ciężarną i płód**

W ostatnim ćwierćwieczu dwudziestego wieku zwrócono szczególną uwagę na szkodliwe skutki działania składników dymu tytoniowego na rozrodczość oraz w przypadku kobiet ciężarnych - na rozwój embrionalny i płodowy.

Palenie tytoniu stanowi istotny czynnik zwiększający ryzyko uszkodzenia żeńskich i męskich komórek płciowych, a narażenie na środowiskowy dym tytoniowy w okresie prenatalnym może być przyczyną wielu negatywnych skutków zdrowotnych. Działanie niekorzystne składników dymu tytoniowego dotyczy płodu na wszystkich etapach jego rozwoju [Cornelius, 2000; Kutlu et al., 2002; Cogswell et al., 2003; Melve et al., 2003; Ventura et al., 2003; Hanke et al., 2004; Nakamura et al., 2004; Jaakkola and Gissler, 2004; DeMarini and Preston, 2005].

W okresie gametogenezy (przed zapłodnieniem) możliwe są zakłócenia w rozwoju objawiające się zaburzeniami chromosomów (np. trisomia 21 chromosomu).

W okresie blastogenezy (0–18 dzień życia płodu) dochodzi do podziału zygoty, rozwoju blastuli i różnicowania embrioblastu i trofoblastu. Wówczas działanie szkodliwych substancji zawartych w dymie tytoniowym może powodować blastopatie. Ciężkie blastopatie kończą się śmiercią zarodka, mniej poważne mogą ulec samowyleczeniu. Do zaburzeń możliwych na tym etapie rozwoju płodu należą symetryczne i asymetryczne podwójne wady rozwojowe [Mutschler et al., 2001].

W okresie embriogenezy (18 dzień–8 tydzień życia płodu) powstają i różnicują się narządy i układy, wyróżnicowane zostaje łożysko i dochodzi do połączenia płodu z układem krążenia matki. Łožysko pełni funkcję organu wymiany oraz ochronnej bariery między matką i płodem. Substancje odżywcze (białka, aminokwasy, węglowodany, lipidy, witaminy i inne) przenikają z krwi matki do przestrzeni międzykosmkowej łożyska, a dalej do naczyń włosowatych, żyły pępowinowej i krwi płodu. Z krwi matki do płodu przechodzą również niektóre ksenobiotyki (np. leki, składniki dymu tytoniowego, metale). Czynnikiem wpływającym najbardziej niekorzystnie na płód matek palących lub narażonych na ETS są następujące składniki dymu tytoniowego: tlenek węgla, nikotyna, cyjanki, węglowodory aromatyczne, metale ciężkie (ołów, kadm) [Pulkkinen, 1990]. Tlenek węgla powoduje niedotlenienie płodu. Zmniejszone łożyskowe zużycie tlenu i osłabiona płodowo-noworodkowa glukoneogeneza mogą prowadzić do hipoglikemii, wzrostu odsetka wad rozwojowych i opóźnienia rozwoju umysłowego noworodka. Nikotyna wywiera na płód niekorzystny

wpływ szczególnie na układ sercowo-naczyniowy, układ pokarmowy i układ nerwowy. Wpływ metali ciężkich na rozwój płodu ma charakter złożony. Ołów wywiera bezpośrednie działanie toksyczne na centralny układ nerwowy. Kadm ma udowodnione działanie mutagenne, teratogenne, kancerogenne i embriotoksyczne. Metale ciężkie wpływają też na biodostępność innych pierwiastków (np. cynku, miedzi, magnezu, żelaza), hamują enzymy mitochondrialne powodując zakłócenia w procesach wytwarzania i magazynowania energii w komórkach oraz aktywnym transporcie przez struktury membranowe łożyska [Burton et al., 1989; Baranowska, 1995; Milnerowicz, 1997; Genbacev et al., 2003; Bainbridge et al., 2005].

Wrażliwość płodu na ksenobiotyki wynika z niedojrzałości enzymatycznej oraz braku mechanizmów odtruwania. Szkodliwe substancje praktycznie nie ulegają metabolizmowi, a jedyną drogą ich eliminacji jest transport przez łożysko do krążenia matki lub wydzielenie do wód płodowych. Dlatego biologiczne okresy półtrwania ksenobiotyków w krążeniu płodu ulegają wydłużeniu, a stężenia ksenobiotyków u płodu mogą być wyższe niż w organizmie matki [Lauwerys et al., 1978; Sanyal et al., 1993; Bainbridge et al., 2005].

Działanie substancji toksycznych, na które narażona jest kobieta ciężarna w okresie embriogenezy może objawiać się w postaci wad rozwojowych (np. dysrafia, wady serca i naczyń), przy czym to, czy dojdzie do uszkodzenia zależy od czasu działania ksenobiotyku. Czas, w którym może dojść do uszkodzenia danego narządu nazywany jest okresem krytycznym [Mutschler et al., 2001].

Wykazano wzrost ryzyka wystąpienia wad wrodzonych układu sercowo-naczyniowego i moczowo-płciowego u dzieci matek palących [Kelsey et al., 1978; Secher et al., 1990; Ellard et al., 1996; Booker, 2001]. Narażenie czynne i bierne matki na dym tytoniowy w okresie ciąży sprzyja wystąpieniu zaburzeń układu oddechowego płodu a także dysfunkcji układu nerwowego [Kuhnert et al., 1987a; Kuhnert et al., 1987b; Secher et al., 1990; Ellard et al., 1996; Booker, 2001; Henderson et al., 2001].

W okresie fetogenezy (8 tydzień życia płodu – dzień porodu) następuje zakończenie różnicowania narządów, dalszy wzrost i dojrzewanie płodu. W tym okresie działanie niekorzystne składników dymu tytoniowego może objawiać się w postaci komplikacji przebiegu ciąży, zaburzeń wzrostu i dojrzewania płodu. Czynniki, które determinują wzrost płodu to: przepływ krwi maciczno-łożyskowy, przepływ krwi pępowinowej, wielkość transferu łożyskowego glukozy i wydzielenie płodowej insuliny. U kobiet ciężarnych palących tytoni częściej dochodzi do komplikacji ciąży: łożyska



przodującego, przedwczesnego oddzielenia się łożyska, krwawienia podczas ciąży, przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, zakażenia płynu owodniowego. Częstość przypadków komplikacji rośnie z ilością wypalanych papierosów [Williams et al., 1991; Ekwo et al., 1992; Williams et al., 1992]. Palenie zwiększa ryzyko poronień samoistnych przed 20 tygodniem ciąży [Harlap and Shiono, 1980; Armstrong et al., 1992]. Ryzyko poronienia u kobiet palących wzrasta o około 10 % w stosunku do kobiet niepalących i jest zależne od ilości wypalanych papierosów [Johnston, 1981; Windham et al., 1992].

Dzieci matek palących w porównaniu z dziećmi matek niepalących są średnio 150-300 g lżejsze [Johnston, 1981; Powolny, 2004]. W grupie noworodków matek palących tytoń obserwuje się poza tym zahamowanie wzrostu wewnątrzmacicznego i nieproporcjonalny rozwój wewnątrzmaciczny [Kuhnert et al., 1987a; Kuhnert et al., 1987b; Secher et al., 1990; Ellard et al., 1996; Booker, 2001; Wojculewicz i wsp., 2004]. Obniżenie masy urodzeniowej spowodowane może być zarówno czynnym jak i biernym narażeniem matek na dym tytoniowy [Rubin et al., 1986, Campbell et al., 1988; Ogawa et al., 1991; Basso et al., 1998; Saito, 1991; Jaakkola et al., 2001]. Zmniejszenie ilości wypalanych papierosów w okresie ciąży lub zaprzestanie palenia prowadzi do zwiększenia masy urodzeniowej noworodka [Secker-Walker et al., 1986]. W 1985 roku wprowadzono do neonatologii pojęcie Zespół Nikotynowy Płodu (Fetal Tobacco Syndrome – FTS), który określa hipotrofię płodu – zahamowanie wzrostu wewnątrzmacicznego spowodowane paleniem tytoniu matki w okresie ciąży [Lach i wsp., 1998].

Opóźniony wzrost płodu i mała masa urodzeniowa to czynniki wpływające na wzrost współczynnika zachorowalności i śmiertelności noworodków [Harlap and Shiono, 1980; Armstrong et al., 1992; Dolan-Mullen et al., 1994]. Umieralność okołoporodowa noworodków matek palących tytoń w okresie ciąży wzrasta o około 10 %, a w przypadku kobiet palących ponad 20 papierosów dziennie nawet o 20-35 % [Meyer et al., 1976].

Palenie papierosów przez matki oraz narażenie na środowiskowy dym tytoniowy w okresie ciąży zwiększają dwukrotnie ryzyko wystąpienia przedwczesnego porodu [Marszałek i Biczysko, 2000; Wojculewicz i wsp., 2004]. Przedwczesne urodzenie wiąże się ze wzrostem zaburzeń oddychania oraz uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego [Henderson et al., 2001].

Do odległych skutków palenia tytoniu przez matki oraz narażenia na ETS w okresie ciąży należą zaburzenia neurologiczne. Dzieci palących rodziców wykazują ubytki w rozwoju neurologicznym i intelektualnym oraz około 10 punktowe obniżenie IQ [Dunn et al. 1977; Longo, 1982; Makin et al., 1991; Tomblin et al., 1998; Eskenazi, 1999; Lanphear et al., 2005].

#### **4.5 Ołów – jego występowanie i działanie biologiczne**

W stanie naturalnym ołów występuje w postaci minerałów, np. siarczku, węglanu, tlenku, siarczanu. Do emisji ołowiu do środowiska dochodzi głównie na skutek działalności człowieka. Jego głównym źródłem są procesy spalania paliw płynnych i węgla, produkcja żelaza i metali nieżelaznych, górnictwo rud metali nieżelaznych, spalanie śmieci. Stężenia ołowiu w powietrzu nad terenami miast mogą osiągać poziom do  $0,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$  [Państwowy Inspektorat Ochrony Środowiska/Państwowy Inspektorat Sanitarny, 1994].

Zawartość ołowiu w glebie wynosi 1-50  $\mu\text{g}/\text{g}$ , przy czym najwyższe stężenia występują w górnych warstwach gleby [Jakubowski, 1997]. Ołów absorbowany jest przez rośliny, znajduje się w produktach zwierzęcych (mięso, jaja, mleko) oraz w wodzie.

Zawartość ołowiu w tytoniu może być różna i zależy od marki papierosów. Według danych Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (IARC) ilość tego metalu wynosi 0,017-0,98  $\mu\text{g}/\text{papieros}$  [IARC-Monographs, 1986]. Polskie badania wykazały zawartość ołowiu w granicach 0,4–1,3  $\mu\text{g}/\text{papieros}$  [Bronisz i wsp., 1983].

Ołów wchłania się do organizmu głównie przez przewód pokarmowy i układ oddechowy. Biodostępność ołowiu zależy od postaci, w jakiej ten metal występuje, a także od wieku i stanu fizjologicznego osoby narażonej. Przez drogi oddechowe Pb wchłania się w 30–50 %. Przy wdychaniu aerozolu zawierającego związki ołowiu część ziaren (10–30 %) ulega depozytowaniu w płucach. Procent depozytu zależy do wielkości aerodynamicznej ziaren [Toxicological Profile for Lead, 1993]. Przy ciągłym narażeniu środowiskowym na ołów w powietrzu w stężeniu  $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$  obserwowano po kilku miesiącach przyrost stężenia ołowiu w krwi o 16,4  $\mu\text{g}/\text{l}$  u dorosłych i o 19,2  $\mu\text{g}/\text{l}$  u dzieci [Carlisle and Wade, 1992].

Przez układ pokarmowy wchłania się dużo mniej ołowiu (5–10 %), przy czym w przypadku organicznych związków ołowiu (np. czteroetylek ołowiu) wchłanianie jest większe. Wchłanianie ołowiu z przewodu pokarmowego zależy również od diety

i wzrasta w okresie głódówki [Rabinowitz et al., 1976]. U dzieci wchłanianie ołowiu przez przewód pokarmowy jest wyższe niż u dorosłych i może wynosić nawet 50 % [Carlisle and Wade, 1992]. Przyjmowanie ołowiu z pożywieniem w stężeniu 1 µg/kg powoduje przyrost stężenia ołowiu w krwi u dorosłych o 0,4 µg/l a u dzieci o 1,6 µg/l [Carlisle and Wade, 1992].

Dorosły człowiek dziennie pobiera z pożywieniem około 0,4 mg ołowiu, co oznacza, że pobranie tego metalu z dietą nie przekracza wartości dopuszczalnej (3 mg/tydzień) [Raport Komisji Toksykologicznej, 1993].

Po wchłonięciu do krwi ołów w 99 % jest wiązany z erytrocytami [De Silva, 1981]. Z krwią dostaje się do wszystkich tkanek i narządów: wątroby, płuc, serca i nerek (pula szybkowymiennej), skóry i mięśni (pula średniowymiennej) oraz do tkanki kostnej, gdzie ulega kumulacji.

W komórkach ołów obecny w cytoplazmie tworzy kompleksy z białkami, które ulegają depozytowaniu w jądrze komórkowym w postaci tzw. ciałek inkluzyjnych. Wydalanie ciałek inkluzyjnych ma miejsce przy terapii chelatonowej [Goyer, 1989].

Kumulacja ołowiu w kościach rozpoczyna się już w okresie życia płodowego, a ilość tego pierwiastka w kościach wzrasta przez całe życie osiągając w kości piszczelowej stężenie około 27 mg/kg po 70 roku życia [Wittmers et al., 1988]. Całkowita zawartość ołowiu zgromadzona w organizmie osób nienarażonych zawodowo po 60-70 latach może wynosić 200 mg.

Stężenie ołowiu w tkankach miękkich i w płynach ustrojowych odzwierciedla narażenie na ten metal w niedalekiej przeszłości, podczas gdy stężenie ołowiu w kościach jest odbiciem długotrwałej ekspozycji.

Łożysko nie stanowi bariery dla ołowiu pomiędzy matką a płodem. Stężenia tego metalu w krwi matki i płodu są prawie identyczne [Lauwerys et al., 1978; Roels et al., 1978; Nashashibi et al., 1999; Gardella, 2001].

Głównymi drogami wydalania ołowiu z ustroju są nerki (76 %) i przewód pokarmowy (16 %). Pozostałe drogi wydalania Pb to wydalanie przez skórę, włosy, paznokcie, pot (8 %). Obserwuje się kilka faz eliminacji ołowiu odpowiadające puli szybko i wolnowymiennej tego metalu w organizmie. Dla pierwszego etapu eliminacji ołowiu okres półtrwania wynosi 20–30 dni, dla drugiego 10–20 lat [Rabinowitz et al., 1976, Tuschya and Lead, 1986; Schutz et al., 1987].

Ołów wykazuje działanie toksyczne przy narażeniu na duże dawki oraz przy długotrwałej ekspozycji na niskie stężenia. Działanie toksyczne ołowiu wynika z jego

powinowactwa do grup sulfhydrylowych enzymów i białek, co prowadzi do zaburzeń metabolicznych i ograniczenia aktywności enzymów, zaburzenia syntezy białek oraz zaburzeń gospodarki biopierwiastkami (cynk, miedź, żelazo, wapń). W postaci związanej z metalotioneiną ołów jest obecny w wątrobie, nerkach, jelicie, łożysku i błonach płodowych [Rabinowitz et al., 1976; Lauwerys et al., 1978; Korpela et al., 1986; Goyer, 1989; Goyer, 1990; Baranowska, 1995].

Wpływ ołowiu na gospodarkę biopierwiastkami jest złożony. Wzrost stężenia tego metalu w ustroju powoduje zwiększone wydalanie żelaza i miedzi oraz hamowanie powstawania ceruloplazminy [Goyer, 1990]. Ołów i kadm wykazują działanie synergistyczne, natomiast cynk jest antagonistą ołowiu. Wchłanianie Pb zależy od ilości w diecie innych metali i maleje przy zwiększonym spożyciu wapnia. Niedobór wapnia jest też przyczyną zwiększonej toksyczności ołowiu [Kuhnert et al., 1988; Goyer, 1990; Baranowska i wsp., 1992].

Spośród skutków toksycznych działania ołowiu należy wymienić m.in. zaburzenia układu krwiotwórczego (syntezy hemu i globiny), co objawia się inhibicją erythrocytarnej dehydratazy aminolewulinowej, podwyższeniem poziomu erythrocytarnej protoporfiryny IX, wzrostem wydalania z moczem kwasu  $\Delta$ -aminolewulinowego, koproporfiryny, inhibicją aktywności erythrocytarnej fosfohydrolazy oraz obniżeniem poziomu hemoglobiny [Jakubowski, 1997; Jakubowski, 2004].

W przebiegu ostrego zatrucia ołowiem może dojść do objawów ze strony układu wydalniczego: nefropatii i neoplazji komórek nerek. Do objawów nefropatii ołowiczej należą białkomocz,  $\beta_2$ -mikroglobinuria i inne komplikacje jak dna moczanowa, nowotwory, nadciśnienie [Goyer, 1989]. Narażenie na ołów może spowodować wzrost przepuszczalności naczyń włosowatych, uszkodzenie kanalików nerkowych oraz obniżenie zdolności nerek do filtracji.

Ołów wywiera działanie toksyczne na układ nerwowy. Zatrucie ostre oraz długotrwałe narażenie na ołów może doprowadzić do encefalopatii ołowiczej [Tuschiya and Lead, 1986].

Działanie toksyczne ołowiu na OUN wynika z blokowania enzymów biorących udział w systemie neurotransmiterów [Kabata-Pendias and Pendias, 1993]. Prowadzi to do zmiany szybkości przewodzenia włókien nerwowych oraz do zmian patologicznych we włóknach ruchowych, które obejmują odcinkową demielinizację lub zmiany zwyrodnieniowe aksonu. Głównymi objawami ze strony OUN opisywanymi w przypadku zatruc ołowiem u dorosłych są stany otępienia, drażliwość, bóle głowy,

drżenia mięśniowe, halucynacje, zaburzenia pamięci i koncentracji uwagi [Tuschiya and Lead, 1986].

Grupą podwyższonego ryzyka przy narażeniu środowiskowym na ołów są dzieci, u których ośrodkowy układ nerwowy jest układem krytycznym przy ekspozycji na ten metal [Centers of Disease Control, 1991]. Przy narażeniu na ołów u dzieci obserwowano obniżenie ilorazu inteligencji (IQ) o około 20 % odchylenia standardowego dla normalnego rozkładu IQ [Centers of Disease Control, 1991]. Obserwowano też zaburzenia inteligencji wzrokowej, koordynacji wzrokowo-ruchowej, zmniejszenie zdolności uczenia, upośledzenie zdolności wysławiania oraz pamięci [Tuschiya and Lead, 1986; Toxicological Profile for Lead, 1993].

Efektom narażenia kobiet ciężarnych na ołów jest narażenie płodu, które może prowadzić do dysfunkcji OUN [Winneke et al., 1990; Centers of Disease Control, 1991]. U dzieci narażonych na ten metal w okresie płodowym występuje większe ryzyko rozwoju schizofrenii w dorosłym życiu i wystąpienia innych chorób, które ujawniają się po wielu latach w okresie młodzieńczym lub wczesnej dorosłości. Prenatalne narażenie na ołów wpływa na wzrost ryzyka urodzeń przedwczesnych, poronień, zmian neurologicznych i wrodzonych u noworodków [Burton et al., 1989; Baranowska i wsp., 1992; Andrews et al., 1994; Nashashibi et al., 1999].

Ołów ma działanie teratogenne, prowadzi do trwałych zaburzeń strukturalnych lub czynnościowych w trakcie rozwoju embrionalnego lub płodowego. Zaburzenia te mogą ujawnić się przed i po urodzeniu. Mechanizm działania teratogenne jest zróżnicowany i obejmuje mutacje, zakłócenia mitozy, zmiany w chromosomach, zakłócenia czynności błon, dystrybucji substancji odżywczych i energetycznych. Ołów *in vitro* zakłóca syntezę DNA i może powodować zaburzenia struktury chromosomów w czasie mitozy [Sirover and Lob, 1976].

Teratogenne działanie Pb może też wiązać się z interakcją z innymi substancjami powodującymi zaburzenia rozwoju płodu [Roels et al., 1978; Gardella, 2001].

Komórki endotelium w naczyniach bariery krew-mózg u płodu są niedojrzałe, a przez to OUN płodu jest układem bardziej wrażliwym na działanie Pb niż u osób dorosłych [Gardella, 2001].

U kobiet ciężarnych dochodzi do mobilizacji ołowiu skumulowanego w tkankach i kościach, wzrostu absorpcji Pb z pożywieniem oraz zwiększenia retencji w nerkach. Efektom tego jest zwiększony poziom ołowiu u kobiet w okresie ciąży, które może być

odzwierciedleniem narażenia na ten metal w przeszłości [Roels et al., 1978; Ong et al., 1993; Gardella, 2001].

Ołów przechodzi też do mleka matki, co stanowi istotną drogę narażenia noworodków [Burton et al., 1989; Nashashibi et al., 1999].

Niekorzystny wpływ obniżenia stężenia cynku, wapnia, miedzi i żelaza przy narażeniu na ołów kobiet w ciąży objawia się zaburzeniami prawidłowego wzrostu i rozwoju płodu [Kuhnert et al., 1987a]. Zaburzenia homeostazy miedzi mogą doprowadzić do niedostatecznego rozwoju błon płodowych, nieprawidłowego rozwoju szkieletu i mózgowia, ataksji i anemii noworodka [Goyer, 1990]. Narażenie kobiet na ołów zwiększa ryzyko hipotrofii płodu, uszkodzeń neurologicznych i zaburzeń pracy mięśni [Goyer, 1990]. Wysokie stężenie ołowiu w krwi matek koreluje z niską punktacją w skali Apgar noworodka [Baranowska i wsp., 1992; Baranowska, 1995]. U dzieci, których matki narażone były na ołów wykazano liczne zmiany w kościach i zębach [Baranowska i wsp., 1992].

Podwyższony poziom ołowiu w krwi może u mężczyzn powodować bezpłodność, patologię nasienia, zmniejszenie czynności jąder oraz nieprawidłowości w chromosomach. Wykazano też związek pomiędzy przewlekłą ekspozycją ojców a podwyższonym ryzykiem wad wrodzonych [Gardella, 2001]. Narażenie na ołów ojców może być przyczyną wzrostu ryzyka spontanicznych poronień [Antilla and Sallmen, 1995].

Zgodnie z klasyfikacją IARC ołów i jego związki zostały zakwalifikowane do grupy 2B, czyli czynników przypuszczalnie rakotwórczych dla ludzi (dla których istnieje ograniczony dowód działania rakotwórczego u ludzi, przy braku wystarczającego dowodu rakotwórczości u zwierząt doświadczalnych bądź istnieje niewystarczający dowód działania rakotwórczego u ludzi, ale istnieje wystarczający dowód rakotwórczości u zwierząt doświadczalnych) [IARC -Monographs, 1987].

#### **4.6 Kadm – jego występowanie i działanie biologiczne**

Kadm jest rzadkim pierwiastkiem występującym w stanie wolnym jedynie w postaci związków (głównie siarczków). Stężenia kadmu w powietrzu wynoszą 1–5 ng/m<sup>3</sup> na terenach wiejskich, 5–15 ng/m<sup>3</sup> na terenach miast i 15–50 ng/m<sup>3</sup> na obszarach przemysłowych [WHO, 1987]. Większość kadmu w powietrzu jest obecna we frakcji respirabilnej. Dzielne pobranie kadmu z powietrza można oszacować na ok. 0,15 µg,

z czego ok. 25 % może ulec wchłonięciu do krwi. W wodzie pitnej stężenia kadmu są niewielkie i wynoszą od wartości poniżej 1  $\mu\text{g/l}$  do 4  $\mu\text{g/l}$  [Świątczak i Cimander, 1995].

Metal ten jest kumulowany przez zboża, korzenie warzyw oraz tytoń, gdzie stwierdza się stężenia około 25  $\mu\text{g/kg}$  suchej masy. Kadm obecny jest też w mięsie (zwłaszcza dziczyźnie) i rybach (5-15  $\mu\text{g/kg}$  suchej masy) oraz skorupiakach (50-100  $\mu\text{g/kg}$  suchej masy). Narażenie na kadm dotyczy głównie pobrania z żywnością oraz palenia tytoniu. Dodatkowym źródłem mogącym zwiększać stężenie kadmu w diecie jest przechowywanie żywności w emaliowanych pojemnikach. Dzielne pobranie kadmu z diety wynosi średnio 10-40  $\mu\text{g}$  [Jakubowski, 1997].

Istotnym źródłem narażenia na kadm jest palenie tytoniu. Stężenia kadmu w papierosach mogą być różne i wahają się w granicach 0,9–4,4  $\mu\text{g/papieros}$ . Pobranie kadmu w wyniku wypalenia 20 papierosów dziennie może wynieść 2-4  $\mu\text{g}$ , z czego do ustroju wchłania się 1-2  $\mu\text{g}$  [Bronisz i wsp., 1983; Korpela et al., 1986; Urbanek-Karłowska i wsp., 1995].

Drogami wchłaniania kadmu są układ oddechowy oraz przewód pokarmowy. Wchłanianie przez skórę jest minimalne. Wchłanianie przez płuca zależy od rozmiaru ziaren aerozolu oraz rozpuszczalności związków Cd w wodzie i wynosi 1-10 % [Bernard and Lauwerys, 1986]. Wchłanianie kadmu z przewodu pokarmowego jest mniejsze i wynosi 3-7 %, ale może się zwiększyć nawet do 20 % przy niskiej zawartości w diecie wapnia, żelaza lub białek.

Po wchłonięciu do krwi kadm wiązany jest z albuminami osocza, wychwytywany przez wątrobę, a następnie wiązany z metalotioneiną. W krwi kadm występuje głównie w erytrocytach w formie związanej z metalotioneiną [Heilmaier et al., 1987; Jakubowski, 1997].

Kadm indukuje syntezę metalotioneiny i odkłada się w ustroju przede wszystkim w postaci kompleksu Cd-metalotioneina. W organizmie kadm kumulowany jest w największym procencie w nerkach (ok. 33 % całkowitego depozytu tego metalu w ustroju), stanowiących narząd krytyczny w przypadku narażenia przewlekłego, wątrobie (ok. 14 % depozytu), poza tym w mięśniach, trzustce i płucach. Stężenia kadmu w ustroju zależą od narażenia środowiskowego, podaży tego metalu z dietą i wodą oraz narażenia na dym tytoniowy [Heilmaier et al., 1987; Jakubowski, 1997; Milnerowicz, 1997].

Wydalanie kadmu z organizmu jest procesem powolnym przebiegającym kilkietapowo. Biologiczny okres półtrwania wynosi dla pierwszej fazy eliminacji kadmu 75-130 dni, dla drugiej fazy od kilkunastu do ponad 30 lat [Lauwerys et al., 1984; Jarup et al., 1983; Friberg et al., 1986; Kjellstom and Nordberg, 1986]. Kadm jest wydalany głównie z moczem i w mniejszym stopniu z kałem. Jego wydalanie z moczem wynosi 30-50 mg/g dziennie.

Kadm jest pierwiastkiem toksycznym wywołującym objawy zatrucia ostrego zależne od drogi narażenia. Przy ekspozycji inhalacyjnej wywołuje zapalenie płuc, przy narażeniu doustnym wywołuje zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego [Jakubowski, 1997; Jakubowski, 2004].

Przy narażeniu przewlekłym na kadm może dojść do zaburzeń funkcji nerek, układu oddechowego i układu kostnego. U osób narażonych zawodowo na ten pierwiastek dochodzi do demineralizacji kości (choroba Itai-Itai) wynikającej z zaburzenia gospodarki wapniem i fosforem [WHO, 1996].

Kadm znajduje się na liście czynników o udokumentowanym działaniu rakotwórczym u ludzi w grupie 1 [Dziennik Ustaw, 1996].

Działanie toksyczne kadmu wynika z zaburzenia gospodarki innymi metalami oraz działania antagonistycznego w stosunku do biopierwiastków (cynk, miedź, żelazo, wapń). Metal ten tworzy wiązania jonowe i kowalencyjne z atomami siarki, wodoru i tlenu występującymi w grupach sulfhydrylowych, disiarczkowych, aminowych, imidazolowych, fosforanowych i karboksylowych enzymów i białek [Friberg, 1986; Kuhnert et al., 1987a; Kuhnert et al., 1987b]. Kadm powoduje spadek aktywności enzymów np. cynkozależnej fosfatazy alkalicznej i anhidrazy węglanowej.

Ze względu na bardzo długi okres półtrwania metal ten jest kumulowany w organizmie i jego stężenie w ustroju narasta z wiekiem.

Badania przeprowadzone w Polsce wykazały, że średnie stężenia kadmu w krwi osób nienarażonych zawodowo, niepalących tytoniu wynosiły 0,5-0,6 µg/l, a w grupie palących 1,1-2,8 µg/l. W moczu stężenia kadmu u palących i niepalących wynosiły odpowiednio 0,53-0,61 µg/l oraz 1,15-1,62 µg/l [Jakubowski, 1995]. Przy narażeniu zawodowym stężenia kadmu w krwi mogą osiągać wartości 100 µg/l.

Stężenie kadmu w krwi jest markerem aktualnego narażenia na ten metal. Nie zaleca się natomiast wykonywania oznaczenia Cd we włosach, ze względu na brak korelacji pomiędzy wartościami stężeń kadmu we włosach i w ustroju. Dodatkowo



zanieczyszczenia zewnętrzne włosów mogą stanowić istotny czynnik utrudniający interpretację [WHO, 1996].

Obowiązujące wartości dopuszczalnych stężeń biologicznych dla kadmu w krwi wynoszą 10 µg/l, a w moczu 10 µg/g kreatyniny.

Depozyt kadmu u kobiet jest większy niż u mężczyzn. U kobiet stężenia żelaza w krwi są niższe niż u mężczyzn, większa jest również absorpcja metali z przewodu pokarmowego (w tym absorpcja kadmu). Tłumaczyłoby to fakt większego ryzyka występowania u kobiet osteoporozy i ostomalacji – chorób indukowanych przez kadm [Akesson et al., 2002].

Kobiety ciężarne stanowią grupę osób szczególnie wrażliwą na skutki narażenia na kadm. U kobiet ciężarnych zwiększona jest absorpcja biopierwiastków (żelazo, cynk, miedź, wapń) z dietą i równocześnie zwiększa się absorpcja innych metali, w tym kadmu [Martin-Lagos et al., 1998; Akesson et al., 2002].

Kadm indukuje syntezę metalotioneiny łożyskowej i kumulowany jest w łożysku w postaci kompleksu Cd-metalotiona [Lauwerys et al., 1978; Roels et al., 1978; Korpela et al., 1986; Baranowska, 1995; Milnerowicz, 1997]. Stwierdzono również obecność kadmu w błonach płodowych i wodach płodowych [Korpela et al., 1986]. Z badań wynika, że stężenia kadmu w łożysku kobiet zamieszkujących tereny silnie przemysłowe (Górny Śląsk) były wyższe niż u kobiet nieeksponowanych środowiskowo na ten metal [Baranowska i wsp., 1992].

Na stężenia kadmu oraz metalotioneiny w krwi kobiet, łożysku i błonach płodowych istotny wpływ ma narażenie na dym tytoniowy. U kobiet palących stwierdzono większe stężenia metalotioneiny i kadmu w łożysku i błonach płodowych [Milnerowicz, 1997] oraz większe stężenia kadmu w krwi [Roels et al., 1978; Kuhnert et al., 1987a; Kuhnert et al., 1988]. O wpływie palenia na zwiększone pobranie kadmu świadczą wyniki badań, gdzie wykazano korelację pomiędzy stężeniem karboksyhemoglobiny (biomarker narażenia na dym tytoniowy) a stężeniem kadmu w krwi matek, co potwierdzałoby to samo źródło narażenia. Nie stwierdzono natomiast korelacji pomiędzy stężeniem HbCO i kadmem w krwi noworodków [Lauwerys et al., 1978]. Stężenia kadmu w krwi matki są wyższe niż w krwi pępowinowej [Truska et al., 1989; Hariharan and Van Noord, 1991].

Oznaczone stężenia kadmu we włosach noworodków były niższe w porównaniu ze stężeniami tego metalu we włosach matek [Frery et al., 1993].

Wpływ kadmu u kobiet ciężarnych jest bardziej złożony. Metalotioneina łożyskowa indukowana przez kadm wiąże też inne metale, w tym cynk i wapń. Zaburzeniu ulega transport biopierwiastków do krwi płodu. Stwierdzono, że wiązanie cynku przez metalotioneinę łożyskową indukowaną przez kadm powoduje zmniejszony transfer tego biopierwiastka przez łożysko do płodu [Kuhnert et al., 1987b; Kuhnert et al., 1988]. Cynk jest jednak niezbędny dla prawidłowego rozwoju i wzrostu płodu. U matek palących stężenia cynku w krwi pępowinowej są niższe niż u matek niepalących [Milnerowicz, 1997].

Niektórzy autorzy za miarę stopnia kumulacji kadmu w organizmie proponują przyjęcie wartości stosunku stężenia cynku do stężenia kadmu ( $C_{Zn}/C_{Cd}$ ) w krwi lub tkankach [Milnerowicz, 1997; Kuhnert, 1987a; Kuhnert, 1987b; Kuhnert, 1988]. Z wiekiem ilość kadmu w organizmie rośnie, natomiast cynku maleje, więc wartość  $C_{Zn}/C_{Cd}$  wyraźnie zależy od wieku i stwierdzono spadek tej wielkości u kobiet starszych. Na uwagę zasługuje fakt, że wartość  $C_{Zn}/C_{Cd}$  w łożysku była dwukrotnie mniejsza u kobiet palących tytoń w porównaniu do grupy kobiet niepalących. Wartości te również korelowały z masą urodzeniową i rozwojem noworodka. Kadm dzięki powinowactwu do tkanki łożyska jest kumulowany przez ten narząd i przenika do płodu w mniejszym stopniu, niż np. ołów. Z drugiej strony wiązanie kadmu przez tkankę łożyska powoduje szybszą degradację i upośledzenie wydolności funkcjonalnej tego narządu, co w efekcie może mieć niekorzystny wpływ na rozwój płodu. Kadm kumulowany w łożysku przy zwiększonym narażeniu na ten metal może być przyczyną patologii łożyska i zwapnienia tego narządu [Frery et al., 1993]. W niskich stężeniach kadm może doprowadzić do zaburzeń hemodynamicznych w łożysku. Zmniejsza się przepływ krwi przez łożysko, obniża się sprawność metaboliczna, maleje depozyt biopierwiastków (cynk, miedź, żelazo, magnez), zmniejsza się biodostępność tych metali i zaburzeniu ulega ich homeostaza. Kadm ma hamujący wpływ na enzymy mitochondrialne biorące udział w wytwarzaniu i rozmieszczaniu energii w komórkach (SD, ATP-azy). Z powodu zaburzenia homeostazy biopierwiastków zmniejsza się aktywność enzymów od nich zależnych. Kadm też sam ma działanie hamujące aktywność enzymów. Powoduje to zakłócenia w bioenergetyce komórek, w procesach aktywnego transportu substancji przez struktury membranowe łożyska [Milnerowicz, 1997].

Kadm powoduje opóźnienia procesów różnicowania morfologicznych i enzymatycznych struktur nefronów u płodu. Niedobór cynku prowadzi do zaburzenia procesu prawidłowego różnicowania i wzrostu komórek (efektem tego mogą być

niedorozwój i zmiany narządowe płodu). Efekty te można w dużej mierze eliminować przez suplementację cynku w okresie ciąży [Kuhnert et al., 1987a; Kuhnert et al., 1987b; Kuhnert et al., 1988; Pizent et al., 2003].

#### **4.7 Biomarkery narażenia na dym tytoniowy**

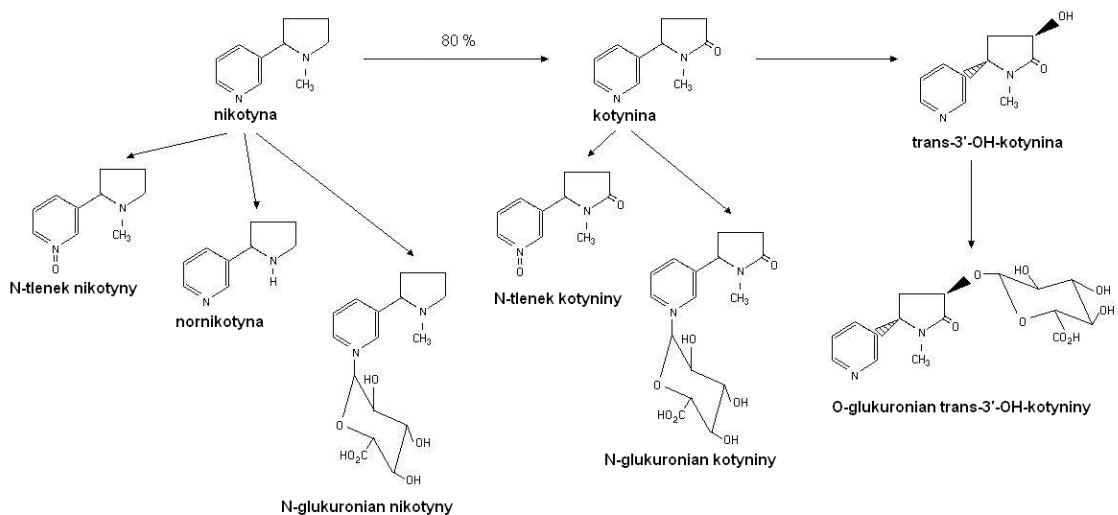
Termin „biomarker” jest używany w szerokim zakresie, obejmującym prawie całość pomiarów odzwierciedlających interakcję między systemem biologicznym i czynnikami środowiskowymi, które mogą mieć charakter chemiczny, fizyczny lub biologiczny. Można wyróżnić trzy klasy biomarkerów [Indulski, 1995; Piekoszewski i Florek, 2001]:

- biomarkery ekspozycji są to obecne w organizmie mierzalne, egzogenne substancje, ich metabolity lub produkty interakcji między czynnikiem chemicznym i docelowymi makromolekułami lub komórkami świadczące o narażeniu danej osoby na badane ksenobiotyki,
- biomarkery skutków to mierzalne biochemiczne, fizjologiczne, behawioralne i inne zmiany zachodzące wewnątrz organizmu, które w zależności od wielkości mogą być rozpoznane jako łączące się z już obecnymi lub mogącymi się pojawić zaburzeniami zdrowotnymi i chorobami,
- biomarkery wrażliwości są wskaźnikami wrodzonej lub nabytej zdolności organizmu do odpowiedzi wywołanej ekspozycją na specyficzny ksenobiotyk.

##### **4.7.1 Nikotyna**

Nikotyna jest alkaloidem pirydynowym stanowiącym 85-90 % ogólnej masy alkaloidów zawartych w liściach tytoniu. Wchłanianie nikotyny zależy od pH dymu i zwiększa się przy odczynie alkalicznym ( $\text{pH} > 7$ ). Główną drogą wchłaniania nikotyny jest układ oddechowy i w niewielkim stopniu przewód pokarmowy. W 80-90 % ulega ona efektowi pierwszego przejścia. Nikotyna dobrze też wchłania się przez skórę i błony śluzowe jamy ustnej. Z pęcherzyków płucnych nikotyna przenika do krwi i jest rozprowadzana do wszystkich narządów. Najwyższe stężenie nikotyny w krwi ( $t_{\text{max}}$ ) po wchłonięciu drogą inhalacyjną osiąga się po około 2 minutach (przy wchłanianiu przez błony śluzowe jamy ustnej  $t_{\text{max}} = \text{ok. } 30 \text{ min}$ ). Metabolizm nikotyny zachodzi głównie w wątrobie, w mniejszych ilościach w płucach i nerkach. W 80 % ulega

przemianie do kotyniny, pozostałe metabolity nikotyny to 1'-N-tlenek nikotyny, trans-3'-hydroksykotynina, glukuronian nikotyny, glukuronian kotyniny, glukuronian trans-3'-hydroksykotyniny (Ryc. 1). Jej biologiczny okres półtrwania ( $t_{1/2}$ ) jest krótki i wynosi około 2,5 h, klirens (Cl) = ok. 1,1 l/min. Duża objętość dystrybucji ( $V_d = 190$  l lub 2,5 l/kg) świadczy o tym, że nikotyna jest gromadzona w tkankach [Benovitz and Jacob, 1994]. Źródłem nikotyny jest jedynie palenie tytoniu oraz zażywanie preparatów zawierających nikotynę (m.in. gumy do żucia, plastry, inhalatory). Ilość nikotyny eliminowana z moczem zależy od pH moczu i wynosi ok. 20 % przy pH=5,5 i maleje do ok. 2 % przy pH=8. Nikotyna częściowo wydalą się do śliny i do mleka kobiet karmiących. Ze względu na krótki biologiczny okres półtrwania nikotyna nie znalazła większego zastosowania jako biomarker narażenia na dym tytoniowy. Nikotyna wykrywana jest w moczu do kilku godzin od zaprzestania palenia tytoniu, a jej stężenia wynoszą od kilku do kilkunastu ng/ml [Ghosheh et al., 2000]. Po 8 godzinach abstynencji nikotynowej osób palących nie stwierdza się obecności nikotyny w krwi i moczu [Pacifici et al., 1993; Zuccaro et al., 1993].



Rycina 1. Schemat metabolizmu nikotyny.

Źródło: Zuccaro et al., 1993; Ghosheh et al., 2000; Piekoszewski i Florek, 2001.

#### 4.7.2 Kotynina

Kotynina – główny metabolit nikotyny, ulega przemianie w ustroju do trans-3'-kotyniny, N-tlenku kotyniny i glukuronianu kotyniny. Kotynina i inne metabolity nikotyny praktycznie nie ulegają sprzężeniu z kwasem siarkowym. Eliminacja kotyniny z organizmu przebiega dużo wolniej niż nikotyny. Biologiczny okres półtrwania kotyniny wynosi około 17 godzin, klirens 0,04 l/min, a objętość dystrybucji 55 l (0,9 l/kg) [Benovitz and Jacob, 1994]. Kotynina stanowi około 15 % wszystkich metabolitów nikotyny wydalanych z ustroju. Główną drogą wydalania kotyniny i produktów jej przemiany jest mocza.

W literaturze kotynina opisywana jest jako jeden z najczęściej stosowanych i najbardziej przydatnych biomarkerów narażenia na dym tytoniowy [Jarvis et al., 1987; Parviainen and Barlow, 1988; Hariharan and VanNoord, 1991; Pacifici et al., 1993; Ubbink et al., 1993; Zuccaro et al., 1993, Benovitz, 1996; Benovitz, 1999; Ghosheh et al., 2000; Piekoszewski i Florek, 2001; Sobczak i wsp., 2004]. Oznaczenie stężenia kotyniny w moczu odzwierciedla narażenie na dym tytoniowy w okresie 2 do 3 dni od zaprzestania palenia. Badania wykazały przydatność oznaczenia kotyniny w moczu przy rozróżnieniu osób palących i biernie narażonych oraz osób biernie narażonych od nienarażonych [Piekoszewski i Florek, 2001].

Oznaczenie kotyniny nie pozwala jednak na rozróżnienie osób palących mało (< 10 papierosów/dzień) i dużo (10–20 papierosów/dzień). Brak korelacji pomiędzy ilością wypalanych papierosów i stężeniem kotyniny w moczu wynika najprawdopodobniej z polimorfizmu genetycznego enzymów CYP 2A6 i CYP 2E1 biorących udział w procesach metabolizmu nikotyny [Ubbink et al., 1993; Yang et al., 2001]. Badania przeprowadzone w Japonii dowiodły, że istnieje związek pomiędzy stężeniem kotyniny w ustroju palaczy papierosów, a aktywnością enzymów CYP 2A6 i CYP 2E1 [Yang et al., 2001].

Stężenia kotyniny w moczu aktywnych palaczy tytoniu wynoszą powyżej 100 ng/ml, a według niektórych pozycji literaturowych powyżej 400 ng/ml i mogą osiągać wartości >3000 ng/ml [Parviainen and Barlow, 1988; Ubbink et al., 1993; Ghosheh et al., 2000; Pach i Piekoszewski, 2000; Piekoszewski i wsp., 2002; Sobczak i wsp., 2004]. Stężenia kotyniny w surowicy krwi u osób palących tytoń są niższe i osiągają wartości od kilku do około 100 ng/ml [Pacifici et al., 1993; Zuccaro et al., 1993; Ghosheh et al.,

2000]. Stężenia kotyniny w ślinie zbliżone są do stężeń kotyniny w surowicy [Irvine et al., 1997; Bernert et al., 2000; Campuzano et al., 2004].

U osób niepalących, narażonych na ETS stwierdza się stężenia kotyniny w moczu do 50 ng/ml, a według niektórych autorów do 100 ng/ml, a nawet 400 ng/ml [Jarvis et al., 1987; Hariharan and VanNoord, 1991; Ubbink et al., 1993; Piekoszewski i wsp., 2002; Sobczak i wsp., 2004].

Najczęściej stosowanymi metodami oznaczania kotyniny są metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC/MS), chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC/MS), chromatografii gazowej sprzężonej z szeregowym układem spektrometrów masowych (GC/MS/MS) oraz metody immunologiczne: enzymatyczna (ELISA), radioimmunologiczna (RIA) i immunologiczne testy paskowe [Barlow et al., 1987; Parviainen and Barlow, 1988; Parviainen and Puhakainen, 1990; Hariharan and VanNoord, 1991; Rop, 1993; Pacifici et al., 1993; Ubbink et al., 1993; Zuccaro et al., 1993; Zuccaro et al., 1995; Istvan et al., 1999; Ghosheh et al., 2000; Pach i Piekoszewski, 2000; Yang et al., 2001; Dempsey et al., 2002; Florek i wsp., 2003; Kuehl and Murphy, 2003; Acosta et al., 2004; Campuzano et al., 2004; Hanke et al., 2004; Wood et al., 2004; Jacob et al., 2005; Swan et al., 2005].

### **4.7.3 Inne markery narażenia na dym tytoniowy**

#### **4.7.3.1 Tlenek węgla i karboksyhemoglobina**

Tlenek węgla jest produktem niecałkowitego spalania związków organicznych. Ilość tlenu węgla generowanego podczas palenia tytoniu zależy od temperatury stożka papierosa oraz dostępu tlenu. Strumień boczny dymu tytoniowego zawiera 2,5-4,7 razy więcej tlenu węgla niż strumień główny (Tab. I).

Tlenek węgla przenika bezpośrednio do krwiobiegu przez błonę pęcherzykowo-włośniczkową w płucach. W ok. 85 % łączy się z hemoglobina tworząc karboksyhemoglobinę niezdolną do przenoszenia tlenu. Około 15 % wiąże się z hemoproteinami zawierającymi żelazo lub miedź (m.in. mioglobina, oksydazę cytochromu P 450 i cytochromu c, cyklazę guanylową, syntetazę tlenu azotu) wypierając tlen. [Bartlett, 1998; Gandini et al., 2001; Granga and Pannier, 2005].

Tlenek węgla praktycznie nie ulega biotransformacji w ustroju. Mniej niż 1 % utlenia się endogennie do ditlenku węgla, około 99 % jest wydalane w formie niezmienionej przez płuca [Seńczuk, 2005].

U osób niepalących stwierdza się 0–5 ppm tlenku węgla w powietrzu wydechowym. Wyższe stężenia (>11 ppm) mogą wskazywać na palenie wyrobów tytoniowych lub narażenie na inne źródła tlenku węgla (piec kuchenny gazowy lub węglowy, kominek domowy, spaliny samochodu, emitory przemysłowe, pożar). Oznaczenie tlenku węgla w powietrzu wydechowym nie pozwala na potwierdzenie narażenia na środowiskowy dym tytoniowy [De Bruin et al., 2004; Deveci et al., 2004; Pearce and Hayes, 2005].

Oznaczenie tlenku węgla w powietrzu wydechowym znalazło zastosowanie głównie przy ambulatoryjnym sprawdzaniu abstynencji pacjentów leczonych z powodu uzależnienia od tytoniu [Jarvis et al., 1983; Benovitz, 1996].

Biomarkerem narażenia na tlenek węgla jest karboksyhemoglobina. Okres półtrwania karboksyhemoglobiny wynosi 4-5 godzin. Niskie stężenia COHb (do 1 %) uważane są za stężenia fizjologiczne, zwłaszcza u ludzi zamieszkujących aglomeracje miejskie i tereny uprzemysłowione. U palaczy stwierdza się od kilku do około 10 % karboksyhemoglobiny w krwi.

Podobnie jak tlenek węgla, karboksyhemoglobina nie jest biomarkerem specyficznym. Jej oznaczenie nie pozwala na rozróżnienie osób nienarażonych i narażonych na ETS. Podwyższone stężenie karboksyhemoglobiny może wynikać z narażenia na inne źródła tlenku węgla.

#### **4.7.3.2 Tiocyjaniany**

Cyjanek zawarty w dymie tytoniowym wchłonięty do organizmu ulega metabolizmowi przy udziale enzymu siarkotransferazy tiosiarczanowej (rodanazy) obecnego w mitochondriach wątroby do tiocyjanianów wydalanych głównie z moczem i śliną [Degiampietro et al., 1987; Robertson et al., 1987; Piekoszewski i Florek, 2001].

Przydatność oznaczeń tiocyjanianów jako biomarkera narażenia na dym tytoniowy wykazano przy rozróżnieniu osób niepalących i palących tytoń. Ze względu na długi biologiczny okres półtrwania (kilka tygodni) może być przydatnym biomarkerem ekspozycji na dym tytoniowy przy badaniu skuteczności leczenia uzależnienia od tytoniu. Oznaczenie tiocyjanianów nie pozwala jednak na rozróżnienie osób palących i narażonych na ETS, pozwala jedynie na rozróżnienie osób dużo palących od

niepalących wyrobów tytoniowych [Degiampietro et al., 1987; Robertson et al., 1987; Piekoszewski i Florek, 2001]. Nie jest to również całkowicie specyficzny biomarker narażenia na dym tytoniowy. Podwyższony poziom tiocyjanianów może być spowodowany spożywaniem różnych produktów, na przykład orzechów, migdałów, niektórych warzyw (kalafior, kalarepa, pomidory, ziemniaki) [Haley et al., 1983]. Stężenia tiocyjanianów u osób palących tytoń i niepalących oznaczane w surowicy wynoszą odpowiednio 3-12 mg/l i 1-4 mg/l, a w moczu 7-17 mg/l i 1-4 mg/l [Piekoszewski i Florek, 2001]. W ślinie stężenia tiocyjanianów mogą być nawet 20-krotnie wyższe niż w surowicy [Jarvis and Russel, 1984; Piekoszewski i Florek, 2001].

#### **4.7.3.3 1-Hydroksypiren (1-Pyrenol)**

1-Hydroksypiren jest głównym metabolitem pirenu i w literaturze jest najczęściej proponowanym biomarkerem narażenia na wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne [Jongeneelen, 1994]. Niektórzy autorzy proponują oznaczanie 1-hydroksypirenu oraz glukuronianu 1-hydroksypirenu w moczu. U osób palących stężenie glukuronianu 1-hydroksypirenu w moczu jest około dwukrotnie większe niż 1-hydroksypirenu niezwiązanego. Na stężenie 1- hydroksypirenu w moczu ma wpływ palenie tytoniu oraz narażenie na ETS. Opisano też wyraźny wpływ czynników zewnętrznych narażenia na węglowodory w środowisku, narażenia zawodowego oraz diety (spożywanie potraw grillowanych na węglu, wędzonych i pieczonych) na stężenia 1- hydroksypirenu w moczu [Jongeneelen, 1994; Piekoszewski i Florek, 2001]. Oznaczenie to nie pozwala na rozróżnienie grupy osób palących i narażonych na ETS, a konieczność uwzględnienia narażenia środowiskowego w rejonach uprzemysłowionych, dużych aglomeracjach miejskich oraz innych źródeł WWA ogranicza zastosowanie tego biomarkera do oceny ekspozycji na dym tytoniowy.

#### **4.7.3.4 N-Nitrozoaminy**

W trakcie palenia tytoniu powstaje związek nitrozoaminowy specyficzny dla dymu tytoniowego: 4-(metylonitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanon (NNK), który ulega dalszym przemianom do 4-(metylonitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanolu (NNAL). Związki te w organizmie ulegają sprzęganiu z kwasem glukuronowym i w tej formie wydalane są do moczu [Piekoszewski i Florek, 2001].



Oznaczenie N-nitrozoamin w moczu pozwala rozróżnić osoby palące tytoń i narażone na środowiskowy dym tytoniowy. Wydalanie N-nitrozoamin z moczem wynosi około 30 ng/dobę dla osób narażonych na dym tytoniowy oraz około 8 ng/dobę w grupie kontrolnej [Piekoszewski i Florek, 2001].

Przy ograniczeniu ilości wypalanych papierosów istotnie statystycznie spada stężenie NNAL i glukuronianu NAL w moczu [Hecht, 2002].

#### **4.7.3.5 Addukty z białkami i DNA**

Addukty związków zawartych w dymie tytoniowym z białkami i DNA są równocześnie biomarkerami ekspozycji i biomarkerami skutku. Do najczęściej oznaczanych adduktów należą połączenia 4-aminobifenylu z hemoglobiną (4-ABP-Hb), benzo(a)pirenu z DNA leukocytów oraz WWA z albuminami krwi [Pavanello et al., 1999; Pavanello and Clonfero, 2000; Pavanello et al., 2002; Acladiou et al., 2004; Chen et al., 2004; Gan et al., 2004; Georgiadis et al., 2004; Gyorffy et al., 2004; Husgafvel-Pursiainen, 2004; Levis et al., 2004; Lodovici et al., 2004; Munnia et al., 2004; Phillips et al., 2004; Thapliyal et al., 2004; Van Schooten et al., 2004].

Oznaczenie adduktu 4-ABP-Hb pozwala na ocenę narażenia na dym tytoniowy przez okres około 4 miesięcy. Niektórzy autorzy wykazali małą przydatność oznaczenia 4-ABP-Hb dla rozróżnienia osób palących i narażonych biernie na środowiskowy dym tytoniowy oraz rozróżnienia osób narażonych na ETS i niepalących nienarażonych na dym tytoniowy ze względu na pokrywające się zakresy stężeń w badanych grupach [Piekoszewski i Florek, 2001]. Poziom 4-ABP-Hb u osób narażonych na ETS stanowi 10-20% poziomu tego adduktu oznaczanego u aktywnych palaczy.

Kolejnymi stosowanymi do oceny narażenia na dym tytoniowy adduktami są połączenia WWA z albuminami krwi oraz WWA z DNA leukocytów [Piekoszewski i Florek, 2001]. Addukty WWA z albuminami odzwierciedlają narażenie na dym tytoniowy przez okres około 3 tygodni, natomiast addukty WWA z DNA leukocytów nawet do kilkunastu miesięcy. Mierzalny poziom adduktów WWA z DNA leukocytów może się utrzymywać do 14 miesięcy po zaprzestaniu palenia papierosów. Jednak addukty nie są specyficznymi biomarkerami narażenia na dym tytoniowy. Obecność WWA stwierdza się również przy narażeniu środowiskowym oraz narażeniu w miejscu pracy.

## **5 Cel pracy**

Celem badań było określenie, czy palenie tytoniu i narażenie na środowiskowy dym tytoniowy kobiet ciężarnych wpływa na stężenie ołowiu i kadmu w ich moczu. Podjęto też próbę oceny związku pomiędzy paleniem tytoniu i narażeniem na ETS badanych kobiet, a ich warunkami socjoekonomicznymi. W dalszej części pracy zbadano korelacje pomiędzy aktywnym i biernym narażeniem kobiet ciężarnych na dym tytoniowy oraz stężeniem ołowiu i kadmu w moczu, a przebiegiem ciąży i porodu oraz stanem zdrowotnym noworodków.

## **6 Materiał i metody**

Badania objęte przez pracę doktorską wykonane zostały w ramach współpracy pomiędzy Zakładem Toksykologii Analitycznej i Terapii Monitorowanej Katedry Toksykologii Klinicznej i Środowiskowej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, Laboratorium Badań Środowiskowych Katedry i Zakładu Toksykologii Akademii Medycznej w Poznaniu oraz Katedrą Perinatologii i Ginekologii Akademii Medycznej w Poznaniu. Na badania uzyskano zgodę (883/02) Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

### **6.1 Opis grupy**

Badaniami objęto 231 kobiet rodzących w Ginekologiczno – Położniczym Szpitalu Klinicznym Akademii Medycznej w Poznaniu. Do badań wybrane zostały kobiety z pojedynczą ciążą, zakończoną po 22 tygodniu, które wyraziły zgodę na udział w badaniu. Kobiety zostały poinformowane o celu i zasadności badania oraz zapewnione o anonimowości wypowiedzi.

### **6.2 Ankieta**

Pierwszy etap badań obejmował opracowanie autorskiego kwestionariusza ankiety, w którym w pierwszej części umieszczono pytania dotyczące m.in. statusu społeczno-ekonomicznego kobiet, palenia tytoniu przed zajściem w ciążę i w czasie jej trwania, liczby wypalanych dziennie papierosów, narażenia na środowiskowy dym tytoniowy. Druga część kwestionariusza dotyczyła informacji o stanie zdrowia noworodka (płeć, masa urodzeniowa, punktacja w skali Apgar w 1 minucie po porodzie, czas trwania ciąży). Pierwsza część kwestionariusza ankiety wypełniana była przez kobiety, drugą część wypełniał lekarz.

## **KWESTIONARIUSZ ANKIETY**

Proszę zaznaczyć właściwą odpowiedź

**Proszę podać ile ma Pani lat:**

- A poniżej 25 lat
- B 25-29 lat
- C 30-35 lat
- D powyżej 35 lat

**Jakie jest Pani wykształcenie?**

- A podstawowe
- B zawodowe
- C średnie
- D wyższe

**Czy pracowała Pani w czasie ciąży?**

- A tak
- B nie

**Miejsce zamieszkania:**

- A Poznań
- B inne miasto
- C wieś

**Średni dochód na jednego członka Pani rodziny:**

- A poniżej 500 zł
- B 500 - 1000 zł
- C powyżej 1000 zł

**Czy w ciągu ostatniego kwartału przed zajściem w ciążę paliła Pani papierosy?**

- A tak
- B nie

**Jeżeli paliła Pani papierosy przed zajściem w ciążę, proszę podać, jaką liczbę dziennie:**

- A okazjonalnie
- B 1 - 5 papierosów
- C 6 - 10 papierosów
- D 11 - 15 papierosów
- E powyżej 16 papierosów

**Czy w czasie ciąży paliła Pani papierosy?**

- A tak
- B nie

**Jeżeli paliła Pani papierosy w czasie ciąży, proszę podać, jaką liczbę dziennie:**

- A okazjonalnie
- B 1 - 5 papierosów
- C 6 - 10 papierosów
- D 11 - 15 papierosów
- E powyżej 16 papierosów

**Jeżeli paliła Pani papierosy w czasie ciąży, to proszę podać do którego miesiąca:**

.....

**Czy przestała Pani palić papierosy w czasie ciąży?**

- A tak
- B nie

**Czy Pani partner (współmieszkaniec) pali tytoń?**

- A tak
- B nie

**Proszę podać, jaką liczbę dziennie:**

- A okazjonalnie
- B 1 - 5 papierosów
- C 6 - 10 papierosów
- D 11 - 15 papierosów
- E powyżej 16 papierosów

**Czy była Pani świadoma niebezpieczeństw wynikających ze szkodliwego wpływu dymu tytoniowego na rozwój płodu?**

- A tak
- B nie

**Czy w czasie wizyt u lekarza/położnej poinformowano Panią o szkodliwości palenia tytoniu?**

- A tak
- B nie

**Czy w czasie ciąży była Pani narażona na metale ciężkie (ołów, kadm) w miejscu pracy?**

- A tak     ile godzin dziennie?.....
- B nie

**DZIĘKUJĘ ZA WYPEŁNIENIE KWESTIONARIUSZA**

**TO POLE WYPEŁNIA LEKARZ**

Nr: \_\_\_\_\_

Data porodu: \_\_\_\_\_ Masa ciała: \_\_\_\_\_

Płeć: \_\_\_\_\_ Apgar: \_\_\_\_\_

Długość ciała: \_\_\_\_\_ pH: \_\_\_\_\_

Przebieg ciąży:

Normalny

Patologiczny

Rodzaj porodu:

Siłami natury

Wspomagany

Cesarskie cięcie

Tydzień ciąży: \_\_\_\_\_ Hospitalizacja: \_\_\_\_\_

Komentarz:.....

.....

.....

Data i podpis: \_\_\_\_\_

Kolejny etap badań obejmował weryfikację wyników ankiety dotyczących narażenia na dym tytoniowy. W tym celu w moczu badanych kobiet przeprowadzono oznaczenia biomarkera narażenia na dym tytoniowy – kotyniny. W dalszej kolejności w pobranym materiale wykonano oznaczenia ołowiu, kadmu i kreatyniny.

### 6.3 Materiał biologiczny

Oznaczenia kotyniny, ołowiu i kadmu przeprowadzono w moczu kobiet. W celu standaryzacji uzyskanych wyników wykonano oznaczenia kreatyniny w moczu i podano wyniki w jednostkach stężenia wyrażonych na mg kreatyniny. Próbkę moczu pobierane były od kobiet przed porodem po zgłoszeniu się do szpitala do jednorazowych pojemników polietylenowych. Mocz do oznaczeń ołowiu i kadmu zakwaszono do  $\text{pH} < 2$  stężonym  $\text{HNO}_3$  (50  $\mu\text{l}$  kwasu na 10 ml moczu). Próby moczu przechowywano w temperaturze  $-20^\circ\text{C}$  do czasu przeprowadzenia analizy. Okres przechowywania prób nie przekraczał 3 miesięcy.

### 6.4 Metodyka oznaczania kotyniny w moczu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej

#### *Aparatura*

Kotyninę oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem spektrofotometrycznym UV. Do oznaczeń wykorzystano chromatograf cieczowy Crystal 200 firmy ATI Unicam z detekcją spektrofotometryczną (przy długości fali 254 nm) na kolumnie Supelcolil LC-8 firmy Supelco oraz oprogramowanie do opracowania danych chromatograficznych 4880 firmy ATI Unicam.

W czasie oznaczenia korzystano z następującej aparatury: wirówka MPW 220 (Mechanika Precyzyjna), aparat do ekstrakcji na fazach stałych SPE Lichrolut (Merck), blok grzewczy Multi – Block Heater (Lab-Line), sprężarka powietrza PU 9003 (ATI Unicam), aparat do sączenia pod próżnią (Alltech), płuczka ultradźwiękowa Ultrasonic Cleaner Sonic-2, wytrząsarka Vortex TH-3S (TechnoCartel), miernik pH MAT 1202-SM.

#### *Odczynniki*

Do oznaczeń wykorzystano następujące odczynniki: metanol HPLC Grade, oktasulfonian sodu (Fluka); chloroform HPLC Grade, dichlorometan HPLC Grade, acetonitryl HPLC Grade, kwas ortofosforowy stężony, amoniak stężony, 3,4-dihydroxybenzyloamina, standard kotyniny, kolumna i prekolumna do chromatografii cieczowej Supelcolil LC-8 (Sigma); bufor boranowy pH 9 (Baker); fosforan dipotasowy (Calbiochem); kolumnienki do ekstrakcji na fazach stałych Octyl (C-8) oraz SilicaGel (Si-OH) (J.T. Baker); woda dejonizowana.

### *Ekstrakcja badanych prób*

Próby moczu ekstrahowano na kolumnkach Octyl (C-8) oraz SilicaGel (Si-OH). Mocz w ilości 5 ml, do którego dodawano 0,5 ml buforu boranowego наносono na wykondycjonowane (1 ml metanolu i 1 ml wody dejonizowanej) kolumnki C-8, po czym przemywano je 1 ml wody. Następnie trzema mililitrami chloroformu wymywano próbki na wykondycjonowane (1 ml chloroformu) kolumnki SiOH. Wymywanie analitu z kolumnek SiOH przeprowadzano roztworem dichlorometanu, metanolu i amoniaku w proporcji (70:29,7:0,3 v/v). Ekstrakty odparowywano w strumieniu sprężonego powietrza w temperaturze 37 °C. Pozostałość po odparowaniu rozpuszczano w mieszaninie 200 µl fazy ruchomej i 100 µl metanolowego roztworu wzorca zewnętrznego (3,4-dihydroksybenzyloamina o stężeniu 20 µg/ml).

### *Warunki pracy chromatografu*

Do rozdziału substancji zastosowano kolumnę i prekolumnę Supelcolil LC-8. Faza ruchoma zawierała 88 % wody dejonizowanej, 12 % acetonitrylu, 1,1 g/l oktasulfonianu sodu, 5,95 g/l fosforanu dipotasowego; pH fazy ruchomej ustalono na 4,6 stężonym kwasem ortofosforowym. Rozdział chromatograficzny prowadzono w warunkach izokratycznych. W czasie pracy chromatografu przepływ fazy ruchomej był stały i wynosił 1 ml/min. Objętość pętli dozownika Rheodyne wynosiła 100 µl.

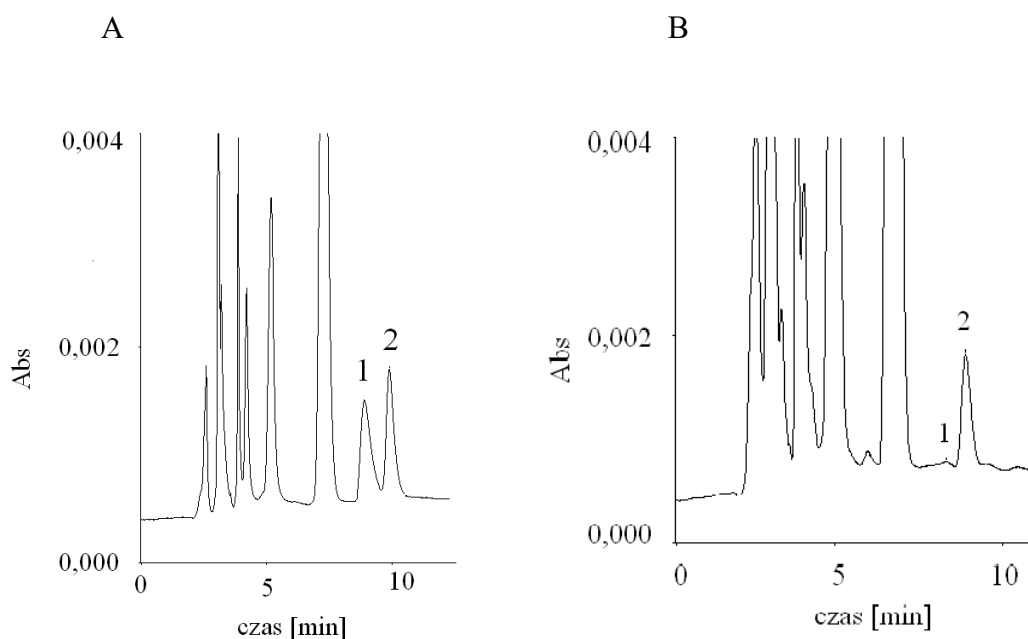
W trakcie pracy ustawione były następujące parametry detektora: długość fali 254 nm; rise time 0,3 s; range 0,05.

W wyniku przeprowadzonych analiz uzyskano następujące czasy retencji oznaczanych substancji: kotynina – 9 minut, 3,4-dihydroksybenzyloamina (wzorzec zewnętrzny) - 10 minut. Przykładowy rozdział chromatograficzny przedstawia ryc. 2.

### *Kalibracja metody*

Zastosowano metodę serii wzorców z dodatkiem wzorca zewnętrznego. Roztwory kalibracyjne kotyniny sporządzono przez dodatek do moczu wolnego od kotyniny roztworu podstawowego kotyniny 1 mg/ml do uzyskania stężeń: 10, 50, 100, 200, 500, 1000 ng/ml.





Rycina 2. Chromatogramy próby badanej moczu kobiety palącej tytoń (A) i niepalącej (B) (1 – kotynina, 2 – wzorzec zewnętrzny).

#### 6.4.1 Walidacja metody oznaczania kotyniny w moczu metodą HPLC

Przed przystąpieniem do badań przeprowadzono walidację metody badając granice wykrywalności, granice oznaczalności, liniowość, powtarzalność i dokładność.

##### *Granice wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ)*

Granice wykrywalności i oznaczalności kotyniny wyznaczono na podstawie oznaczeń różnych stężeń kotyniny w moczu. Za granicę wykrywalności kotyniny przyjęto wartość stosunku sygnału do szumu  $S/N = 3$  i wynosiła ona 5 ng/ml.

Granice oznaczalności dla kotyniny wyznaczono na poziomie 10 ng/ml – najniższego kalibratora.

##### *Liniowość metody*

Liniowość została zbadana na podstawie analizy prób moczu z dodatkiem kotyniny w zakresie stężeń 10-1000 ng/ml.

Krzywą kalibracyjną przedstawiającą zależność stosunku pola powierzchni pików chromatograficznych kotyniny ( $H_{cot}$ ) do pola powierzchni wzorca zewnętrznego ( $H_w$ ) do stężenia kotyniny ( $c_{cot}$ ) opisano równaniem liniowym:  $c_{cot} = 0,0036 \times (H_{cot} / H_w)$ .

Wartość współczynnika korelacji wynosiła 0,999.

W dalszych badaniach próby, w których stężenie kotyniny przekraczało zakres liniowości były rozcieńczane, a mierzone stężenia były mnożone przez współczynnik rozcieńczenia.

#### *Powtarzalność metody*

Powtarzalność badano dla przygotowanych prób zawierających dwa różne stężenia kotyniny prowadząc analizy w dziesięcioelementowych seriach w różnych dniach. Uzyskane wyniki zestawiono w tabeli II.

Tabela II. Powtarzalność oznaczania kotyniny w moczu metodą HPLC.

<b>Stężenie zadane [ng/ml]</b>	<b>Stężenie wyznaczone [ng/ml]</b>	<b>SD [ng/ml]</b>	<b>CV [%]</b>
100	102,8	3,4	3,33
200	199,7	10,6	5,13
500	509,8	22,8	4,47

#### *Dokładność metody*

Dokładność metody wyznaczono na podstawie oznaczeń dziesięcioelementowych serii przygotowanych prób materiału zawierającego kotyninę w dwóch różnych stężeniach. Wyniki przedstawiono w tabeli III.

Tabela III. Dokładność oznaczania kotyniny w moczu metodą HPLC.

<b>Stężenie zadane [ng/ml]</b>	<b>Stężenie wyznaczone [ng/ml]</b>	<b>SD [ng/ml]</b>	<b>CV [%]</b>	<b>Odzysk [%]</b>
200	199,7	10,6	5,31	99,85
1000	998,6	38,3	12,1	99,86

### **6.5 Metodyka oznaczania kreatyniny w moczu**

Kreatyninę w moczu oznaczano w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej WSS im. L. Rydygiera w Krakowie kinetyczną metodą spektrofotometryczną z alkalicznym pikrynianem w zakresie długości fal 520–560 nm. Korzystano z zestawu odczynników do oznaczania kreatyniny w moczu firmy Bio Merieux. Oznaczenia wykonano na

aparacie Synchron Cx Clinical System firmy Beckman Instruments Inc. z automatycznym podajnikiem próbek. Objętość próby moczu pobierana do pomiaru wynosiła 10  $\mu$ l. Zakres liniowości metody wynosił 0–25  $\mu$ mol/l. Precyzja metody między seriami wynosiła 3,0 %, natomiast precyzja całkowita 4,5 %.

## **6.6 Oznaczenie ołowiu i kadmu w moczu**

### **6.6.1 Metodyka oznaczania ołowiu w moczu metodą spektrometrii absorpcji atomowej**

#### *Aparatura*

Ołów oznaczano metodą spektrometrii absorpcji atomowej (AAS) na aparacie Solaar 939 firmy ATI Unicam, wyposażonym w deuterową korekcję absorpcji niespecyficznego i automatyczny podajnik próbek.

#### *Odczynniki*

Do oznaczeń ołowiu zastosowano następujące odczynniki: wodny roztwór podstawowy ołowiu o stężeniu 1000 mg/l (Wzormat), fosforan diamonowy GR ACS, kwas szczawiowy Suprapur, Triton X 100 pro analysis, stężony kwas azotowy (Merck), woda dejonizowana, referencyjny materiał odniesienia ołowiu w moczu Medisafe Metalle Urine (Medichem Diagnostica).

#### *Przygotowanie prób moczu*

Badane próbki moczu rozcieńczano roztworem modyfikatora matrycy w proporcji 1:5, mieszano 30 s na wytrząsarce, następnie przenoszono do naczynka autosamplera.

Modyfikator matrycy przygotowywano przez zmieszanie 0,4 g fosforanu diamonowego, 0,4 g kwasu szczawiowego, 2 ml Tritonu X 100, 2 ml stężonego kwasu azotowego i uzupełnienie wodą dejonizowaną do objętości 100 ml.

#### *Warunki pomiaru*

W czasie pomiaru stężenia ołowiu stosowano następujące warunki pracy spektrofotometru absorpcji atomowej: długość fali – 283,3 nm, szerokość szczeliny monochromatora - 0,5 nm, natężenie prądu lampy - 10 mA. Zastosowano standardową kuwetę grafitową. Nastrzykiwana objętość prób badanych wynosiła 10  $\mu$ l. Program temperaturowy pieca grafitowego zastosowany w trakcie oznaczania ołowiu przedstawia tabela IV.

Tabela IV. Program temperaturowy pieca grafitowego zastosowany w trakcie oznaczania ołowiu metodą AAS.

Faza	Temperatura [°C]	Czas [s]	Przyrost temp. [°C/s]	Pomiar
1	100	10	20	-
2	170	10	20	-
3	600	30	30	-
4	1600	3	0	+
5	2400	3	0	-

#### *Kalibracja metody*

Pośrednie roztwory robocze ołowiu o stężeniach 0, 30, 60, 90 µg/l przygotowywano odmierzając do probówek odpowiednio 0, 300, 600, 900 µl roztworu ołowiu o stężeniu 1 mg/l (uzyskanego drogą rozcieńczeń roztworu podstawowego) i uzupełniając modyfikatorem matrycy do objętości 10 ml.

Roztwory robocze ołowiu o stężeniach 0, 25, 50, 75 µg/l przygotowywano przez dodanie do 200 µl moczu nie zawierającego ołowiu po 1 ml pośrednich roztworów roboczych.

#### **6.6.2 Metodyka oznaczania kadmu w moczu metodą spektrometrii absorpcji atomowej**

##### *Aparatura*

Kadm oznaczano metodą spektrometrii absorpcji atomowej (AAS) na aparacie Solaar 939 firmy ATI Unicam, wyposażonym w deuterową korekcję absorpcji niespecyficznego i automatyczny podajnik próbek.

##### *Odczynniki*

Do oznaczeń kadmu zastosowano następujące odczynniki: wodny roztwór podstawowy kadmu o stężeniu 1000 mg/l (Wzormat), stężony kwas azotowy o czystości spektralnej, fosforan diamonowy, azotan magnezu sześciowodny Suprapur (Merck), woda dejonizowana, referencyjny materiał odniesienia kadmu w moczu Medisafe Metalle Urine (Medichem Diagnostica).

### *Przygotowanie prób moczu*

Próbkę moczu rozcieńczoną roztworem modyfikatora matrycy w proporcji 1:1, mieszano 30 s na wytrząsarce, następnie przenoszono do naczynka autosamplera. Modyfikator matrycy przygotowano przez zmieszanie 0,5 g fosforanu diamonowego, 0,03 g azotanu magnezu i uzupełnienie 5 % roztworem kwasu azotowego do objętości 100 ml.

### *Warunki pomiaru*

W czasie pomiaru kadmu stosowano następujące warunki pracy spektrofotometru absorpcji atomowej: długość fali – 228,8 nm, szerokość szczeliny monochromatora - 0,5 nm, natężenie prądu lampy - 4 mA. Zastosowano standardową kuwetę grafitową. Nastrzykiwana objętość prób badanych wynosiła 10 µl. Program temperaturowy pieca grafitowego zastosowany w trakcie oznaczania kadmu przedstawia tabela V.

Tabela V. Program temperaturowy pieca grafitowego zastosowany przy oznaczaniu kadmu metodą AAS.

<b>Faza</b>	<b>Temperatura [°C]</b>	<b>Czas [s]</b>	<b>Przyrost temp. [°C/s]</b>	<b>Pomiar</b>
1	110	20	10	-
2	130	45	5	-
3	400	40	5	-
4	450	10	1	-
5	500	20	5	-
6	1200	4	0	+
7	2400	2	1	-

### *Kalibracja metody*

Wodne roztwory pośrednie kadmu o stężeniach 0, 1, 2, 4 µg/l przygotowywano odmierzając do próbek odpowiednio 0, 100, 200, 400 µl roztworu kadmu o stężeniu 0,1 mg/l (uzyskanego drogą rozcieńczeń roztworu podstawowego) i uzupełniając moczem nie zawierającym kadmu do objętości 10 ml.

Roztwory robocze kadmu o stężeniach 0,0; 0,5; 1,0; 2,0 µg/l uzyskano przez dwukrotne rozcieńczenie wodnych roztworów pośrednich modyfikatorem matrycy.

### 6.6.3 Walidacja metod oznaczania ołowiu i kadmu w moczu metodą AAS

Przed przystąpieniem do badań przeprowadzono walidację metod badając granice wykrywalności, granice oznaczalności, liniowość, powtarzalność i dokładność.

#### *Granice wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ)*

Granice wykrywalności kadmu i ołowiu wyznaczono w oparciu o wzór:

$$LOD = (3 \times SD_{\text{ślepej}} / Abs_{\text{wzorca}}) \times \text{stężenie wzorca}$$

Granice oznaczalności wyznaczono dla wartości stężeń odpowiadających dwukrotnej wartości granicy wykrywalności.

Wartości LOD i LOQ dla ołowiu i kadmu przedstawia tabela VI.

Tabela VI. Wartości granic wykrywalności i granic oznaczalności dla oznaczeń ołowiu i kadmu w moczu metodą AAS.

<b>Parametr</b>	<b>Ołów</b>	<b>Kadm</b>
LOD [ $\mu\text{g/l}$ ]	0,136	0,024
LOQ [ $\mu\text{g/l}$ ]	0,272	0,048

#### *Liniowość metod*

Liniowość metod oznaczania ołowiu i kadmu metodą AAS została zbadana na podstawie analiz prób moczu z dodanym wzorcem w następujących zakresach stężeń: dla ołowiu 0,0 – 75,0  $\mu\text{g/l}$ ; dla kadmu 0,0 – 2,0  $\mu\text{g/l}$ .

Krzywe kalibracyjne opisano równaniami liniowymi:

dla ołowiu  $C_{\text{Pb}} = 1159,824 \cdot Abs - 2,379$  (współczynnik korelacji wynosił 0,999),

dla kadmu  $C_{\text{Cd}} = 9,921 \cdot Abs - 0,039$  (współczynnik korelacji wynosił 0,998).

W dalszych badaniach próby, w których stężenie ołowiu lub kadmu przekraczało zakres liniowości były rozcieńczane, a wyznaczone stężenia były mnożone przez współczynnik rozcieńczenia.

#### *Powtarzalność i dokładność metod*

Powtarzalność i dokładność metod zweryfikowano przez zastosowanie materiału referencyjnego Medisafe Metalle Urine Level 2 na podstawie oznaczeń w trzech seriach wykonanych w różnych dniach.

Wyniki przedstawiono w tabeli VII.

Tabela VII. Powtarzalność i dokładność oznaczeń ołowiu i kadmu metodą AAS.

Parametr	Stężenie kontroli (zakres dopuszczalny) [µg/l]	Stężenie oznaczone [µg/l]	SD [µg/l]	CV [%]	Odzysk [%]
Ołów	78 (60 – 96)	71,69	2,59	3,62	91,9
		67,8	3,01	4,43	86,9
		71,17	1,66	2,33	91,2
Kadm	7,9 (5,1 – 10,7)	5,38	0,14	2,57	68,1
		5,87	0,68	11,62	74,3
		7,29	0,15	2,11	92,3

### 6.7 Analiza statystyczna

Wyniki badań poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu Statistica PL v. 6.1. Mierzone parametry charakteryzowano w poszczególnych grupach za pomocą średniej arytmetycznej i odchylenia standardowego.

Do analizy różnic pomiędzy grupami wykorzystano testy: chi kwadrat Pearsona,  $\chi^2$ NW, analizę wariancji, test Levene'a jednorodności wariancji, test Kruskala-Wallisa, test Newmana-Keulusa.

Analizę korelacyjną prowadzono wyznaczając współczynnik korelacji Pearsona i współczynnik  $R^2$ . Do przeprowadzenia analiz korelacyjnych wykorzystano testy korelacji porządku rang Spearman'a.

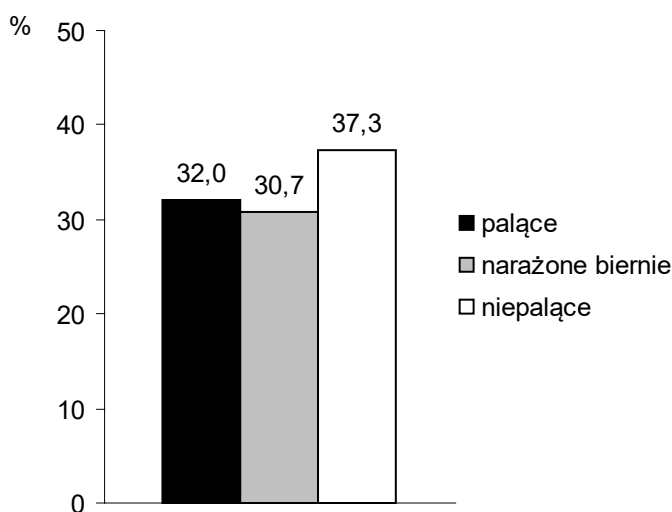
Istotność statystyczną przyjęto na poziomie  $p < 0,05$ .

Przyjęto 95 % przedziału ufności dla różnic istotnych statystycznie.

## 7 Wyniki

W badaniach ankietowych wzięło udział 231 kobiet rodzących. Wszystkie kobiety wypełniły kwestionariusz ankiety. Lekarz dla każdej kobiety wypełnił formularz dotyczący stanu zdrowia noworodka. Ocena noworodków po porodzie była przeprowadzona przez neonatologa bezpośrednio po operacji kleszczowej, bądź wyciągacza próżniowego, jak również w sytuacjach urodzenia się dziecka w zamartwicy. W pozostałych sytuacjach ocenę neonatologiczną przeprowadzano w następnym dniu, podczas wizyty neonatologicznej.

Kobiety objęte badaniami zostały dobrane tak, aby liczebność grupy aktywnie palących, narażonych na środowiskowy dym tytoniowy (przedstawianych w dalszych częściach pracy jako narażone biernie) oraz niepalących i nienarażonych (przedstawianych jako niepalące) była zbliżona. Narażenie na dym tytoniowy zostało określone w oparciu o dane ankietowe uzupełnione oznaczeniami kotyniny w moczu kobiet. Liczebność grup kobiet palących, narażonych biernie i niepalących wynosiła odpowiednio 74, 71 i 86 co stanowiło procentowo odpowiednio 32,0 %, 30,7 % oraz 37,3 % badanej grupy (ryc. 3).



Rycina 3. Liczebność badanych grup kobiet.

### 7.1 Ogólna charakterystyka badanej grupy na podstawie ankiet

Analiza statystyczna danych zawartych w kwestionariuszu pozwoliła na określenie, w jakim stopniu palenie papierosów i narażenie na ETS kobiet ciężarnych zależy od czynników socjoekonomicznych takich jak: wiek, wykształcenie, miejsce zamieszkania,



dochód na 1 członka rodziny i aktywność zawodowa kobiet. Sprawdzono też, czy istnieje związek pomiędzy paleniem kobiet lub ich narażeniem środowiskowym na dym tytoniowy a paleniem papierosów przez partnerów badanych kobiet i świadomością kobiet dotyczącą szkodliwych skutków palenia.

### 7.1.1 Wiek kobiet

Najwięcej kobiet palących tytoń w czasie ciąży było w wieku 25-29 lat (37,8 %) oraz <25 lat (31,1 %). Kobiety biernie narażone i niepalące w ciąży były przeważnie w wieku 25-29 lat (odpowiednio 50,7 % i 45,3 %). We wszystkich grupach najmniejszy odsetek stanowiły kobiety w wieku > 35 lat. (tab.VIII, ryc. 4).

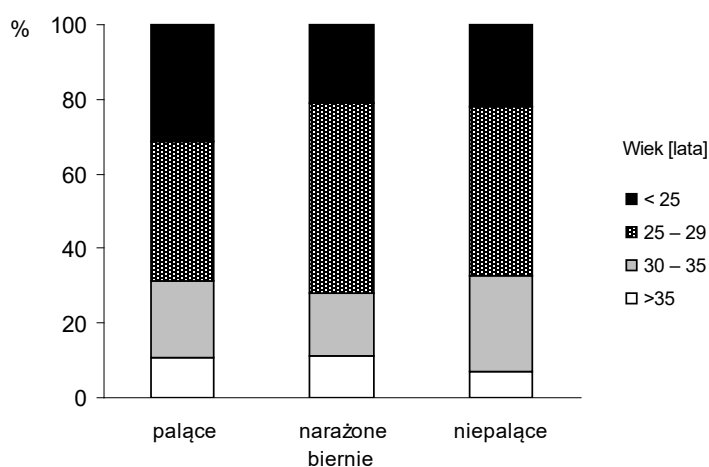
Różnice w rozkładzie wieku w poszczególnych grupach nie były istotne statystycznie.

Tabela VIII. Wiek badanych kobiet.

Wiek kobiet [lata]	Palące *,**		Narażone biernie		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
< 25	23	31,1	16	21,1	19	22,1
25 – 29	28	37,8	36	50,7	39	45,3
30 – 35	15	20,3	12	16,9	22	25,6
>35	8	0,8	19	11,3	6	7,0
razem	74	100,0	71	100,0	86	100,0

\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i palących

\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet narażonych biernie i palących



Rycina 4. Rozkład wieku w badanych grupach kobiet.

### 7.1.2 Wykształcenie kobiet

Największy odsetek kobiet z wykształceniem zawodowym obserwowano w grupie kobiet palących (50,0 %), najmniejszy – w grupie kobiet narażonych biernie (11,3 %).

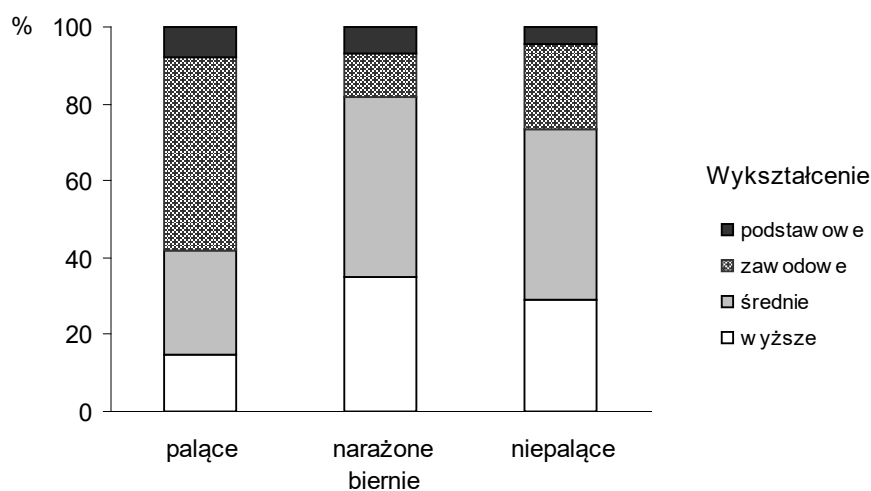
W grupie kobiet biernie narażonych większość miała wykształcenie średnie (46,5 %) i wyższe (35,2 %). Kobiety niepalące miały najczęściej wykształcenie średnie (44,2 %), w mniejszym odsetku wyższe (29,1 %). W tej grupie najmniejszy był odsetek kobiet z wykształceniem podstawowym (4,7 %). (tab. IX, ryc. 5). Obserwowane różnice były istotne statystycznie.

Tabela IX. Wykształcenie badanych kobiet.

Wykształcenie kobiet	Palące <sup>*, **</sup>		Narażone biernie		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
Podstawowe	6	8,1	5	7,0	4	4,7
Zawodowe	37	50,0	8	11,3	19	22,1
Średnie	20	27,0	33	46,5	38	44,2
Wyższe	11	14,9	25	35,2	25	29,1
Razem	74	100,0	71	100,0	86	100,0

\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i palących

\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet narażonych biernie i palących



Rycina 5. Wykształcenie badanych grup kobiet.

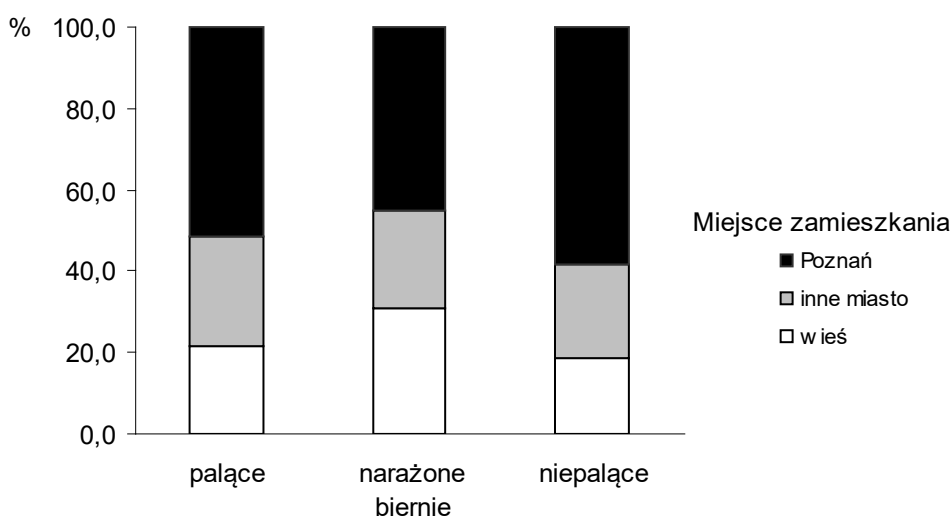
### 7.1.3 Miejsce zamieszkania kobiet

Rozkład miejsca zamieszkania był we wszystkich trzech grupach zbliżony. Większość kobiet mieszkała w Poznaniu (51,4 % kobiet palących, 45,1 % kobiet narażonych biernie i 58,1 % kobiet niepalących) (tab. X, ryc. 6).

Zaobserwowane różnice pomiędzy badanymi grupami dotyczące miejsca zamieszkania kobiet nie osiągnęły istotności statystycznej ( $p > 0,05$ ).

Tabela X. Miejsce zamieszkania badanych kobiet.

Miejsce zamieszkania	Palące		Narażone biernie		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
Poznań	38	51,4	32	45,1	50	58,1
Inne miasto	20	27,0	17	23,9	20	23,3
Wieś	16	21,6	22	31,0	16	18,6
Razem	74	100,0	71	100,0	86	100,0



Rycina 6. Rozkład miejsca zamieszkania w badanych grupach kobiet.

### 7.1.4 Dochód na jednego członka rodziny

W grupie kobiet palących tytoń w ciąży 51,4 % miało miesięczny dochód poniżej 500 zł na osobę, 27,0 % pomiędzy 500-1000 zł, a 21,6 % powyżej 1000 zł.

Największy odsetek kobiet mających miesięczny dochód powyżej 1000 zł na członka rodziny zanotowano w grupie kobiet biernie narażonych na dym tytoniowy w czasie

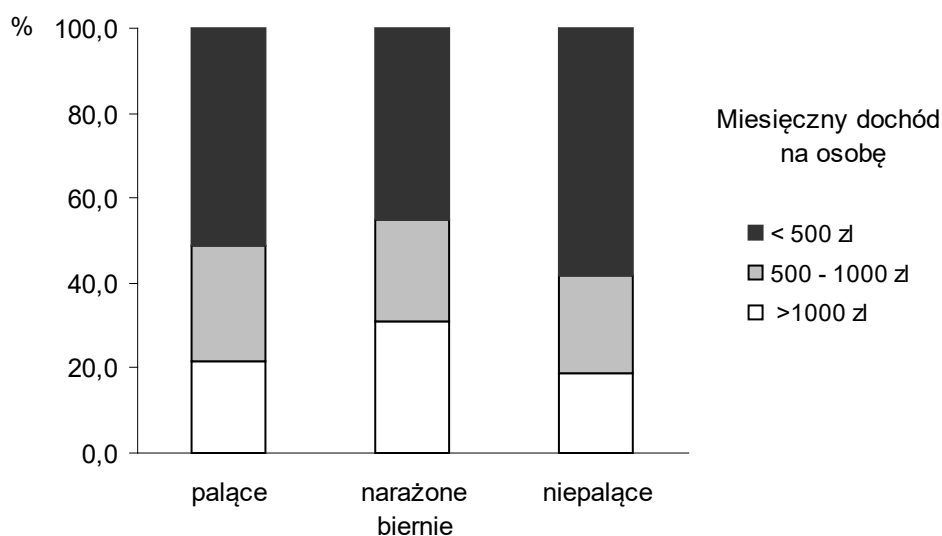
ciąży (31,0 %). Dochód poniżej 500 zł w największym procencie odnotowano w grupie kobiet niepalących (58,1 %) oraz palących tytoń w ciąży (51,4 %) (tab XI., ryc. 7). Różnice w miesięcznych dochodach na jednego członka rodziny w poszczególnych grupach osiągnęły poziom istotności  $p < 0,05$ .

Tabela XI. Miesięczny dochód na jednego członka rodziny w badanych grupach kobiet.

Dochód [zł]	Palące **		Narażone biernie ***		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
< 500 zł	29	51,4	14	45,1	17	58,1
500 – 1000 zł	31	27,0	33	23,9	46	23,3
> 1000 zł	14	21,6	24	31,0	23	18,6
Razem	74	100,0	71	100,0	86	100,0

\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet narażonych biernie i palących

\*\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i narażonych biernie



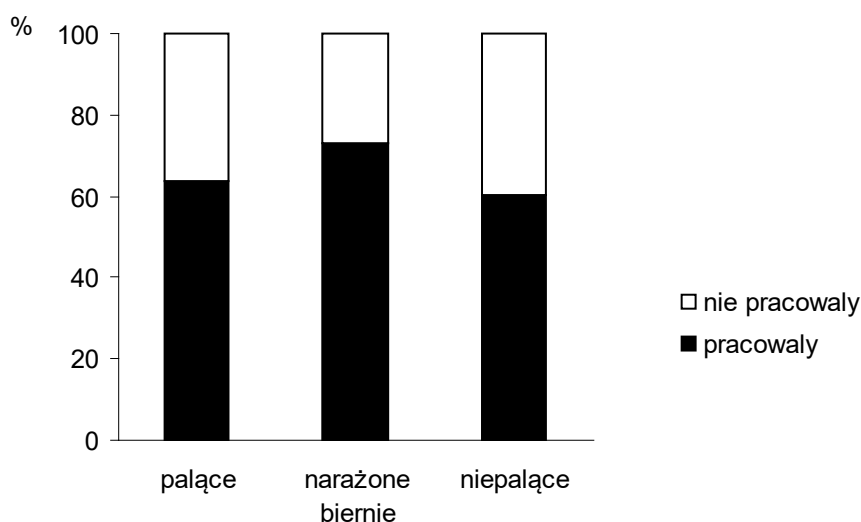
Rycina 7. Miesięczny dochód na osobę w badanych grupach kobiet.

### 7.1.5 Aktywność zawodowa kobiet w okresie ciąży

Odsetek kobiet aktywnych zawodowo był zbliżony w grupie palących i niepalących i wynosił odpowiednio 63,5 % i 60,5 % (tab. XII, ryc. 8). W grupie kobiet biernie narażonych odsetek kobiet pracujących był największy (73,2 %). Zaobserwowane różnice były statystycznie nieistotne ( $p > 0,05$ ).

Tabela XII. Aktywność zawodowa w badanej grupie kobiet w czasie trwania ciąży.

Aktywność zawodowa	Palące		Narażone biernie		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
Nie pracowały	27	36,5	19	26,8	34	39,5
Pracowały	47	63,5	52	73,2	52	60,5
Razem	74	100,0	71	100,0	86	100,0



Rycina 8. Aktywność zawodowa kobiet w okresie ciąży.

## 7.2 Palenie tytoniu i narażenie kobiet na środowiskowy dym tytoniowy

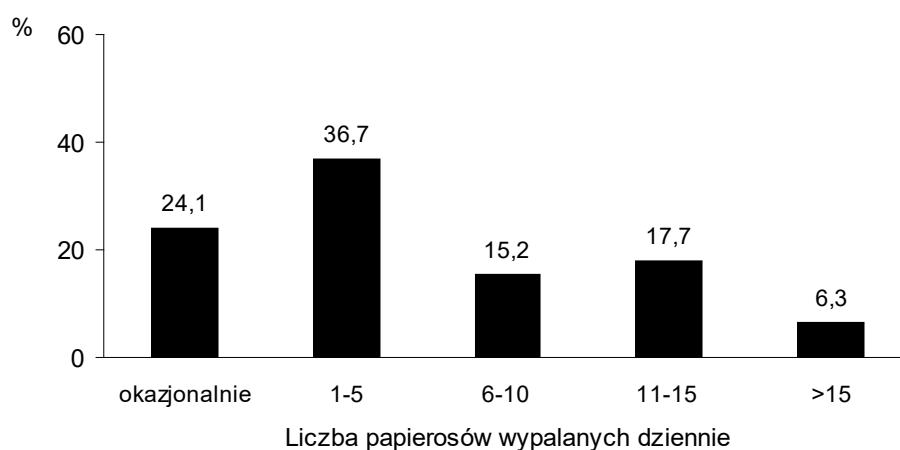
### 7.2.1 Palenie tytoniu przez kobiety przed zajściem w ciążę

Spośród badanych kobiet 79 (34,2 %) podało w ankiecie, że paliło tytoń w ciągu ostatniego kwartału przed zajściem w ciążę. Wśród pozostałych 152 kobiet (65,8 % badanej grupy) znajdowało się 19, u których w moczu pobranym przed porodem stwierdzono obecność kotyniny w stężeniach wskazujących na aktywne palenie papierosów (powyżej 50 ng/mg kreatyniny). Wyniki ankiety zweryfikowane oznaczeniami kotyniny w moczu pozwoliły na podział badanych kobiet na trzy grupy: palące, biernie narażone i niepalące.

Około 60 % kobiet, które w kwestionariuszu podały, że paliły tytoń przed ciążą deklarowało wypalanie mniej niż 5 papierosów dziennie. Tylko 5 kobiet (6,3 %) podało, że wypalało ponad 15 papierosów dziennie (tab. XIII, ryc. 9).

Tabela XIII. Palenie papierosów przez kobiety przed zajściem w ciążę.

Ilość wypalanych papierosów dziennie	Liczba kobiet	% grupy palącej
Okazjonalnie	19	24,1
1 – 5 papierosów	29	36,7
6 – 10 papierosów	12	15,2
11 – 15 papierosów	14	17,7
Powyżej 15 papierosów	5	6,3
Razem	79	100



Rycina 9. Rozkład dziennej liczby wypalanych papierosów przez kobiety przed zajściem w ciążę.

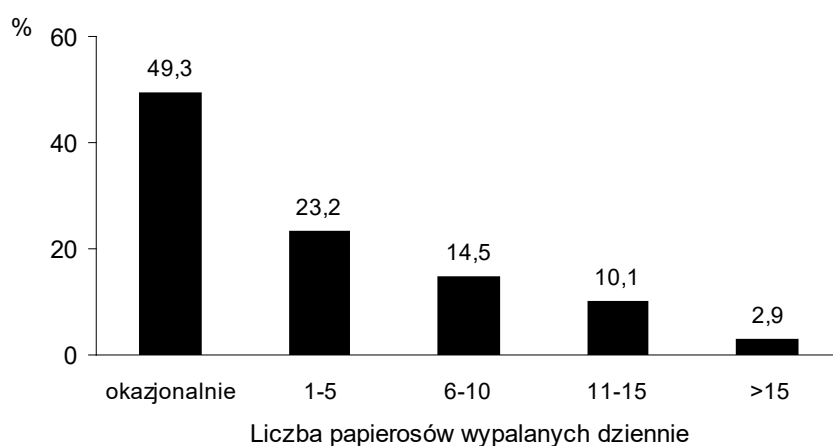
### 7.2.2 Palenie tytoniu przez kobiety w okresie ciąży

W badanej grupie 98 kobiet paliło tytoń przed ciążą i w trakcie jej trwania. Spośród nich 24 kobiety zrezygnowały z palenia papierosów w trakcie trwania ciąży, co stanowiło 24,5 % grupy palącej tytoń przed ciążą. Ilości papierosów wypalanych dziennie przez kobiety, które kontynuowały palenie przez cały okres trwania ciąży podane w kwestionariuszu były niższe niż ilości papierosów wypalanych przed zajściem w ciążę. Prawie połowa (49,3 %) kobiet palących w okresie ciąży podała, że paliła tytoń okazjonalnie; 23,2 % podało, że wypalało dziennie 1-5 papierosów; 14,5 %

6-10 papierosów; 10,1 % 11-15 papierosów, a 2,9 % > 15 papierosów (tab. XIV, ryc. 10).

Tabela XIV. Palenie papierosów przez kobiety w czasie trwania ciąży.

Ilość wypalanych papierosów dziennie	Liczba kobiet	% grupy palącej
okazjonalnie	34	49,3
1 – 5 papierosów	16	23,2
6 – 10 papierosów	10	14,5
11 – 15 papierosów	7	10,1
powyżej 15 papierosów	2	2,9
Razem	69	100,0



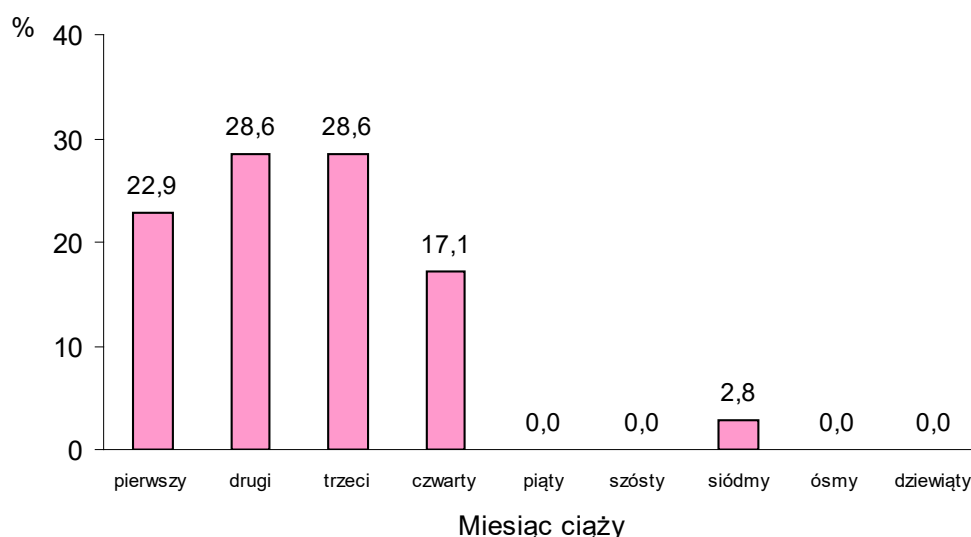
Rycina 10. Rozkład dziennej liczby wypalanych papierosów przez kobiety w czasie trwania ciąży.

### 7.2.3 Rezygnacja kobiet z palenia tytoniu w czasie trwania ciąży

Spośród kobiet, które deklarowały zaprzestanie z palenia papierosów w czasie trwania ciąży najwięcej (ponad 70 %) podjęło taką decyzję w pierwszym trymestrze ciąży. W pojedynczych przypadkach kobiety palące rezygnowały z nałogu palenia papierosów w ostatnich miesiącach trwania ciąży (tab. XV, ryc. 11).

Tabela XV. Rezygnacja z palenia papierosów w badanej grupie kobiet ciężarnych w poszczególnych miesiącach trwania ciąży.

Miesiąc ciąży	% kobiet, które zrezygnowały z palenia tytoniu
Pierwszy	22,9
Drugi	28,6
Trzeci	28,6
Czwarty	17,1
Siódmy	2,8
Razem	100



Rycina 11. Rezygnacja z palenia papierosów w badanej grupie kobiet ciężarnych w poszczególnych miesiącach trwania ciąży.

#### 7.2.4 Palenie tytoniu przez partnerów kobiet

Ponad połowa kobiet palących i biernie narażonych na dym tytoniowy w czasie ciąży podała w ankiecie, że ich partnerzy palili tytoń (odpowiednio 67,6 % i 64,8 %). W grupie kobiet niepalących tylko 12,8 % miała palących partnerów (tab. XVI, ryc. 12).

Różnice w rozkładzie narażenia na dym tytoniowy ze strony partnerów kobiet w poszczególnych grupach były istotne statystycznie ( $p < 0,05$ ).

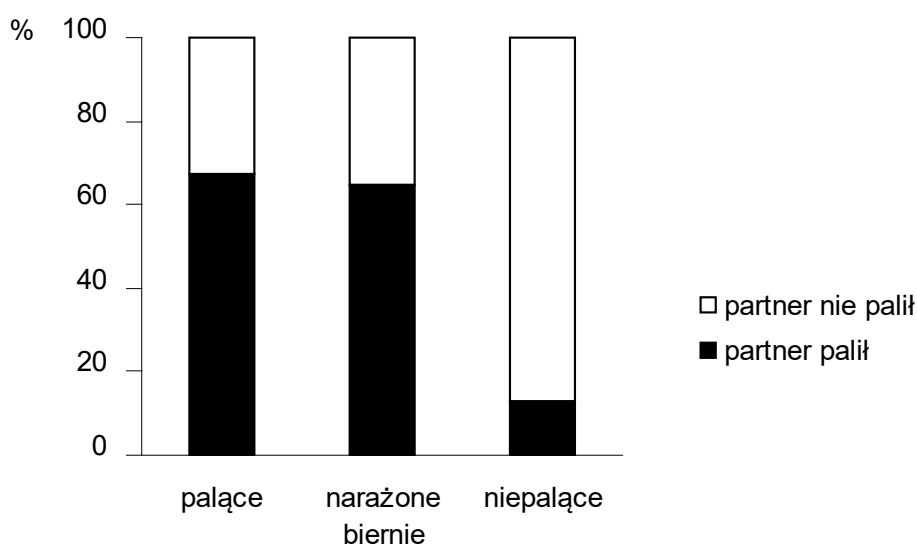


Tabela XVI. Narażenie kobiet na środowiskowy dym tytoniowy ze strony partnerów.

Palenie partnera	Palące *		Narażone biernie ***		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
Palili	50	67,6	46	64,8	11	12,8
Nie palili	24	32,4	25	35,2	75	87,2
Razem	74	100,0	71	100,0	86	100,0

\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i palących

\*\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i narażonych biernie



Rycina 12. Narażenie kobiet na środowiskowy dym tytoniowy ze strony partnerów.

W grupie kobiet palących w ciąży, których partnerzy palili tytoń stwierdzono, że najczęściej (48,0 %) wypalali oni 11-15 papierosów dziennie. Najmniejszy odsetek (8,0 %) stanowiły kobiety palące tytoń, których partnerzy palili okazjonalnie.

W grupie kobiet biernie narażonych na dym tytoniowy ich partnerzy najczęściej wypalali 1-5 papierosów dziennie (39,1 %), najrzadziej palili okazjonalnie (6,5 %).

W grupie kobiet niepalących w czasie ciąży partnerzy palili tytoń w pojedynczych przypadkach. Jeżeli palili, to najczęściej wypalali 11-15 papierosów dziennie (36,4 %), najrzadziej 6-10 papierosów dziennie (9,1 %) (tab. XVII, ryc. 13).

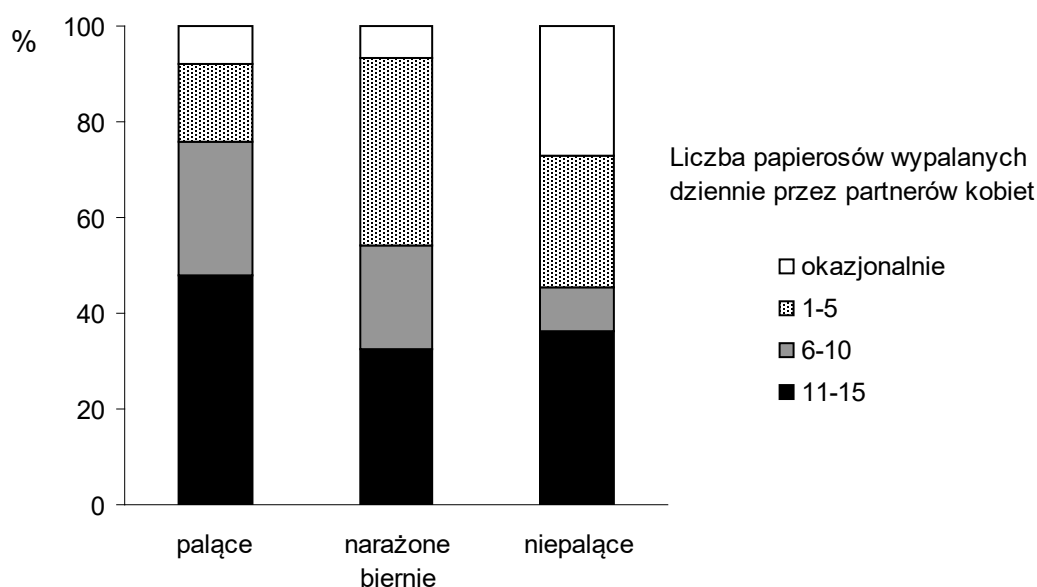
Różnice w ilości dziennie wypalanych papierosów przez partnerów badanych kobiet w poszczególnych grupach były statystycznie istotne ( $p < 0,05$ ).

Tabela XVII. Palenie papierosów przez partnerów badanych kobiet.

Ilość papierosów wypalanych dziennie przez partnerów	Palące *		Narażone biernie ***		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
Okazjonalnie	4	8,0	3	6,5	3	27,3
1 -5 papierosów	8	16,0	18	39,1	3	27,3
6 – 10 papierosów	14	28,0	10	21,7	1	9,1
11 – 15 papierosów	24	48,0	15	32,6	4	36,4
Razem	50	100,0	46	100,0	11	100,0

\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i palących

\*\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i narażonych biernie



Rycina 13. Palenie papierosów przez partnerów kobiet ciężarnych.

### 7.2.5 Świadomość kobiet ciężarnych dotycząca szkodliwego wpływu palenia tytoniu

Większość kobiet w badanej grupie podało, że były świadome szkodliwego wpływu dymu tytoniowego na rozwój płodu, 6 kobiet (2,6 % całości) podało w kwestionariuszu, że nie były tego świadome. W badanej grupie kobiet nie wykazano związku pomiędzy paleniem tytoniu i narażeniem na dym tytoniowy w okresie ciąży a ich świadomością dotyczącą niekorzystnych skutków zdrowotnych palenia tytoniu (tab. XVIII).

Tabela XVIII. Świadomość szkodliwego wpływu palenia papierosów na płód w grupie kobiet palących, narażonych biernie i niepalących.

Świadomość	Palące		Narażone biernie		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
Nie	4	5,4	1	1,4	1	1,2
Tak	70	94,6	70	98,6	85	98,8
Razem	74	100	71	100	86	100

### 7.2.6 Informacje o niekorzystnym działaniu dymu tytoniowego na płód uzyskane od lekarza/położnej

W grupach kobiet palących tytoń, biernie narażonych i niepalących w okresie ciąży odpowiednio 36,5 %, 46,5 % i 31,4 % podało, że nie zostały poinformowane w czasie wizyt u lekarza/położnej o szkodliwym wpływie palenia tytoniu na płód (tab. XIX).

Nie stwierdzono, żeby informowanie kobiet w badanej grupie miało wpływ na zmniejszenie palenia tytoniu i narażenia na środowiskowy dym tytoniowy.

Tabela XIX. Informacja o niekorzystnym działaniu dymu tytoniowego na płód uzyskana od lekarza/położnej w grupie kobiet palących, narażonych biernie i niepalących.

Informacja	Palące		Narażone biernie		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
Nie	27	36,5	33	46,5	27	31,4
Tak	47	63,5	38	53,5	59	68,6
Razem	74	100	71	100	86	100

## 7.3 Przebieg porodu i stan zdrowotny noworodków

### 7.3.1 Czas trwania ciąży

W całej grupie kobiet objętych badaniem czas trwania ciąży wynosił średnio 35,1 tygodni i wahał się od 25 do 42 tygodni.

Wśród kobiet palących, biernie narażonych na dym tytoniowy i niepalących średni czas trwania ciąży wynosił odpowiednio: 38,6, 38,7 i 38,9 tygodni (tab. XX). Różnice między grupami nie były statystycznie istotne.

Tabela XX. Czas trwania ciąży w badanej grupie kobiet.

Grupa	Czas trwania ciąży [tygodnie]			
	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Palące	38,6	2,7	28	42
Narażone biernie	38,7	2,3	25	42
Niepalące	38,9	1,6	35	42

### 7.3.2 Rodzaj porodu

Kobiety, które paliły tytoń w ciąży najczęściej rodziły przez cięcie cesarskie (52,7 %). W tej grupie największy był również odsetek porodów ze wspomaganiami (20,3 %).

Wśród kobiet biernie narażonych na dym tytoniowy w okresie ciąży 59,2 % rodziło siłami natury, 38,0 % przez cięcie cesarskie, w 2,8 % przebiegał poród ze wspomaganiami.

W grupie kobiet niepalących w okresie ciąży 53,5 % rodziło siłami natury, 40,7 % rodziło przez cesarskie cięcie, w 5,8 % poród przebiegał ze wspomaganiami (tab. XXI, ryc. 14).

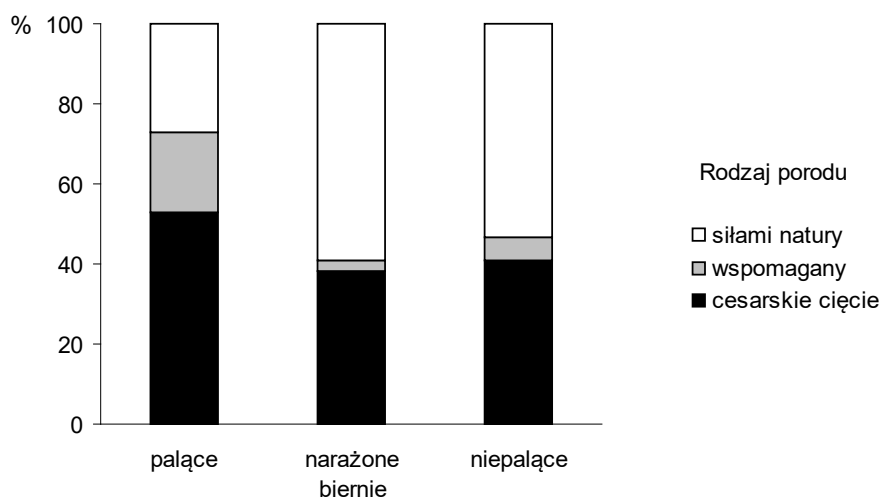
Opisane różnice w poszczególnych grupach były istotne statystycznie ( $p < 0,05$ ).

Tabela XXI. Rodzaj porodu w badanych grupach kobiet.

Rodzaj porodu	Palące <sup>*,**</sup>		Narażone biernie		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
Siłami natury	20	27,0	42	59,2	46	53,5
Wspomagany	15	20,3	2	2,8	5	5,8
Cesarskie cięcie	39	52,7	27	38,0	35	40,7
Razem	74	100,0	71	100,0	86	100,0

\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i palących

\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet narażonych biernie i palących



Rycina 14. Wpływ palenia papierosów i narażenia na ETS na rodzaj porodu w badanej grupie kobiet.

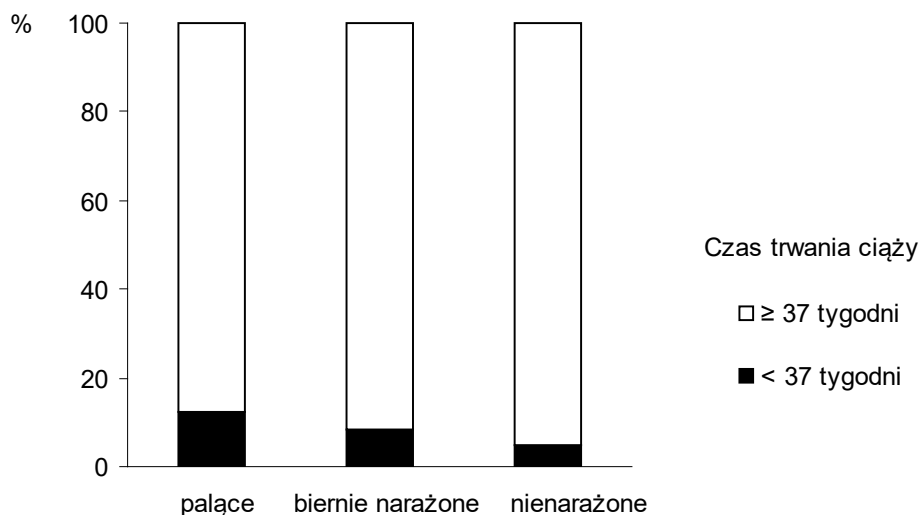
### 7.3.3 Poród przedwczesny

Poród przedwczesny (przed 37 tygodniem ciąży) dotyczył 8,2 % badanej grupy kobiet, przy czym najliczniejszą grupę stanowiły kobiety palące tytoń, a najmniej liczną kobiety niepalące (tab. XXII, ryc. 15).

Różnice te nie były jednak istotne statystycznie (mała liczba obserwacji  $n=19$ ), chociaż zarysowała się tendencja do wystąpienia porodu przedwczesnego u kobiet palących.

Tabela XXII. Odsetek kobiet, które urodziły o czasie ( $\geq 37$  tygodni) i przed 37 tygodniem ciąży.

Czas trwania ciąży	Palące		Narażone biernie		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
$\geq 37$ tygodni	65	87,8	65	91,5	82	95,3
< 37 tygodni	9	12,2	6	8,5	4	4,7
Razem	74	100,0	71	100,0	86	100,0



Rycina 15. Odsetek kobiet, które urodziły o czasie i przedwcześnie w grupie palących, biernie narażonych i niepalących w ciąży.

#### 7.3.4 Płeć noworodków

118 kobiet (51,1 %) urodziło dziecko płci męskiej, 113 kobiet (48,9 %) - płci żeńskiej. W grupie kobiet palących odsetek noworodków płci męskiej i żeńskiej wynosił odpowiednio 54,1 % i 45,9 %; w grupie kobiet narażonych biernie 47,9 % i 52,1 %; w grupie niepalących 45,4 % i 54,6 %. Różnice były statystycznie nieistotne.

#### 7.3.5 Urodzeniowa masa ciała

Średnia masa noworodków urodzonych przez badane kobiety wynosiła 3398,3 g (od 1080 do 5200 g) (tab. XXIII).

Średnia urodzeniowa masa ciała noworodków matek palących tytoń w czasie ciąży była najniższa i wynosiła 3247,8 g; noworodków matek biernie narażonych na dym tytoniowy - 3315,2 g; noworodków matek niepalących - 3596,3 g. Zaobserwowane różnice były istotne statystycznie między noworodkami matek palących tytoń i niepalących oraz biernie narażonych na dym tytoniowy i niepalących (tab. XXIII). Przy uwzględnieniu płci noworodków różnice te były istotne dla noworodków płci żeńskiej ( $p < 0,05$ ), natomiast dla noworodków płci męskiej były na granicy istotności statystycznej ( $p = 0,061277$ ).

Tabela XXIII. Urodzeniowa masa ciała noworodków urodzonych przez badaną grupę kobiet.

Grupa	Płeć	Masa urodzeniowa [g]			
		Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Pałace	M	3296,0	703,3	1080	4500
	K	3191,2 *	806,1	1220	5200
	Razem	3247,8 *	748,9	1080	5200
Narażone biernie	M	3383,8	693,2	1100	4610
	K	3252,2 ***	593,2	1080	4430
	Razem	3315,2 ***	641,8	1080	4610
Niepałace	M	3650,0	645,1	1800	5060
	K	3551,7	499,7	2330	4590
	Razem	3596,3	568,8	1800	5060
Ogółem	M	3444,6	691,9	1080	5060
	K	3353,9	645,3	1080	5200
	Razem	3398,3	668,6	1080	5200

\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepałających i pałających

\*\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepałających i narażonych biernie

### 7.3.6 Noworodki z niską masą urodzeniową

U 9,1 % (n = 21) noworodków masa urodzeniowa była poniżej 2500 g. Różnice masy urodzeniowej tych noworodków przy uwzględnieniu aktywnego i biernego narażenia matek na dym tytoniowy nie osiągnęły istotności statystycznej (tab. XXIV). Ich średnia masa urodzeniowa wynosiła 1994,3 g.

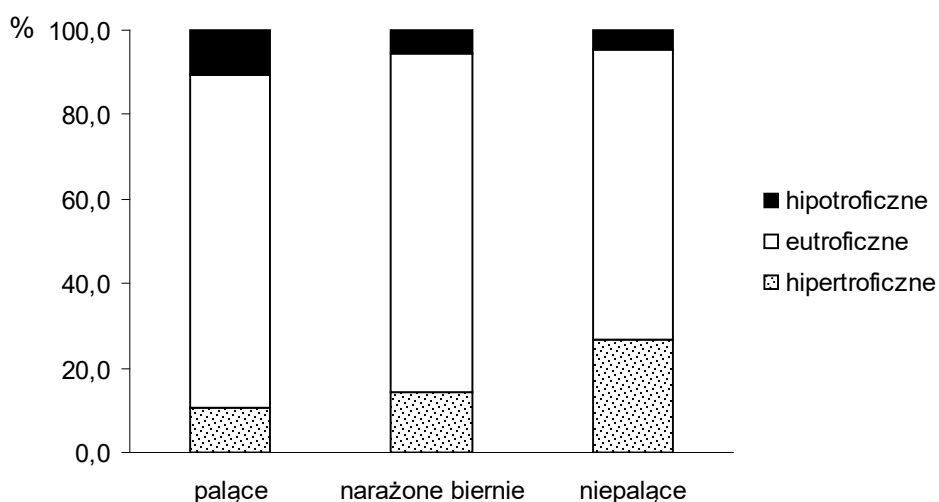
Wśród noworodków hipotroficznycy 50,0 % było dziećmi matek pałających tytoń. Analiza wariancji nie wykazała wpływu palenia i narażenia na środowiskowy dym tytoniowy na częstość narodzin noworodków hipotroficznycy, najprawdopodobniej ze względu na niewielką grupę badawczą (tab. XXV, ryc. 16). Średnia masa urodzeniowa grupy noworodków hipotroficznycy wynosiła 2063,8 g (tab. XXVI).

Tabela XXIV. Masa urodzeniowa noworodków poniżej 2500 g w grupie kobiet palących, biernie narażonych i niepalących.

Grupa	n	Masa urodzeniowa noworodków poniżej 2500 g [g]			
		Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Palące	12	1952,5	485,8	1080	2480
Narażone biernie	4	1730,0	745,5	1080	2490
Niepalące	5	2306,0	289,2	1080	2480
Ogółem	21	1994,3	518,9	1080	2490

Tabela XXV. Odsetek noworodków hipotroficznych, eutroficznych i hipertroficznych w grupie kobiet palących, biernie narażonych i niepalących.

Noworodki	Palące		Narażone biernie		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
Hipotroficzne	8	10,8	4	5,6	4	4,7
Eutroficzne	58	78,4	57	80,3	59	68,6
Hipertroficzne	8	10,8	10	14,1	23	26,7
Razem	74	100,0	71	100,0	86	100,0



Rycina 16. Odsetek noworodków hipotroficznych, eutroficznych i hipertroficznych w grupie kobiet palących, biernie narażonych i niepalących.



Tabela XXVI. Masa urodzeniowa noworodków hipotroficznych w grupie kobiet palących, biernie narażonych i niepalących.

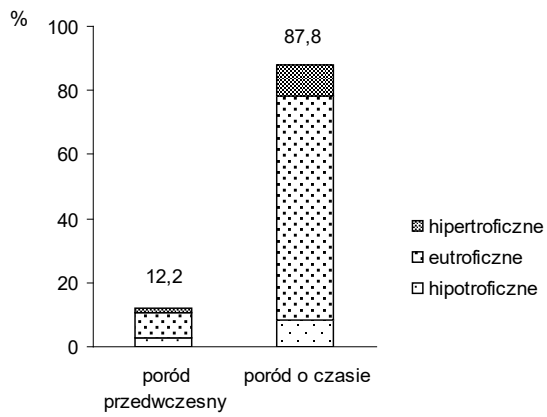
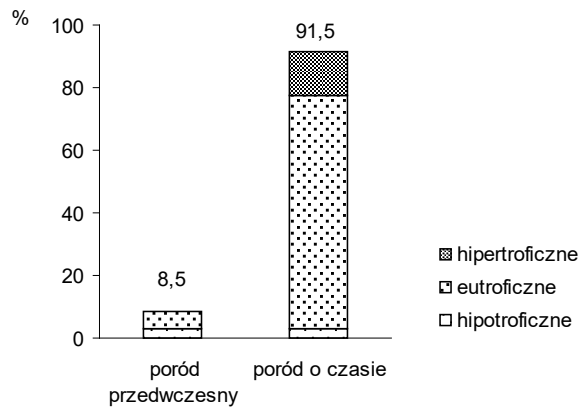
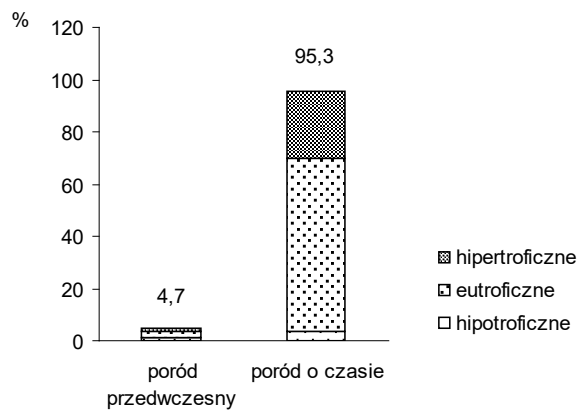
Grupa	Masa urodzeniowa noworodków hipotroficznych [g]			
	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Palące	2013,8	524,3	1080	2510
Narażone biernie	1825,0	848,9	1080	2580
Niepalące	2402,5	450,0	1080	2890
Razem	2063,8	600,0	1080	2890

### 7.3.7 Noworodki hipotroficzne, eutroficzne i hipertroficzne urodzone o czasie i przedwcześnie

W badanej grupie kobiet 19 pacjentek urodziło przedwcześnie (przed 37 tygodniem ciąży), co stanowiło 8,2 % całości grupy.

Tabela XXVII. Noworodki hipotroficzne, eutroficzne i hipertroficzne urodzone przedwcześnie (<37 tygodni) i o czasie (≥37 tygodni) w poszczególnych grupach badawczych.

Tydzień ciąży	Narażenie	Hipotroficzne		Eutroficzne		Hipertroficzne		Razem	
		n	%	n	%	n	%	n	%
< 37	Palące	2	10,5	6	31,6	1	5,3	9	47,4
	Narażone biernie	2	10,5	4	21,1	0	0,0	6	31,6
	Niepalące	1	5,3	2	10,5	1	5,3	4	21,1
	Razem	5	26,3	12	63,2	2	10,5	19	100,0
≥ 37	Palące	6	2,8	52	24,5	7	3,3	65	30,7
	Narażone biernie	2	0,9	53	25,0	10	4,7	65	30,7
	Niepalące	3	1,4	57	26,9	22	10,4	82	38,7
	Razem	11	5,2	162	76,4	39	18,4	212	100,0
Ogółem	Palące	8	3,5	58	25,1	8	3,5	74	32,0
	Narażone biernie	4	1,7	57	24,7	10	4,3	71	30,7
	Niepalące	4	1,7	59	25,5	23	10,0	86	37,2
	Razem	16	6,9	174	75,3	41	17,7	231	100,0

**A****B****C**

Rycina 17. Obserwowana częstość urodzenia noworodków hipotroficznych, eutroficznych i hipertroficznych urodzonych przedwcześnie (<37 tydzień) i o czasie ( $\geq 37$  tydzień) przez kobiety palące (A), narażone biernie na dym tytoniowy (B) i niepalące w czasie ciąży (C).

Zbadano częstość urodzenia noworodków hipotroficznymi, eutroficznymi i hipertroficznymi w grupie kobiet palących, biernie narażonych na dym tytoniowy i niepalących w ciąży, które urodziły o czasie i przedwcześnie.

W grupie noworodków urodzonych przedwcześnie odsetek hipotroficznymi był większy (26,3 %) niż w grupie urodzonej o czasie (5,2 %) (tab. XXVII, ryc. 17). W grupie noworodków hipotroficznymi urodzonych o czasie największy odsetek stanowiły noworodki matek palących (2,8 %), w porównaniu z odsetkiem noworodków hipotroficznymi matek narażonych biernie i niepalących (odpowiednio 0,9 % i 1,4 %). Z powodu niewielkiej liczby obserwacji przedstawione różnice nie były statystycznie istotne, ale można zauważyć tendencję wzrostu ryzyka urodzenia noworodka z obniżoną masą urodzeniową przez matki palące tytoń oraz narażone na środowiskowy dym tytoniowy w okresie ciąży. Szczególnie jest to widoczne w grupie kobiet, które urodziły przedwcześnie.

### 7.3.8 Długość ciała noworodków

Średnia długość ciała noworodków urodzonych przez badane kobiety wynosiła 54,0 cm (od 36 do 62 cm). Średnia długość noworodków matek palących tytoń w okresie ciąży była najmniejsza i wynosiła 52,3 cm, matek biernie narażonych 54,4 cm, a matek niepalących 55,1 cm. Różnice długości ciała noworodków matek palących tytoń i niepalących oraz palących i narażonych biernie na dym tytoniowy były istotne statystycznie (tab. XXVIII).

Tabela XXVIII. Długość noworodków urodzonych przez badaną grupę kobiet.

Grupa	Długość noworodków [cm]			
	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Palące	52,3 *. **	4,1	36	60
Narażone biernie	54,4	3,1	48	61
Niepalące	55,1	3,1	48	62
Razem	54,0	3,6	36	62

\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i palących

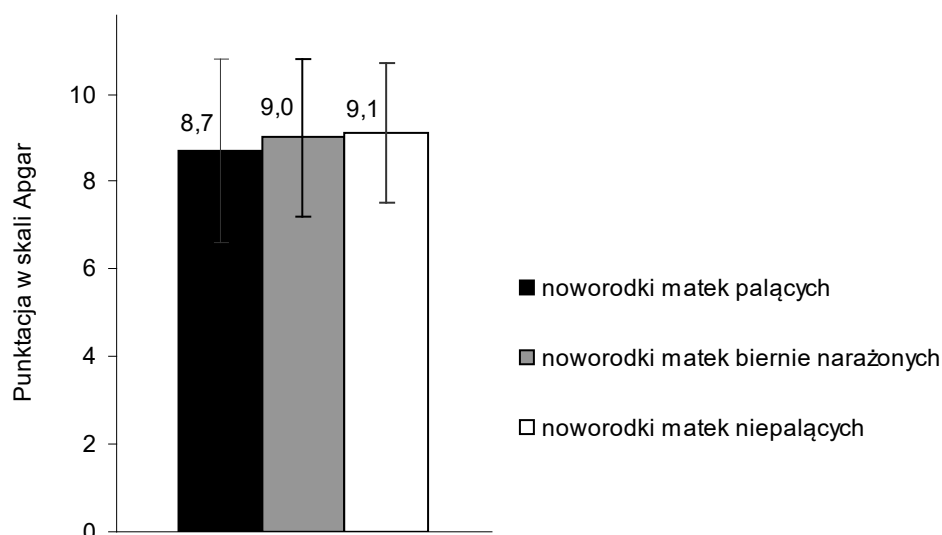
\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet narażonych biernie i palących

### 7.3.9 Kondycja noworodków wyrażona w skali Apgar w pierwszej minucie po urodzeniu

Średnia kondycja noworodków wyrażona w dziesięciopunktowej skali Apgar wynosiła 8,9. Większość noworodków (95,7 %) oceniono powyżej 5 punktów (tab. XXIX). Stan noworodków urodzonych przez badane kobiety wyrażony w skali Apgar w poszczególnych grupach badawczych przedstawia tab. XXIX i ryc. 18.

Tabela XXIX. Punktacja w skali Apgar noworodków matek palących, narażonych biernie i nienarażonych na dym tytoniowy.

Punktacja w skali Apgar	Palące		Narażone biernie		Niepalące	
	n	%	n	%	n	%
<b>1</b>	1	1,4	1	1,4	1	1,2
<b>2</b>	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<b>3</b>	1	1,4	1	1,4	1	1,2
<b>4</b>	3	4,1	1	1,4	0	0,0
<b>5</b>	1	1,4	1	1,4	3	3,5
<b>6</b>	5	6,8	1	1,4	1	1,2
<b>7</b>	7	9,5	3	4,2	3	3,5
<b>8</b>	8	10,8	9	12,7	10	11,6
<b>9</b>	3	4,1	10	14,1	16	18,6
<b>10</b>	45	60,8	44	62,0	51	59,3
<b>Razem</b>	74	100,0	71	100,0	86	100,0
<b>Średnia ± SD</b>	<b>8,7 ± 2,1</b>		<b>9,0 ± 1,8</b>		<b>9,1 ± 1,6</b>	



Rycina 18. Średnia punktacja w skali Apgar ( $\pm$  odchylenie standardowe) noworodków urodzonych przez badaną grupę kobiet.

Średnia kondycja noworodków wyrażona ilością punktów w skali Apgar w grupie kobiet palących była najniższa i wynosiła 8,7, w grupie matek biernie narażonych 9,0, a w grupie nienarażonych 9,1. Różnice te nie osiągnęły poziomu istotności ( $p > 0,05$ ).

### 7.3.10 pH krwi pępowinowej

Średnia wartość pH krwi pępowinowej noworodków urodzonych przez badaną grupę kobiet wynosiła 7,27 i mieściła się w granicach od 6,95 do 7,48. Wartości pH krwi pępowinowej noworodków matek palących, narażonych biernie i niepalących w czasie trwania ciąży prezentuje tab. XXX. Różnice średnich wartości pH krwi pępowinowej noworodków trzech badanych grupach były nieistotne statystycznie.

Tabela XXX. Wartości pH krwi pępowinowej noworodków urodzonych przez badaną grupę kobiet.

Grupa	pH			
	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Palące	7,27	0,09	7,01	7,43
Narażone biernie	7,27	0,10	6,95	7,48
Niepalące	7,26	0,08	7,05	7,46

### 7.3.11 Hospitalizacja noworodków

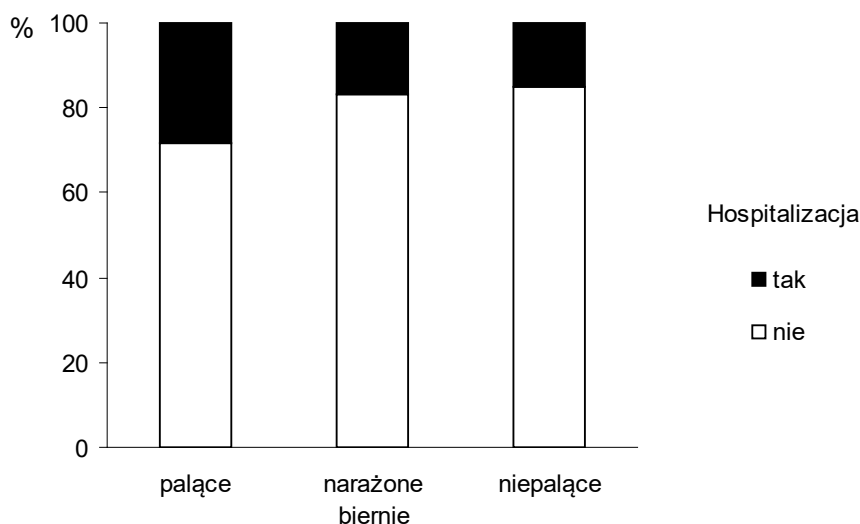
Odsetek noworodków, które wymagały hospitalizacji na Oddziale Intensywnej Opieki Neonatologicznej był największy w grupie matek palących tytoń w czasie ciąży (28,4 %). W grupie noworodków matek biernie narażonych i nienarażonych na dym tytoniowy w ciąży odsetek przypadków hospitalizacji wynosił odpowiednio 16,9 % i 15,1 % (tab. XXXI, ryc. 19).

Obserwowane różnice były statystycznie nieistotne dla całości grupy, natomiast w przypadku porównania grupy noworodków matek palących i narażonych biernie w czasie ciąży osiągnęły poziom istotności  $p < 0,05$ .

Tabela XXXI. Wpływ palenia papierosów i narażenia na ETS matek na hospitalizację noworodków badanej grupy kobiet ciężarnych.

Hospitalizacja noworodków	Noworodki matek palących**		Noworodki matek narażonych biernie		Noworodki matek niepalących	
	n	%	n	%	n	%
Tak	21	28,4	12	16,9	13	15,1
Nie	53	71,6	59	83,1	73	84,9
Razem	74	100,0	71	100,0	86	100,0

\*\* istotne różnice pomiędzy grupą noworodków matek narażonych biernie i palących



Rycina 19. Wpływ palenia papierosów i narażenia na ETS na hospitalizację badanej grupy kobiet ciężarnych.

## 7.4 Biochemiczna ocena aktywnego i biernego narażenia kobiet na dym tytoniowy oraz na metale ciężkie

### 7.4.1 Wyniki oznaczeń kotyniny w moczu kobiet ciężarnych

W grupie kobiet palących w czasie ciąży średnie stężenie kotyniny w moczu wynosiło 426,8 ng/mg kreatyniny i mieściło się w zakresie wskazującym na aktywne palenie tytoniu (powyżej 50 ng/mg kreatyniny). W grupie kobiet narażonych na ETS średnie stężenie kotyniny w moczu wynosiło 18,9 ng/mg kreatyniny. Wartości stężeń kotyniny w moczu nieprzekraczające 50 ng/mg kreatyniny wskazują na narażenie na środowiskowy dym tytoniowy. Średnie stężenie kotyniny w moczu kobiet niepalących było poniżej czułości metody (<10 ng/mg kreatyniny). Różnice stężeń kotyniny w moczu kobiet palących, narażonych biernie oraz niepalących były istotne statystycznie. Wartości średnich stężeń kotyniny w moczu kobiet, odchylenia standardowe i wartości skrajne dla poszczególnych grup przedstawia tab. XXXII i ryc. 20.

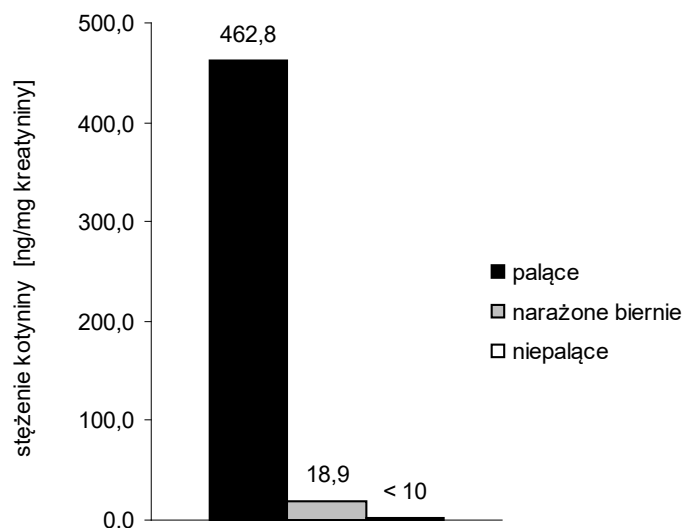
Tabela XXXII. Stężenie kotyniny w moczu kobiet palących, biernie narażonych i niepalących.

Grupa	Stężenie kotyniny [ng/mg kreatyniny]			
	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Palące	462,8 *, **	523,7	7,1	2269,8
Narażone biernie	18,9 ***	22,5	0,0	88,7
Niepalące	< 10	< 10	< 10	64,1

\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i palących

\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet narażonych biernie i palących

\*\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i narażonych biernie



Rycina 20. Średnie stężenia kotyniny w moczu kobiet palących, biernie narażonych i niepalących.

#### 7.4.2 Wyniki oznaczeń ołowiu i kadmu w moczu kobiet ciężarnych

Średnie stężenia ołowiu i kadmu w moczu badanych kobiet w grupie aktywnie palących tytoń, biernie narażonych na dym tytoniowy i niepalących przedstawia tab. XXXIII i ryc. 21.

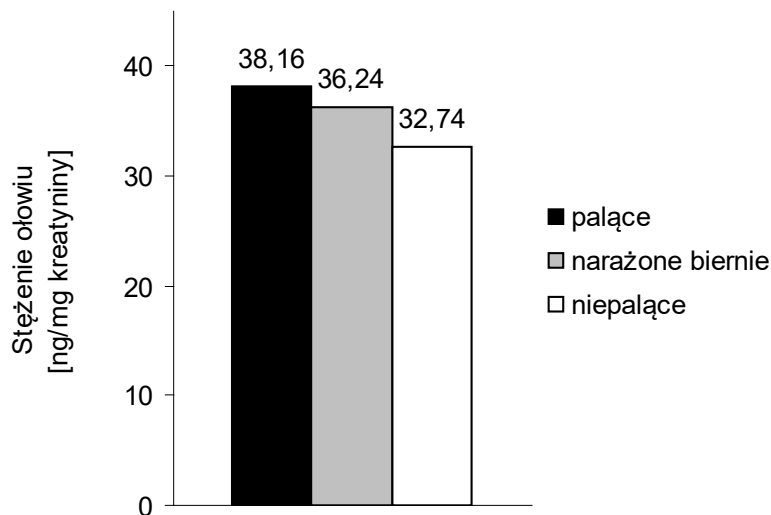
Tabela XXXIII. Stężenia ołowiu i kadmu w moczu kobiet palących, biernie narażonych i niepalących.

Grupa	Stężenie ołowiu [ng/mg kreatyniny]				Stężenie kadmu [ng/mg kreatyniny]			
	Średnia	SD	min	Max	Średnia	SD	min	max
Palące	38,16	59,10	0,0	391,10	1,86 *· **	1,58	0,0	8,55
Narażone biernie	36,24	50,11	0,0	234,66	1,13	1,24	0,0	7,55
Niepalące	32,74	53,48	0,0	317,24	1,31	1,50	0,0	8,16

\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet niepalących i palących

\*\* istotne różnice pomiędzy grupą kobiet narażonych biernie i palących





Rycina 21. Średnie stężenia ołowiu w moczu kobiet palących, biernie narażonych i niepalących.

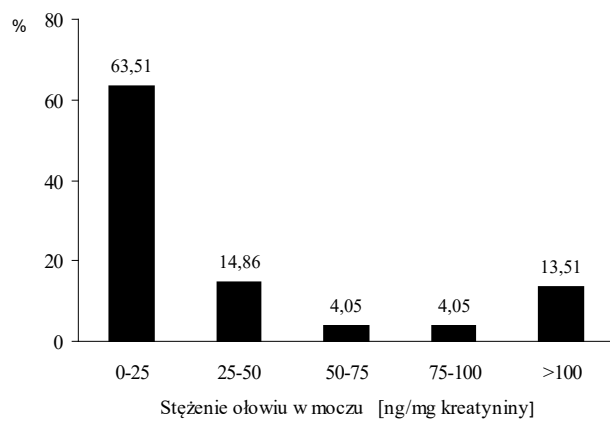
Średnie stężenia ołowiu w moczu kobiet palących, biernie narażonych i niepalących wynosiły odpowiednio: 38,16, 36,24 i 32,74 ng/mg kreatyniny (ryc. 21). Różnice między tymi wartościami były nieistotne statystycznie. Wartości średnich stężeń ołowiu w moczu mieściły się w zakresie stężeń dopuszczalnych (poniżej 100 ng/mg kreatyniny).

Rozkłady stężeń ołowiu w grupach przy uwzględnieniu narażenia na dym tytoniowy nie ulegały istotnym zmianom (ryc. 22).

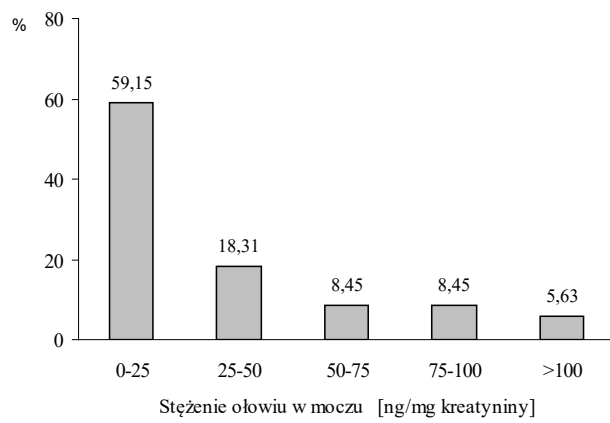
Średnie stężenia kadmu w moczu kobiet palących, biernie narażonych i niepalących wynosiły odpowiednio: 1,86, 1,13 i 1,31 ng/mg kreatyniny (ryc. 24). Różnice między tymi wartościami osiągnęły istotność statystyczną (tab. XXXIII). We wszystkich grupach oznaczono stężenia w moczu wykraczające poza zakres stężeń normalnych (0,11 – 1,1 ng/mg kreatyniny).

Różnice w rozkładach kadmu w moczu w grupach przy uwzględnieniu narażenia na dym tytoniowy osiągnęły istotność na poziomie  $p < 0,05$  dla grupy kobiet palących i niepalących oraz dla grupy kobiet palących i narażonych biernie na dym tytoniowy. Histogramy rozkładów w poszczególnych grupach przedstawia ryc. 23.

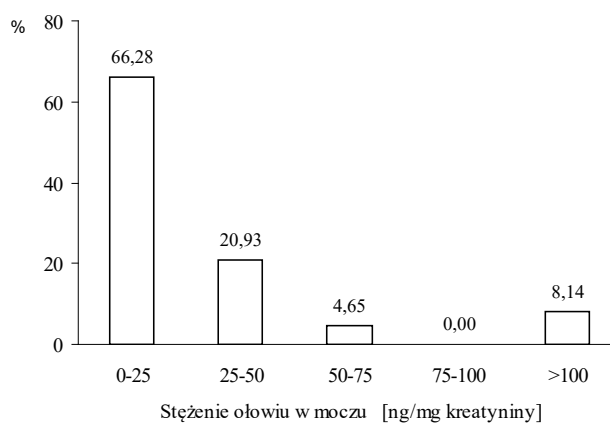
**A**



**B**

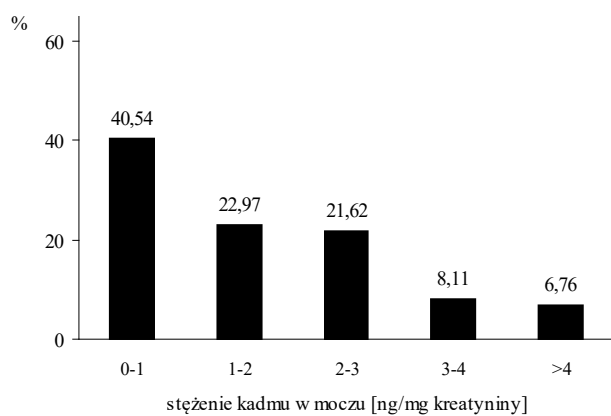


**C**

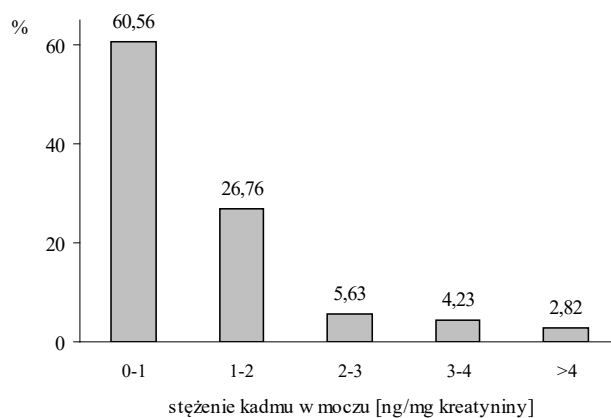


Rycina 22. Histogramy stężeń ołowiu w moczu w grupie kobiet palących (A), biernie narażonych (B) i niepalących (C).

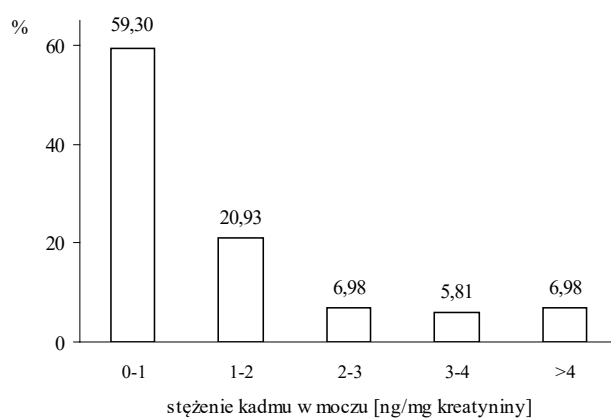
**A**



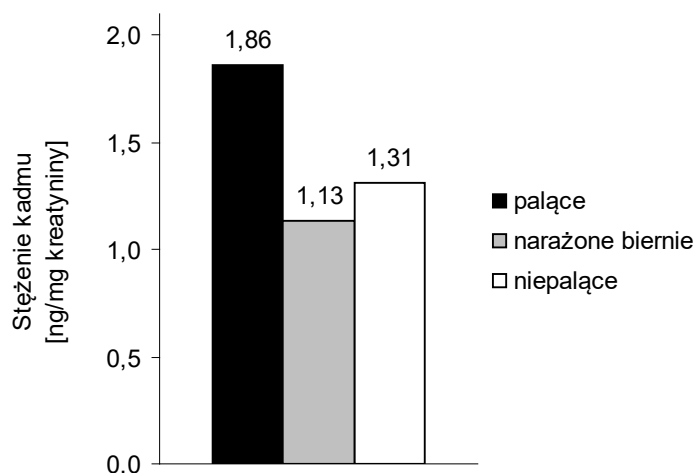
**B**



**C**



Rycina 23. Histogramy stężeń kadmu w moczu kobiet palących (A), biernie narażonych na dym tytoniowy (B) i niepalących (C)



Rycina 24. Średnie stężenia kadmu w moczu kobiet palących, biernie narażonych na dym tytoniowy i niepalących.

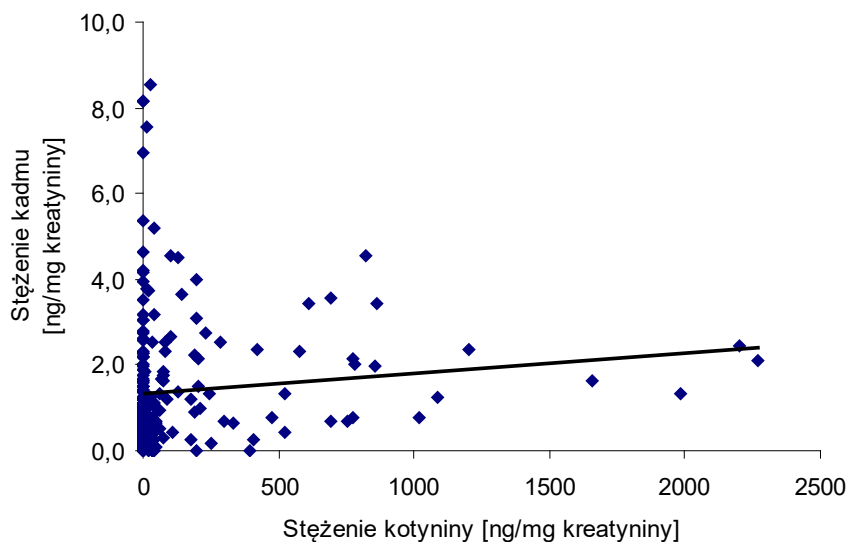
#### 7.4.3 Korelacja pomiędzy stężeniem kadmu i kotyniny w moczu kobiet ciężarnych

Korelacja pomiędzy stężeniem kadmu i kotyniny w moczu badanych kobiet była statystycznie istotna dla całości grupy. Wartości parametrów p dla poszczególnych grup przedstawione są w tabeli XXXIV.

Wykres zależności stężenia kadmu i kotyniny w moczu badanych kobiet przedstawiony na ryc. 25 wskazuje na nieznaczną dodatnią korelację wyrażoną równaniem:  
 stężenie kadmu = 1,368 + 0,0005 x stężenie kotyniny.

Tabela XXXIV. Wartości współczynników istotności p dla korelacji między stężeniem kotyniny i kadmu w moczu badanych kobiet.

Grupa	p
Palące	0,0814
Narażone biernie	0,3400
Nienarażone	0,1787
Razem	0,0127



Rycina 25. Korelacja pomiędzy stężeniem kadmu i kotyniny w moczu badanych kobiet.

#### 7.4.4 Korelacje pomiędzy urodzeniową masą ciała i długością ciała noworodków a aktywnym i biernym narażeniem matek na dym tytoniowy w okresie ciąży

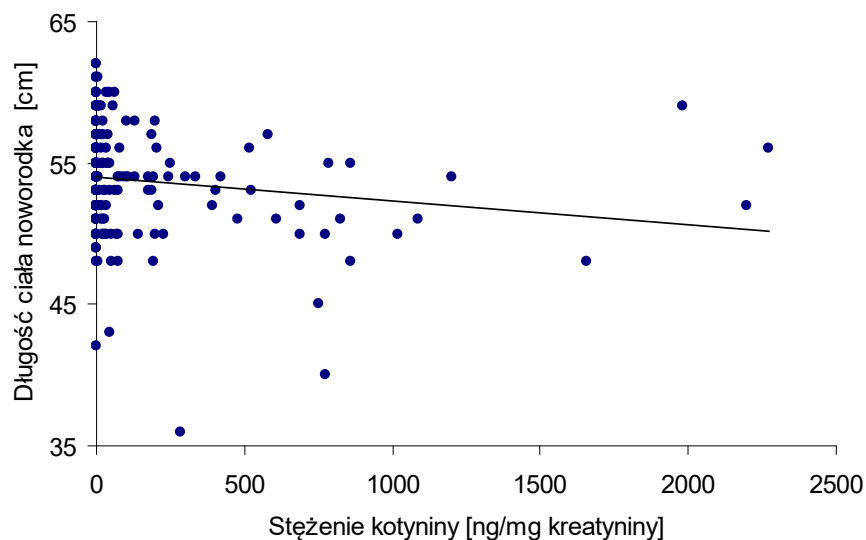
Analiza statystyczna wykazała istotną korelację ( $p < 0,05$ ) pomiędzy długością ciała noworodków i stężeniem kotyniny w moczu badanych kobiet oraz bliską istotności korelację ( $p = 0,0784$ ) pomiędzy urodzeniową masą ciała i stężeniem kotyniny. Po uwzględnieniu narażenia kobiet na dym tytoniowy wartości parametru  $p$  dla badanych korelacji były dalekie od poziomu istotności. Wyniki przedstawione są w tabeli XXXV.

Tabela XXXV. Wartości współczynników istotności dla korelacji między długością ciała i urodzeniową masą ciała noworodków a stężeniem kotyniny w moczu kobiet.

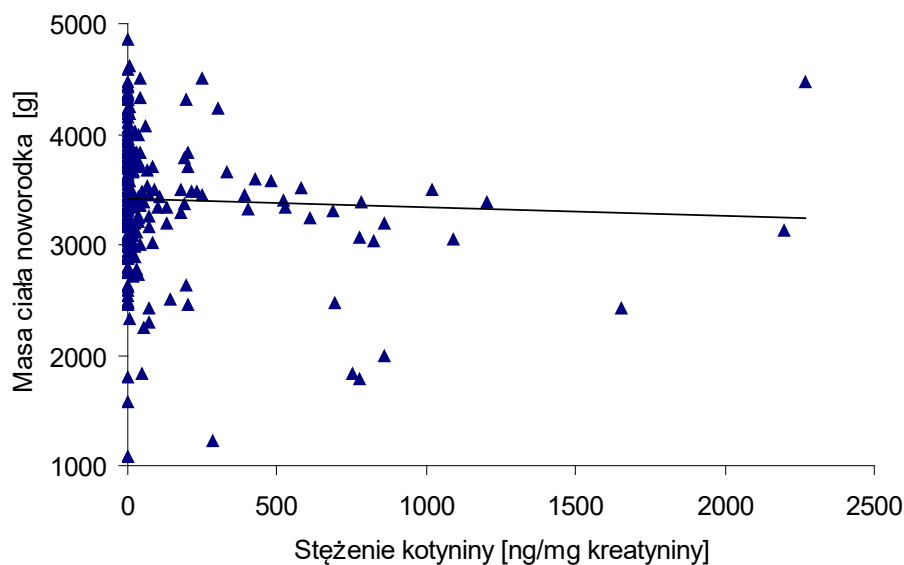
Grupa	Para zmiennych	p
Palące	Długość ciała & Kotynina	0,5476
	Masa ciała & Kotynina	0,6326
Narażone biernie	Długość ciała & Kotynina	0,7643
	Masa ciała & Kotynina	0,1182
Niepalące	Długość ciała & Kotynina	0,2326
	Masa ciała & Kotynina	0,7599
Razem	Długość ciała & Kotynina	0,0046
	Masa ciała & Kotynina	0,0784

Wykres zależności pomiędzy długością ciała noworodków a stężeniem kotyniny przedstawia niewielką ujemną korelację ( $R^2=0,0178$ ), którą przedstawia równanie liniowe: długość ciała noworodka =  $54,061 - 0,0017 \times$  stężenie kotyniny (ryc. 26).

Podobnie na wykresie zależności pomiędzy urodzeniową masą ciała, a stężeniem kotyniny w moczu kobiet widoczna jest niewielka ( $R^2= 0,0016$ ) ujemna korelacja, którą opisuje równanie liniowe: urodzeniowa masa ciała =  $3421,5 - 0,079 \times$  stężenie kotyniny (ryc. 27).



Rycina 26. Wykres korelacji pomiędzy długością ciała noworodków a stężeniem kotyniny w moczu matek.



Rycina 27. Wykres korelacji pomiędzy urodzeniową masą ciała noworodków a stężeniem kotyniny w moczu matek.

#### 7.4.5 Korelacje pomiędzy urodzeniową masą ciała i długością ciała noworodków a stężeniem kadmu w moczu kobiet ciężarnych

Analiza statystyczna nie wykazała istnienia korelacji pomiędzy urodzeniową masą ciała i długością ciała noworodków a stężeniem kadmu w moczu badanych kobiet. Wartości współczynników p dla poszczególnych grup przedstawia tab. XXXVI.

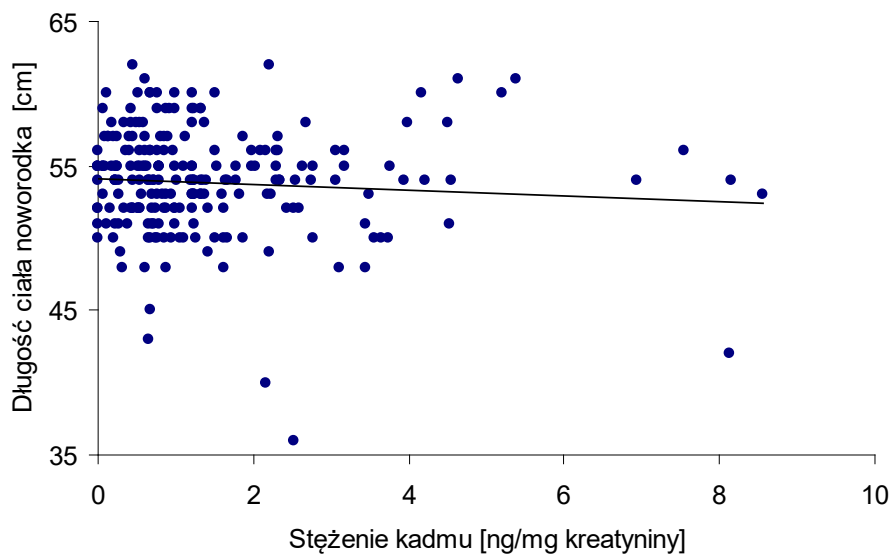
Tabela XXXVI. Wartości współczynników istotności dla korelacji między długością ciała i urodzeniową masą ciała noworodków a stężeniem kadmu w moczu matek.

Grupa	Para zmiennych	p
Palące	Długość ciała & Kadm	0,4163
	Masa ciała & Kadm	0,2009
Narażone biernie	Długość ciała & Kadm	0,2391
	Masa ciała & Kadm	0,4767
Niepalące	Długość ciała & Kadm	0,2751
	Masa ciała & Kadm	0,1694
Razem	Długość ciała & Kadm	0,3545
	Masa ciała & Kadm	0,1925

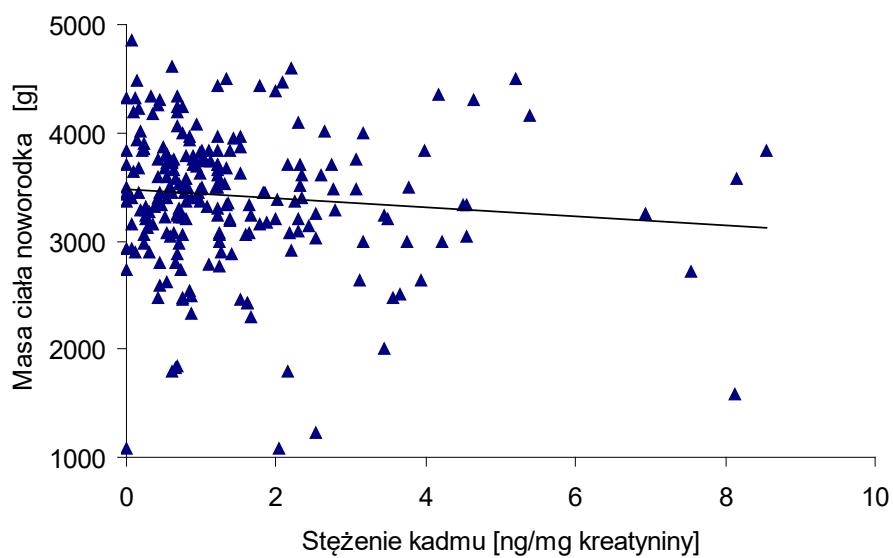
1- korelacje porządku rang Spearmana (zaznaczone korelacje są istotne dla  $p < 0,05$ )

Korelacja pomiędzy długością ciała noworodków a stężeniem kadmu w moczu badanych kobiet była niewielka ( $R^2 = 0,0047$ ). Opisuje je równanie liniowe: długość ciała noworodka =  $54,151 - 0,1962 \times$  stężenie kadmu (ryc. 28).

Podobnie niewielka była korelacja pomiędzy urodzeniową masą ciała, a stężeniem kadmu ( $R^2 = 0,0088$ ), dla której równanie liniowe miało postać: urodzeniowa masa ciała =  $3475 - 41,336 \times$  stężenie kadmu (ryc. 29).



Rycina 28. Korelacja między długością ciała noworodków, a stężeniem kadmu w moczu matek.



Rycina 29. Korelacja między urodzeniową masą ciała noworodków, a stężeniem kadmu w moczu matek.



## 8 Dyskusja

Według danych Banku Światowego Polska należy do krajów, gdzie zwyczaj palenia tytoniu wśród młodych ludzi, a szczególnie kobiet jest stosunkowo duży. Obserwowany w ostatnich latach spadek odsetka palących młodych kobiet (z 20 % w latach 1997-2001 do 17 % w latach 2002–2005) jest prawdopodobnie skutkiem wprowadzenia w życie „Ustawy o ochronie zdrowia publicznego i przeciwdziałaniu skutkom palenia tytoniu” z 1995 roku z poprawkami z 1999 roku, a także wzrostem świadomości społeczeństwa dotyczącym skutków zdrowotnych palenia tytoniu. Odsetek kobiet palących tytoń w ciąży jest wciąż dosyć duży i wynosi 18-28 % [Jaakkola et al., 2001; Adamek i wsp., 2004]. Wiadomo, że ciąża jest jednym z czynników, które wpływają na decyzję kobiet o rezygnacji z palenia papierosów. Niewiele jest opracowań opisujących skalę tego zjawiska. W USA w latach 1996 – 2002 odsetek kobiet palących tytoń, które nie zrezygnowały z tego nałogu przez cały okres ciąży wahał się od 50 do 60 % [Cornelius and Day, 2000; Pickett et al., 2002; Cogswell et al., 2003; Pickett et al., 2003]. Z polskich doniesień wynika, że tylko 5 % kobiet zaprzestało palenia w czasie ciąży, a około 60 % jedynie ograniczało dzienną ilość wypalanych papierosów [Florek i wsp., 2004c]. Jako główny czynnik decydujący o paleniu i narażeniu kobiet ciężarnych opisywany w literaturze najczęściej podawano sytuację socjoekonomiczną kobiet. Publikacje przedstawiające badania przeprowadzone w Polsce podają, że w grupie kobiet palących tytoń w ciąży przeważały kobiety posiadające wykształcenie zawodowe (40,1 %) i podstawowe (29,2 %), w wieku do 25 roku życia (47 %), pracujące w czasie ciąży (86 %), mężatki (78,5 %), o dochodach poniżej 500 zł na jednego członka rodziny (50,2 %) [Adamek i wsp., 2004]. Status socjoekonomiczny był też wskazywany jako decydujący czynnik wpływający na palenie i narażenie bierne na dym tytoniowy kobiet w ciąży w innych państwach. Odsetek kobiet palących tytoń w ciąży w USA pod koniec lat 90 wynosił średnio 20,4 %, a w populacji o niskim statusie socjoekonomicznym wzrastał nawet do ok. 50 % [Cornelius and Day, 2000]. Publikacje opisujące ten problem w USA podają, że najczęściej w ciąży paliły kobiety bardzo młode (poniżej 19 lat), niezamężne i niemające stałego partnera, gorzej wykształcone, posiadające najniższe dochody, pracujące poza miejscem zamieszkania [Cornelius and Day, 2000; Pickett et al., 2002; Pickett et al., 2003; Ventura et al., 2003; Jaakkola and Gissler, 2004]. Istotnym czynnikiem korelującym z odsetkiem kobiet palących tytoń w USA było miejsce zamieszkania i środowisko. Najczęściej ciężarne kobiety paliły tytoń, gdy

były mieszkankami biednych dzielnic, w ich rodzinie były osoby palące tytoń (mąż, partner, inni domownicy) i palenie tytoniu było akceptowane przez otoczenie [Pickett et al., 2002]. W niektórych badaniach potwierdzono, że na palenie papierosów przez kobiety ciężarne wpływały stresujące warunki w miejscu zamieszkania (związane z niskim statusem socjoekonomicznym) i w pracy (częściej paliły w ciąży kobiety mające stresującą i mało satysfakcjonującą pracę) [Pickett et al., 2002]. Badania przeprowadzone w Finlandii potwierdziły, że młody wiek, brak partnera i niskie wykształcenie to czynniki zwiększające prawdopodobieństwo, że kobieta w okresie ciąży będzie palić tytoń [Jaakkola et al., 2001].

W przedstawionej pracy przeprowadzono badania na trzech dobranych, zbliżonych liczebnością grupach kobiet: palących tytoń, narażonych biernie na środowiskowy dym tytoniowy oraz niepalących i nienarażonych na ETS w okresie ciąży. Na podstawie danych ankietowych wykazano, że podobnie jak w cytowanych wcześniej pracach najbardziej istotne czynniki wpływające na palenie tytoniu i narażenie na ETS kobiet w czasie ciąży były związane z ich środowiskiem i statusem socjoekonomicznym. Największy udział kobiet palących przez cały okres ciąży odnotowano w grupie gdzie mąż/partner kobiety palił tytoń (46,7 %) i był zależny od ilości dziennie wypalanych papierosów (w grupie kobiet, których partnerzy wypalali 11-15 papierosów dziennie odsetek ten wzrastał do około 60 %). Następnym w kolejności czynnikiem istotnie korelującym z paleniem kobiet i ich biernym narażeniem na dym tytoniowy w okresie ciąży było wykształcenie. W grupie kobiet palących w ciąży odnotowano największy odsetek przyszłych matek z wykształceniem zawodowym (57,8 %) oraz najmniejszy odsetek z wykształceniem wyższym (18,0 %). Równocześnie kobiety narażone biernie na środowiskowy dym tytoniowy najczęściej miały wykształcenie wyższe i średnie (odpowiednio 41,0 % i 36,3 %). Czynnikiem wykazującym podobną korelację z paleniem tytoniu i narażeniem na ETS kobiet w czasie ciąży były dochody na członka rodziny. Pomimo tego, że wyroby tytoniowe są drogie i uzależnienie od tytoniu stanowi duży wydatek obciążający budżet domowy, to właśnie w rodzinach o najniższych dochodach (< 500 zł na członka rodziny) najczęściej potwierdzano palenie kobiet ciężarnych (48,3 %). Nie stwierdzono natomiast korelacji pomiędzy paleniem kobiet w ciąży i narażeniem na ETS a pozostałymi czynnikami socjoekonomicznymi wymienionymi w kwestionariuszu (miejsce zamieszkania, aktywność zawodowa).

W oparciu o dane ankietowe potwierdzono, że badane kobiety ciężarne były świadome szkodliwości palenia na rozwijający się płód i duża część z nich uzyskała informacje na

ten temat od lekarza lub położnej. Nie potwierdzono jednak, aby świadomość kobiet, czy rozmowa z lekarzem/położną na temat szkodliwości palenia i biernego narażenia na dym tytoniowy na rozwijający się płód wpływały na rezygnację z nałogu oraz zmniejszenie narażenia biernego badanych kobiet. Świadczyć to może jedynie o tym, że badane kobiety nie do końca zdawały sobie sprawę z rzeczywistego ryzyka związanego z paleniem tytoniu w ciąży lub potrzebowały więcej wsparcia ze strony otoczenia (rodziny, lekarza). Wyniki badań przeprowadzonych we Francji i Portugalii potwierdzają skuteczność programów wsparcia kobiet ciężarnych w rezygnacji z palenia tytoniu, w których edukacja i zaangażowanie dotyczy również partnerów kobiet, a rozmowy i interwencje lekarza nie ograniczają się jedynie do pierwszej wizyty, lecz są kontynuowane przez cały okres ciąży i 6 miesięcy po urodzeniu dziecka [Errard-Lalande and Halimi, 2005; Ferreira-Borges, 2005]. Dodatkowym zaleceniem cytowanych autorów było wykonywanie w trakcie kolejnych wizyt u lekarza badania abstynencji od wyrobów tytoniowych przez oznaczenie na przykład stężenia tlenu węgla - biomarkera narażenia na dym tytoniowy w powietrzu wydechowym kobiet. Stwierdzono, że w grupie objętej tego typu programem udział kobiet, które zrezygnowały z palenia tytoniu w ciąży wynosił 33,3 %, w porównaniu z 8,3 % w grupie nie objętej tego typu wsparciem [Ferreira-Borges, 2005].

Potwierdza to, że w wielu krajach (także w Polsce) skuteczność metod, których celem jest ograniczenie palenia tytoniu przez kobiety w okresie ciąży nie jest wystarczająca i wymaga większego zaangażowania zarówno ze strony osób mających na celu szeroko pojętą edukację (lekarzy, pielęgniarek, nauczycieli), jak i całego społeczeństwa, a w szczególności najbliższego otoczenia przyszłych matek (partnerów, rodziny). Uzależnienie od nikotyny jest jednym z najsilniejszych nałogów, a ciąża w wielu przypadkach znacznie ogranicza możliwość wsparcia farmakologicznego kobiet w podejmowanych próbach rezygnacji z palenia tytoniu. Nieliczne doniesienia proponują nikotynową terapię zastępczą dla kobiet w ciąży, jako alternatywę dla aktywnego palenia mającą przynieść mniej szkód dla rozwoju płodu niż kontynuacja palenia tytoniu przez matkę (przez eliminację narażenia płodu na wszystkie poza nikotyną toksyczne składniki dymu tytoniowego) [Hotham et al., 2005; Le Houezec, 2005]. Jednak brak informacji na temat szerszych badań, które potwierdzałyby zalety tego typu terapii. Większe zaangażowanie ze strony partnerów kobiet, rodziny, lekarza, położnej mogłoby wpłynąć na zmniejszenie odsetka kobiet palących tytoń i narażonych na środowiskowy dym tytoniowy w okresie ciąży.

Na podstawie wyników uzyskanych w przedstawionej pracy można stwierdzić, że uświadamianie i informowanie przyszłych matek o szkodliwym działaniu składników dymu tytoniu na rozwijający się płód przynosi efekty. Kobiety palące przed ciążą najczęściej (w 79,7 %) rezygnowały z tego nałogu w pierwszym trymestrze (prawdopodobnie, gdy dowiadywały się, że są w ciąży). Potwierdza to, że ciąża była czynnikiem istotnym w podjęciu decyzji o rezygnacji z palenia tytoniu. Pickett opisywał zjawisko rezygnacji kobiet z nałogu palenia tytoniu w ciąży. Na podstawie przeprowadzonych badań w USA wykazał, że spośród kobiet, które przestały palić tytoń w ciąży najliczniejszą grupą były kobiety, którym się to udało w pierwszym trymestrze ciąży (71 %). 21 % kobiet rezygnowało z palenia tytoniu w drugim, a 8 % w trzecim trymestrze ciąży. Niektóre kobiety podejmowały próby rezygnacji z palenia tytoniu wielokrotnie [Pickett et al., 2003]. Niektórzy autorzy opisywali, że kobietom, które nie zrezygnowały z palenia tytoniu na początku ciąży było dużo trudniej zrezygnować z tego nałogu w późniejszych miesiącach [Cornelius and Day, 2000; Dempsey et al., 2002; Pickett et al., 2003].

Kolejnym pozytywnym objawem przemawiającym za skutecznością akcji edukacyjnych było to, że kobiety, które nie zrezygnowały z palenia tytoniu w okresie ciąży podały w kwestionariuszu, że ograniczyły palenie i wypalały mniej tytoniu dziennie niż przed zajściem w ciążę. Prawie połowa (49,3 %) kobiet palących w ciąży podała w ankiecie, że paliła tylko okazjonalnie. Ze względu na to, że stężenie kotyniny w moczu nie wykazuje ścisłej korelacji z ilością wypalanych tytoniu, a jedynie potwierdza fakt aktywnego palenia lub narażenia na dym tytoniowy, trudno jest potwierdzić badaniem laboratoryjnym informacji o zmniejszeniu ilości wypalanych tytoniu.

W niektórych publikacjach opisywano, że kobiety w ciąży często palą mniejsze ilości tytoniu w porównaniu z okresem przed ciążą [Dempsey et al., 2002; Cogswell et al., 2003; Pickett et al., 2003]. W badaniach przeprowadzonych w USA wykazano, że ograniczenie ilości wypalanych papierosów przez kobiety ciężarne zmniejsza ryzyko niekorzystnych skutków palenia tytoniu, a odsetek dzieci z niską masą urodzeniową malał w grupie, gdzie matki paliły mniej papierosów dziennie. Jednak jednoznacznie określono, że nie ma „bezpiecznego poziomu palenia” i każda ilość wypalanych przez matkę papierosów oraz bierne narażenie na ETS wywiera niekorzystny wpływ na rozwijający się płód [Himmelberger et al., 1978; Ventura et al., 2003].

Istnieją różne metody oceny palenia i biernego narażenia na ETS opisywane w literaturze. Spośród nich praktycznie żadna nie jest idealna i każda z nich jest obciążona pewnym błędem.

Badania ankietowe, najprostsze, niewymagające pobierania płynów biologicznych i wykonywania drogich oznaczeń laboratoryjnych są zwykle najpopularniejsze i stosowane do szerokich badań epidemiologicznych oraz badań, w których poszukuje się przyczyn danego zjawiska w narażeniu na składniki dymu tytoniowego kilka – kilkanaście lat wcześniej [Ventura et al., 1998; Henderson et al., 2001; Doyle et al., 2003; Genbacev et al., 2003; Hypponen et al., 2003; Martin et al., 2003; Sorensen et al., 2004; Windham et al., 2004; Chen et al., 2005; Diguët et al., 2005; Martin et al., 2005; Olson et al., 2005; Salam et al., 2005]. W ten sposób na przykład badano związek pomiędzy wzrostem częstości złamań kości u dzieci a ich narażeniem na składniki dymu tytoniowego w okresie życia płodowego [Jones et al., 2005].

Badania wiarygodności wyników ankietowych dotyczących palenia tytoniu i narażenia biernego na środowiskowy dym tytoniowy wykazały, że można uznać je za prawdziwe w 80 – 96 % [McLaughlin et al., 1987; Piekoszewski i Florek, 2001]. Osoby ankietowane mogą podawać nieprawdziwe dane (nie informując o paleniu lub nie potrafiąc prawidłowo ocenić narażenia na ETS). Dla eliminacji tego błędu w poniższej pracy przeprowadzono badania stężenia kotyniny w moczu kobiet – jednego z najczęściej zalecanych biomarkerów narażenia na dym tytoniowy. Należy jednak wziąć pod uwagę, że oznaczenie stężenia kotyniny odzwierciedla narażenie w przeciągu 3 dni od oddania moczu do badania (jest to uwarunkowane biologicznym okresem półtrwania kotyniny wynoszącym około 17 h). Jeżeli badana kobieta nie paliła tytoniu i nie była narażona biernie w czasie dłuższym niż 3 dni, wówczas wynik wskazywał, że powinna być w grupie nienarażonych na dym tytoniowy. W rzeczywistości nie wyklucza to, że wcześniej mogła palić tytoń lub być narażona na środowiskowy dym tytoniowy. Potwierdzają to dokonane badania, w których część kobiet w kwestionariuszu zadeklarowała przynależność do grupy palących w ciąży lub biernie narażonych, a wyniki kotyniny wskazywały na brak narażenia. W takich przypadkach o przynależności do danej grupy decydowały informacje uzyskane w kwestionariuszu. Równocześnie w grupie kobiet podających, że nie były narażone i nie paliły tytoniu były takie, u których stwierdzono podwyższone stężenia kotyniny. Wówczas o przynależności do danej grupy decydował wynik oznaczenia kotyniny. Wyniki ankiety, które dodatkowo weryfikowano badaniem laboratoryjnym pozwoliły na podział

kobiet na grupy nienarażonych i niepalących, biernie narażonych oraz palących tytoń w czasie ciąży. Obie metody uzupełniając się nawzajem pozwoliły na lepszą wiarygodność, niż zastosowanie każdej z nich osobno. Tego typu ocena w oparciu o różne niezależne metody równocześnie zalecana była też przez innych autorów [Stevens and Munoz, 2004].

Kotyninę w moczu kobiet oznaczano jedną z najczęściej opisywanych metod – wysokosprawną chromatografią cieczą z detektorem spektrofotometrycznym (HPLC-UV). Technika ta cechuje się wystarczającą do tego typu oznaczeń czułością. Do oznaczeń kotyniny pobierano od kobiet jednorazową porcję moczu w momencie zgłoszenia się do szpitala przed porodem. Dla uwzględnienia zagęszczenia lub rozcieńczenia moczu oznaczone stężenia kotyniny standaryzowano na stężenie kreatyniny. Niektórzy autorzy przyjmują, że nie jest to konieczne dla oceny narażenia na dym tytoniowy [Jacob et al., 2005], a liczne prace podają wartości kotyniny w moczu w jednostkach masy na objętość (np. ng/ml) bez standaryzacji [Barlow et al., 1987; Parviainen and Barlow, 1988; Ubbink et al., 1993; Pach i Piekoszewski, 2000; Sobczak i wsp., 2004; Jacob et al., 2005]. Takie podejście jakkolwiek praktyczne może wiązać się z pewnym błędem i niedokładnością w obliczeniach. Dla uzyskania dokładnych obliczeń standaryzacja moczu jest niezbędna.

Średnie stężenie kotyniny w grupie kobiet palących tytoń w czasie ciąży wynosiło 462,8 ng/mg kreatyniny, biernie narażonych 18,9 ng/mg kreatyniny, a niepalących było poniżej czułości metody (<10 ng/ml). Wartości te były zgodne z podawanymi w literaturze, lecz mieściły się w przedziale poziomów niskich przyjmowanych za wartości graniczne dla poszczególnych grup narażenia. Wynikać to może z faktu, że część kobiet w grupie palących i biernie narażonych miała bardzo niskie stężenie kotyniny w moczu, co może być tłumaczone tym, że kobiety, które paliły tytoń starały się ograniczać liczbę wypalanych papierosów. Większość z nich paliła mniej niż 5 papierosów dziennie, a jedynie 6,3 % wypalała dziennie więcej niż 15 papierosów. Dla porównania opisywane w innej pracy średnie stężenia kotyniny w moczu kobiet ciężarnych, które paliły tytoń i były narażone na ETS wynosiły odpowiednio: 837, 0 ± 1324,5 ng/mg kreatyniny oraz 28,9 ± 14,9 ng/mg kreatyniny [Florek i wsp., 2004a]. Niskie stężenia kotyniny w moczu mogą, ale nie muszą jednoznacznie oznaczać, że badane kobiety ograniczyły palenie w ciąży. Korelacja pomiędzy stężeniem kotyniny w moczu a ilością wypalanych papierosów jest niewielka

(współczynnik korelacji waha się od 0,3 do 0,6), a niektórzy wręcz potwierdzają jej brak [Gomółka i wsp., 2003; Yang et al., 2001].

Obniżenie stężeń kotyniny było interpretowane przez niektórych badaczy jako skutek przyspieszonego metabolizmu nikotyny i jej metabolitów, jaki obserwowano u kobiet ciężarnych [Dempsey et al., 2002]. Wykazano, że w ciąży zmieniały się parametry farmakokinetyczne nikotyny i kotyniny. Klirens nikotyny rósł o 40 %, a kotyniny nawet o 140 %. Okres półtrwania kotyniny skracał się ponad dwukrotnie i wynosił 8,8 h [Dempsey et al., 2002]. Różni autorzy opisywali, że u kobiet ciężarnych zmianie ulegał nie tylko metabolizm nikotyny, ale także leków, na przykład zwiększał się klirens metadonu, fenytoiny, karbamazepiny, czy penicyliny [Pond et al., 1985; Loebstein et al., 1997]. Dokładny mechanizm tych zmian nie jest poznany. Opisane efekty wywołane mogą być zwiększonym przepływem krwi przez wątrobę lub indukcją enzymów wątrobowych u kobiet ciężarnych. Poza tym za przyspieszenie metabolizmu ksenobiotyków może być odpowiedzialny metabolizm łożyskowy. Jest to narząd, który podobnie jak wątroba wykazuje dużą aktywność enzymów, które biorą udział w procesach metabolicznych.

Po uwzględnieniu opisanych czynników, które mogą wpływać na parametry kinetyczne kotyniny zasadną staje się propozycja obniżenia wartości stężeń kotyniny w moczu kobiet ciężarnych, jakie przyjmowane są dla rozróżnienia grupy biernie narażonej i palącej tytoń.

Do oznaczeń kadmu i ołowiu zastosowano metodę spektrometrii absorpcji atomowej z kuwetą grafitową (AAS-GF). Jest to metoda referencyjna dla oznaczeń pierwiastków śladowych, najczęściej stosowana do tego typu badań [Korpela et al., 1986; Kuhnert et al., 1987a; Truska et al., 1989; Baranowska i wsp., 1992; Ong et al., 1993; Baranowska, 1995; Nashashibi et al., 1999; Durska, 2001; Florek i wsp., 2004b; Fukui et al., 2004; Godshalk et al., 2005]. Uzyskane wartości stężeń w moczu standaryzowano na kreatyninę (podobnie jak przy oznaczeniach kotyniny) dla uwzględnienia zmian gęstości moczu.

Niewiele jest doniesień opisujących badania metali ciężkich w moczu. Większość autorów opisywała wyniki stężeń ołowiu i kadmu w krwi odnosząc je do ogólnie dostępnych zakresów dopuszczalnych i najczęściej spotykanych w populacji. Niektórzy wręcz twierdzili, że oznaczenia tych metali w moczu nie mają żadnej wartości diagnostycznej i trudno takie wyniki interpretować ze względu na brak korelacji ze stężeniami w krwi. Istnieją czynniki, które mogą wpływać na wyniki stężeń ołowiu

i kadmu w moczu i nie muszą być związane z aktualnym narażeniem na te metale. Zarówno kadm, jak i ołów wydalone są głównie drogą nerkową. Wydalanie tych metali z moczem zależy od płci, wieku, masy ciała, sprawności nerek, przepływu nerkowego, narażenia zawodowego i środowiskowego. Czynniki opisywanymi jako istotne w wydalaniu ołowiu i kadmu z moczem są też palenie tytoniu i ciąża [Bittnerova et al., 1992; Mortada et al., 2002; Sirivarasai et al., 2002; Mortada et al., 2004; Ikeda et al., 2005; www.inchem.org].

Badania korelacji pomiędzy stężeniami metali (kadmu i ołowiu) w moczu i w krwi prowadzone przez Japończyków wykazały, że taka korelacja istnieje dla wyższych stężeń tych metali w krwi, gdy stężenia kadmu osiągały wartości powyżej 1 µg/l, a ołowiu powyżej 50 µg/l [Higashikawa et al., 2000].

Aby uznać, że uzyskane wyniki oznaczeń metali (ołowiu i kadmu) w moczu odzwierciedlają wpływ palenia tytoniu i narażenia na środowiskowy dym tytoniowy należałoby najpierw odpowiedzieć na pytanie: czy grupa badana jest wystarczająco jednorodną grupą, żeby wykluczyć wpływ innych czynników. Warunki te są w większości spełnione. Badaną grupę stanowiły kobiety ciężarne, których średnia masa ciała wynosiła  $60,6 \pm 10,0$  kg, nieleczone przewlekłe i nieuskarżające się na żadne choroby, które mogłyby wpływać na pracę nerek oraz nienarażone zawodowo na metale ciężkie. Jedynym czynnikiem mogącym różnicować badaną grupę pod względem narażenia na ołów i kadm było miejsce zamieszkania (52 % było mieszkankami Poznania, 24,7 % innego miasta, 23,3 % mieszkało na wsi). Nie stwierdzono jednak, aby miejsce zamieszkania dało istotne różnice w wynikach przeprowadzonych badań (różnice nieistotne statystycznie – nie były prezentowane w wynikach). Można przyjąć, że w badanej grupie narażenie środowiskowe było równomierne (brak osób zamieszkujących tereny wysoko zanieczyszczone – w pobliżu zakładów przemysłowych, hut, spalarni śmieci i innych emitorów).

Wyniki oznaczeń kadmu w moczu kobiet palących, biernie narażonych i niepalących wynosiły odpowiednio  $1,86 \pm 1,58$  ng/mg kreatyniny,  $1,13 \pm 1,24$  ng/mg kreatyniny i  $1,31 \pm 1,5$  ng/mg kreatyniny. Różnice między tymi wartościami były istotne statystycznie.

Wartości te były zbliżone do opisywanych w innych publikacjach w Polsce i na świecie. Najniższe oznaczane stężenia kadmu w moczu kobiet ciężarnych niepalących i nienarażonych zawodowo na ten metal odnotowano w Szwecji i wynosiły u kobiet w pierwszym trymestrze ciąży 0,31 ng/ml (0,11-1,1 ng/ml), przy czym pod koniec ciąży



wzrastały o 40-50 %. Największy wzrost dotyczył kobiet starszych i tych, które były w ciąży po raz kolejny [Akesson et al., 2002].

W badaniach w Polsce oznaczane stężenia kadmu w moczu kobiet ciężarnych w ostatnim trymestrze ciąży wynosiły dla grupy biernie narażonych na dym tytoniowy  $1,1 \pm 2,2$  ng/ml ( $0-2,5$  ng/ml), a dla palących tytoń  $1,6 \pm 2,6$  ng/ml ( $0-11,5$  ng/ml) [Florek i wsp., 2004b].

W Tajlandii w badaniach populacji nienarażonej stwierdzono średnie stężenia kadmu w moczu wynoszące  $0,87$  ng/mg kreatyniny [Sirivarasai et al., 2002]. W Korei podobne badania wykazały średnie stężenia kadmu w moczu  $1,33$   $\mu$ g/l [Moon et al., 2003]. Najwyższe stężenia kadmu w moczu kobiet nienarażonych ( $3,2$  ng/mg kreatyniny) odnotowano w Japonii [Ezaki et al., 2003].

Średnie stężenia ołowiu w moczu kobiet palących, biernie narażonych i niepalących wynosiły odpowiednio  $38,16 \pm 59,1$  ng/mg kreatyniny,  $36,24 \pm 50,11$  ng/mg kreatyniny i  $32,74 \pm 53,48$  ng/mg kreatyniny. Różnice te nie osiągnęły istotności statystycznej.

Na podstawie przeglądu literatury i nielicznych prac dotyczących oznaczeń ołowiu w moczu można przyjąć, że oznaczone stężenia były dosyć wysokie, choć mieściły się w zakresach stężeń dopuszczalnych dla populacji nienarażonej zawodowo na ołów (poniżej  $50$   $\mu$ g/l) [Jakubowski, 1997; Jakubowski, 2004].

Najniższe stężenia ołowiu w moczu w porównaniu z oznaczanymi w innych rejonach świata odnotowano w Azji. Badania przeprowadzone w Japonii opisują uzyskane stężenia ołowiu w moczu kobiet niepalących i nienarażonych na środowiskowy dym tytoniowy na poziomie  $1,28$  ng/mg kreatyniny [Fukui et al., 2004]. W Tajlandii średnie stężenie ołowiu dla populacji nienarażonej wynosiło  $2,54$  ng/mg kreatyniny [Sirivarasai et al., 2002], w Korei  $1,33$   $\mu$ g/l [Moon et al., 2003], a w innych badaniach populacji południowej Azji stwierdzono stężenia ołowiu w moczu w granicach  $2,1-7,5$  ng/mg kreatyniny [Ikeda et al., 2000]. W kolejnej pracy podane średnie stężenie ołowiu w moczu w populacji nienarażonej w Japonii wynosiło  $12$   $\mu$ g/l [Jakubowski, 1997].

W USA badania stężeń ołowiu w moczu w populacji nienarażonej na ten metal wykazały u mężczyzn  $35 \pm 21$   $\mu$ g/l ( $36,19 \pm 21,72$  ng/mg kreatyniny), a u kobiet  $28 \pm 19$   $\mu$ g/l ( $28,96 \pm 19,65$  ng/mg kreatyniny) [www.inchem.org].

Brak korelacji pomiędzy stężeniem kadmu i ołowiu może wskazywać na różne źródła i drogi absorpcji tych pierwiastków. Kadm w niewielkim stopniu (ok. 3-7 %) wchłania się przez przewód pokarmowy z pożywieniem. Dlatego palenie tytoniu jest istotnym źródłem tego metalu w organizmie. Ołów absorbowany jest przez przewód pokarmowy

w większym stopniu (5-10 %), dlatego dieta jest głównym źródłem ołowiu. Wyższe stężenia ołowiu w porównaniu do kadmu mogą też być tłumaczone większym skażeniem środowiska.

We wcześniejszej części dyskusji wykazano, że kadm to pierwiastek, którego istotnym źródłem narażenia jest dym tytoniowy. Można się więc spodziewać istnienia zależności pomiędzy stężeniem kotyniny i kadmu w moczu. Do wyznaczenia tej korelacji wybrano kobiety palące tytoń i biernie narażone na dym tytoniowy, u których oznaczone stężenia kotyniny były większe od wartości zerowej.

Otrzymany współczynnik korelacji był niewielki. Może to wynikać na przykład stąd, że kinetyka obu substancji jest różna.

Kotynina jest metabolitem nikotyny. Przyjmując, że zawartość nikotyny w różnych papierosach jest zbliżona, jej biodostępność i ilość wchłonięta do krwiobiegu zależy od pH dymu (rośnie ze wzrostem pH) i od głębokości zaciągania się dymem. Dystrybucja i metabolizm nikotyny oraz wydalanie nikotyny i jej metabolitów z moczem zależą od różnych czynników. Należą do nich: płeć, wiek, masa ciała, aktywność enzymów biorących udział w biotransformacji nikotyny (głównie izoenzymu cytochromu P450-CYP 2A6 oraz enzymów biorących udział w sprzęganiu z kwasem glukuronowym i powstawaniu N-glukuronidów). Na te czynniki wpływają z kolei różnice osobnicze (fetotyp, genotyp). Cięża dodatkowo może przyspieszać metabolizm nikotyny i kotyniny [Dempsey et al., 2002].

Losy kadmu w organizmie zależą od aktywności metalotioneiny, sprawności nerek i stanu gospodarki biopierwiastków (m.in. cynku, miedzi, wapnia i magnezu). Metal ten ma dużą objętość dystrybucji i kumulowany jest w tkankach (głównie w nerkach, wątrobie i w mięśniach), ale ciąża może być czynnikiem sprzyjającym uwalnianiu kadmu z tkanek do krwi i jego wydalanie z moczem może się zwiększyć bez aktualnego narażenia na ten pierwiastek. Wzrost wydalania kadmu u kobiet ciężarnych odnotowali Szwedzi dokonując pomiaru stężenia kadmu w pierwszym i ostatnim trymestrze ciąży [Akesson et al., 2002].

Opisane czynniki mogą tłumaczyć niewielką korelację ( $R^2=0,6$ ) pomiędzy kadmem a kotyniną pomimo tego, że ich źródłem było narażenie na dym tytoniowy. Duża liczba obserwacji pozwoliła na osiągnięcie istotności tej korelacji na poziomie  $p=0,01272$ .

Komplikacje okołoporodowe są obok poronień, porodu przedwczesnego, niskiej masy urodzeniowej i obniżonej kondycji noworodka wyrażonej w skali Apgar najczęściej wymienianym czynnikiem ryzyka u kobiet palących tytoń w ciąży [Kukla et al., 2001;

Cogswell et al., 2003; Chong et al., 2004; Jaakkola and Gissler, 2004; Nakamura et al., 2004; Diguët et al., 2005; Granga and Pannier, 2005]. Stwierdzone istotne różnice w przebiegu porodu w grupie kobiet palących tytoń w ciąży w porównaniu z niepalącymi i narażonymi biernie na środowiskowy dym tytoniowy potwierdzają obserwacje wymienionych wcześniej autorów o niekorzystnym wpływie palenia tytoniu na kobiety ciężarne. W grupie palącej tytoń odsetek kobiet rodzących siłami natury był najmniejszy (27,0 %), a rodzących przez cięcie cesarskie i ze wspomaganiami – największy (odpowiednio 52,7 % i 20,3 %).

W badanym materiale ok. 50 % noworodków urodziło się na drodze cięcia cesarskiego. Jako że odsetek ten odbiega od średnich wartości dla Polski oraz dla Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego (GPSK) w Poznaniu, gdzie porody się odbyły, należy te dane skomentować. Po pierwsze GPSK jest szpitalem opieki trzeciego stopnia referencyjności, stąd w szpitalu gromadzone są przypadki najcięższej patologii z całego regionu, co daje średni odsetek cięć cesarskich w kolejnych latach ok. 26-28 %. Po drugie omawiana patologia dotycząca palenia tytoniu łączy się z większym odsetkiem przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, porodów przedwczesnych, hipotrofii płodu, przedwczesnego oddzielenia się łożyska oraz wad rozwojowych płodu (również, jeśli osobą palącą jest ojciec dziecka). Wyrazem tego są wskazania do cięcia cesarskiego, które ustalano w grupie analizowanych pacjentek. Kolejno według częstości były to: objawy zagrożenia płodu, brak postępu porodu, hipotrofia płodu oraz prognostycznie niekorzystne warunki do prowadzenia płodu drogami natury, co łączy się z nieprawidłowym położeniem płodu. Dwa spośród wymienionych wskazań w ewidentny sposób można łączyć z problemem palenia tytoniu, bowiem dym tytoniowy ma bardzo niekorzystny wpływ na rozwój i funkcję łożyska. Z jednej strony może on zaburzać wczesne etapy zagnieżdżenia poprzez niekorzystny wpływ na naczynia krwionośne, z drugiej natomiast na bazie tego samego mechanizmu negatywnie wpływa na system krążenia maczyno-płodowego, ograniczając jakość wymiany łożyskowej. W tym właśnie można upatrywać wzrost częstości objawów zagrożenia życia płodu, przedwczesnego oddzielenia się łożyska, czy hipotrofii płodu. Kolejnym elementem, który wypływa ze zwiększonego odsetka cięć cesarskich jest dłuższy okres hospitalizacji matek po operacji i co się z tym łączy pozostających z nimi noworodków. Średni czas hospitalizacji po porodzie samoistnym wynosi bowiem 48 godzin od pierwszego rana po porodzie, a po cesarskim cięciu pacjentka opuszcza szpital w cztery dni od pierwszego rana po cięciu (trzecia i piąta doba).

Podobnie jak w innych pracach opisujących palenie tytoniu przez kobiety w okresie ciąży [Jędrychowski i Flak, 1996; Cornelius and Day, 2000; Jaakkola et al., 2001; Kukla et al., 2001; Iwanowicz-Palus i wsp., 2002, Kutlu et al., 2002; Sipowicz i Laudanski, 2002; Cogswell et al., 2003; Melve and Skjaerven, 2003; Ventura et al., 2003; Hanke i wsp., 2004; Polanska i Hanke, 2005] potwierdzono, że urodzeniowa masa ciała i długość ciała noworodków matek aktywnie i biernie narażonych na dym tytoniowy są mniejsze niż niepalących. Różnice między średnią urodzeniową masą ciała noworodków matek niepalących i palących oraz niepalących i biernie narażonych wynosiła odpowiednio 348,5 g i 281,1 g. Były to różnice porównywalne z podanymi we wcześniej wymienionych pracach, jednak można było się spodziewać jednak, że wartości te będą niższe ze względu na to, że kobiety palące w ciąży podawały w ankiecie, że paliły niewielkie ilości papierosów (prawie połowa grupy palącej deklarowała palenie okazjonalne – rzadziej niż raz dziennie).

Badania w Polsce potwierdziły, że palenie tytoniu przez matki w czasie ciąży jest przyczyną obniżenia urodzeniowej masy ciała średnio o 150 do 250 g, a u matek palących duże ilości papierosów (ponad 20 papierosów dziennie) nawet o 450 g. Z kolei narażenie bierne było przyczyną obniżenia masy urodzeniowej o 40 do 60 g [Jędrychowski i Flak, 1996; Hanke i wsp., 2004]. Inne badania wykazały, że masa urodzeniowa noworodków matek palących była obniżona o 150–300 g [Cornelius and Day, 2000; Kukla et al., 2001; Cogswell et al., 2003], a matek palących powyżej 20 papierosów dziennie nawet do 780 g [Kutlu et al., 2002]. Z kolei różnice między średnią masą urodzeniową noworodków matek niepalących oraz narażonych biernie na środowiskowy dym tytoniowy były zbliżone do opisywanych w Polsce (około 60 g) [Cornelius and Day, 2000].

Długość ciała noworodków zbadana w przedstawionej pracy była mniejsza w grupie, w której matki paliły tytoń i były narażone na ETS w czasie ciąży. Największe różnice odnotowano między noworodkami matek palących tytoń i niepalących (2,8 cm) oraz palących i narażonych biernie (2,1 cm). Dla porównania inni autorzy podali, że noworodki matek palących są średnio krótsze o 1,22 – 3,81cm [Kukla et al., 2001; Kutlu et al., 2002].

Niektórzy autorzy potwierdzili, że obniżenie masy urodzeniowej jest wprost proporcjonalne do ilości wypalanych papierosów przez matkę w czasie ciąży [Jędrychowski i Flak, 1996; Cornelius and Day, 2000; Kukla et al., 2001; Kutlu et al., 2002; Ventura et al., 2003; Hanke i wsp., 2004].

Praca przedstawia wyniki badań korelacji pomiędzy urodzeniową masą ciała oraz długością ciała noworodków, a stężeniem kotyniny w moczu badanej grupy kobiet. Ze wzrostem stężenia kotyniny w moczu matek stwierdzono obniżenie urodzeniowej masy ciała oraz zmniejszenie długości ciała noworodków. W przypadku korelacji między urodzeniową masą ciała i stężeniem kotyniny w moczu matek nie osiągnięto istotności statystycznej, lecz wartość parametru  $p=0,0784$  wskazuje na to, że zwiększenie liczby obserwacji pozwoliłoby tę istotność osiągnąć. Korelacja między długością ciała noworodków i stężeniem kotyniny w moczu matek była istotna ( $p<0,05$ ). Dla obu korelacji współczynnik  $R^2$  był niewielki.

Otrzymane wyniki potwierdzają, że ilość wypalanych papierosów lub intensywność narażenia na dym tytoniowy, które określane są poprzez oznaczenie stężenia kotyniny w moczu kobiet są proporcjonalne do obniżenia urodzeniowej masy ciała i długości ciała noworodków.

Pomimo tego, że palenie tytoniu podawane jest jako jedno z istotnych źródeł narażenia na kadm nie wykazano istotnej korelacji pomiędzy urodzeniową masą ciała i długością ciała noworodków a stężeniem kadmu w moczu kobiet. Współczynniki  $p$  były dalekie od poziomu istotności ( $p>0,1$ ), chociaż wykresy korelacji wykazały, że ze wzrostem stężenia kadmu w moczu urodzeniowa masa ciała i długość ciała noworodka nieznacznie maleją (ryc. 28 i 29).

Palenie tytoniu i narażenie na ETS są też czynnikami korelującymi z ryzykiem wystąpienia niskiej masy urodzeniowej i hipotrofii noworodków. W badanej grupie masę urodzeniową poniżej 2500 g stwierdzono u 21 noworodków, a u 16 zaobserwowano hipotrofię. Ze względu na niewielką liczbę obserwacji nie wykazano istotności pomiędzy wystąpieniem niskiej urodzeniowej masy ciała oraz hipotrofii noworodków a narażeniem matek na dym tytonowy w czasie ciąży.

Narażenie na ETS kobiet w czasie ciąży zwiększa również ryzyko poronień oraz porodu przedwczesnego – przed 37 tygodniem ciąży. Czynniki te korelują z zachorowalnością i śmiertelnością noworodków [Cornelius and Day, 2000; Jaakkola et al., 2001; Melve and Skjaerven, 2003; Hanke et al., 2004; Nakamura et al., 2004; Chen et al., 2005].

Narażenie matek na dym tytoniowy jest jednym z głównych i możliwych do wyeliminowania czynników wpływających na zachorowalność i śmiertelność noworodków.

## 9 Wnioski

1. Spośród czynników predystynujących kobiety do palenia tytoniu w okresie ciąży istotne były: młody wiek (poniżej 25 lat), wykształcenie zawodowe lub podstawowe, niski dochód na członka rodziny (poniżej 500 zł) oraz palący partner.
2. Kobiety, które paliły tytoń przed ciążą w 24,5 % zrezygnowały z tego nałogu w trakcie jej trwania, przy czym większość (ponad 70 %) podjęła tę decyzję w pierwszy trymestrze ciąży, natomiast te, które kontynuowały palenie tytoniu w czasie trwania ciąży ograniczyły ilość wypalanych papierosów.
3. Średnie stężenie kadmu w moczu badanych kobiet rodzących było istotnie większe w grupie palącej papierosy w porównaniu z kobietami narażonymi na ETS i niepalącymi.
4. Różnice pomiędzy średnim stężeniem ołowiu w moczu kobiet palących tytoń, narażonych na środowiskowy dym tytoniowy i niepalących były nieistotne.
5. Korelacja pomiędzy stężeniem kadmu w moczu badanych kobiet i aktywnym narażeniem na dym tytoniowy była niewielka, lecz istotna statystycznie.
6. W grupie kobiet palących tytoń w czasie ciąży poród częściej przebiegał przez cięcie cesarskie lub ze wspomaganiami.
7. Stwierdzono wpływ aktywnego i biernego palenia tytoniu przez kobiety w okresie ciąży na obniżenie urodzeniowej masy ciała oraz długości ciała noworodków.
8. Noworodki matek palących tytoń w czasie ciąży częściej były hospitalizowane w Oddziale Intensywnej Opieki Neonatologicznej
9. Korelacja pomiędzy stężeniem kotyniny i kadmu w moczu badanych kobiet była nieistotna.
10. Korelacja pomiędzy długością ciała noworodków a stężeniem kotyniny w moczu matek rodzących była istotna, natomiast pomiędzy urodzeniową masą ciała a stężeniem kotyniny w moczu matek była na granicy istotności.
11. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy urodzeniową masą ciała oraz długością ciała noworodków a stężeniem kadmu i ołowiu w moczu matek.

## 10 Bibliografia

1. Acladious N.N., Harrison K.L., Sutton C.J., Povey A.C., Mandal D., Kitchener H.: Levels of the DNA adducts, N7-methyldeoxyguanosine, are associated with increased risk of failure of treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol. Oncol.* 93: 605-609, 2004.
2. Acosta M., Buchhalter A., Breland A., Hamilton D., Eissenberg T.: Urine cotinine as an index of smoking status in smokers during 96-hr abstinence: comparison between gas chromatography/mass spectrometry and immunoassay test strips. *Nicotine Tobacco Res.* 6: 615-20, 2004.
3. Adamek R., Florek E., Piekoszewski W., Bręborowicz G.H.: Status socjo-ekonomiczny kobiet palących tytoń w czasie ciąży a urodzeniowa masa noworodków. *Przeg. Lek.* 61: 1006-1011, 2004.
4. Akesson A., Berglund M., Schutz A., Bjellerup P., Bremme K., Vahler M.: Cadmium exposure in pregnancy and lactation in relation to iron status. *Am. J. Pub. Health.* 92: 284-287, 2002.
5. American Lung Association. Trends in cigarette smoking. *Epidem. Stat. Unit:* 1-7, 1998.
6. Anderson K.E., Kliris J., Murphy L., Carmella S.G., Han S., Link C., Bliss R.L., Puumala S., Murphy S.E., Hecht S.S: Metabolites of a tobacco-specific lung carcinogen in nonsmoking casino patrons. *Cancer Epidem. Biomarkers Prev.* 12: 1544-1546, 2003.
7. Andrews K.W., Savitz D.A., Hertz-Picciotto I.: Prenatal lead exposure in relation to gestational age and birth weight: A review of epidemiological studies. *Am. J. Ind. Med.* 26: 13-32, 1994.
8. Antilla A., Sallmen M.: Effects of parental occupational exposure to lead and other metals on spontaneous abortion. *J. Occup. Environ. Med.* 37: 915-919, 1995.
9. Armstrong B.G., McDonald A.D., Sloan M.: Cigarette, alcohol and coffee consumption and spontaneous abortion. *Am. J. Public Health.* 82: 85-87, 1992.
10. Bainbridge S.A., Sidle E.H., Smith G.N.: Direct placental effects of cigarette smoke protect women from pre-eclampsia: the specific roles of carbon monoxide and antioxidant systems in the placenta. *Med. Hypotheses.* 64: 17-27, 2005.

11. Baranowska I., Aleksandrowicz R., Cekański A., Baranowski J.: Determination of metals in human placenta using graphite furnace atomic absorption spectroscopy. *Polish J. Environ. Studies.* 1: 3-8, 1992.
12. Baranowska I.: Lead and cadmium in human placentas and maternal and neonatal blood (in a heavily polluted area) measured by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Occup. Environ. Med.* 52: 229-232, 1995.
13. Barlow R.D., Thompson A., Stone R.B.: Simultaneous determination of nicotine, cotinine and five additional nicotine metabolites in the urine of smokers using pre-column derivatisation and high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 419: 375-380, 1987.
14. Bartlett R.: Carbon monoxide poisoning. [W:] Haddad L.M., Shannon M.W., Winchester J.F.: *Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose.* 3<sup>rd</sup> edition, W.B. Saunders Company, USA, 1998.
15. Basso O., Olsen J., Christensen K.: Risk of preterm delivery, low birthweight and growth retardation following spontaneous abortion: a registry-based study in Denmark. *J. Epidemiol.* 27: 642-646, 1998.
16. Benovitz N.L., Jacob P.: Metabolism of nicotine and cotinine studied by dual stable isotope method. *Clin. Pharmacol. Ther.* 56: 483-493, 1994.
17. Benovitz N.L.: Biomarkers of Environmental Tobacco Smoke Exposure. *Environ. Health Persp.* 107: 349-355, 1999.
18. Benovitz N.L.: Cotinine as a biomarker of environmental tobacco smoke exposure. *Epidemiol. Res.* 18: 188-204, 1996.
19. Benowitz N.L., Herrera B., Jacob P.: Mentholated cigarette smoking inhibits nicotine metabolism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 310: 1208-1215, 2004.
20. Benowitz N.L., Jacob P., Bernert J.T., Wilson M., Wang L., Allen F., Dempsey D.: Carcinogen exposure during short-term switching from regular to "light" cigarettes. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 14: 1376-1383, 2005.
21. Bergstrom J.: Tobacco smoking and chronic destructive periodontal disease. *Odontology.* 92: 1-8, 2004.
22. Bernard A., Lauwerys R.: Effects of cadmium exposure in humans. *Handbook of experimental pharmacology.* T. 80. Cadmium. Foulkes (red.), Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 1986.
23. Bernert J.T., McGuffey J.E., Morrison M.A., Pirkle J.L.: Comparison of serum and salivary cotinine measurements by a sensitive high-performance liquid



- chromatography-tandem mass spectrometry method as an indicator of exposure to tobacco smoke among smokers and nonsmokers. *J. Anal. Toxicol.* 24: 333-339, 2000.
24. Bielska D., Ołdak E.: Ekspozycja na dym tytoniowy i jej wpływ na choroby układu oddechowego wśród białostockich trzylatków. *Przeg. Lek.* 61: 1065-1067, 2004.
  25. Bittnerova D., Havrdova J., Lepsi P., Sperlingova I., Namecek R., Roth Z., Vit M.: The study of exposure to cadmium in the general population. II. Morbidity studies. *Polish J. Occup. Med. Environ. Health.* 5: 345-356, 1992.
  26. Booker S.M.: More smoke, less baby. *Environ. Health Perspec.* 109: 278-279, 2001.
  27. Bridenbaker M.: Going Up in Smoke: What smokers need to know. *Medscape Cardiology.* 7: 1-6, 2003.
  28. Bronisz H., Szot T., Lipska M.: Zawartość kadmu w papierosach. *Bromat. Chem. Toksykol.* 16: 121-127, 1983.
  29. Burton G.J., Palmer M.E., Dalton K.J.: Morphometric differences between the placental vasculature of non-smokers, smokers and ex-smokers. *B. J. Obstet. Gynecol.* 96: 907-915, 1989.
  30. Campbell M.J., Lewry J., Wailoo M.: Future evidence for the effect of passive smoking on neonates. *Postgrad. Med. J.* 64: 663-665, 1988.
  31. Campuzano J.C., Hernandez-Avila M., Jaakkola M.S., Lazcano Ponce E., Kuri Morales P., Bautista P., Benowitz N.L., Ceraso M., Blackford A., Samet J.M.: Determinants of salivary cotinine levels among current smokers in Mexico. *Nicotine Tobacco Res.* 6: 997-1008, 2004.
  32. Carlisle J.C., Wade M.J.: Predicting blood lead concentrations from environmental concentrations. *Regulatory Toxicol. Pharmacol.* 16: 280-289, 1992.
  33. Centers of Disease Control. Preventing lead poisoning in young children. A statement by centers of disease control. US. Department of Health and Human Services, 1991.
  34. Chen C., Wang X., Wang L., Yang F., Tang G: Effect of environmental tobacco smoke on levels of urinary hormone markers. *Environ. Health Perspectives.* 113: 412-417, 2005.

35. Chen H.J., Wu C.F., Hong C.L., Chang C.M.: Urinary excretion of 3,N 4-etheno-2'-deoxycytidine as a biomarker of oxidative stress: association with cigarette smoking. *Chem. Res. Toxicol.* 17: 896-903, 2004.
36. Chong D.S.Y., Yip P.S.F., Karlberg J.: Maternal smoking: an increasing unique risk factor for sudden infant death syndrome in Sweden. *Acta Paediatrica.* 93: 471-478, 2004.
37. Cogswell M.E., Weisberg P., Spong C.: Cigarette Smoking, Alcohol Use and Adverse Pregnancy Outcomes: Implications for Micronutrient Supplementation. *J. Nutrit.* 133: 1722-1731, 2003.
38. Cooke T.F.: Indoor air pollutants. A literature review. *Rev. Environ. Health.* 9: 137-160, 1991.
39. Corbo G.M., Agabiti N., Forastiere F., Dell'Orco V., Pistelli R., Kriebel D., Pacifici R., Zuccaro P., Ciappi G., Perucci C.A.: Lung Function in children and adolescents with occasional exposure to environmental tobacco smoke. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 154: 695-700, 1996.
40. Cornelius M.D., Day N.L.: The effects of tobacco use during and after pregnancy on exposed children. *Alcohol Res Health.* 24: 242-249, 2000.
41. Czekaj P., Wiaderkiewicz A., Florek E., Wiaderkiewicz R.: Tobacco smoke-dependent changes in cytochrome P450 1A1, 1A2, and 2E1 protein expressions in fetuses, newborns, pregnant rats, and human placenta. *Arch. Toxicol.*, 79: 13-24, 2005.
42. De Bruin Y.B., Carrer P., Jantunen M., Hanninen O., Di Marco G.S., Kephelopoulos S., Cavallo D., Maroni M.: Personal carbon monoxide exposure levels: contribution of local sources to exposures and microenvironment concentrations in Milan. *J Expo Anal Environ Epidemiol.*, 14: 312-22, 2004.
43. De Silva P.E.: Determination of lead in plasma and studies on its relationship to lead in erythrocytes. *Br. J. Ind. Med.* 38: 209-217, 1981.
44. Degiampietro P., Peheim E., Drew D., Graf H., Colombo J.P.: Determination of thiocyanate in plasma and saliva without deproteinisation and its validation as smoking parameter. *J. Clin. Chem. Biochem.* 25: 717-717, 1987.
45. DeMarini D.M., Preston R.J.: Smoking while pregnant: transplacental mutagenesis of the fetus by tobacco smoke. *JAMA*, 293: 1264-1265, 2005.
46. DeMarini D.M.: Genotoxicity of tobacco smoke and tobacco smoke condensate: A review. *Mutat Res.* 567: 447-474, 2004.

47. Dempsey D., Jacob P., Benowitz N.L.: Accelerated metabolism of nicotine and cotinine in pregnant smokers. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 301: 594-598, 2002.
48. Deveci S.E., Deveci F., Acik Y., Ozan A.T.: The measurement of exhaled carbon monoxide in healthy smokers and non-smokers. *Respir Med.*, 98: 551-556, 2004.
49. Diguët A., Sentilhes L., Marret S., Verspyck E., Marpeau L.: Neonatal management of a child exposed to tobacco in utero and postnatal biomarkers. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* 34: 458-469, 2005.
50. Dockery D.W., Trichopoulos D.: Risk of lung cancer from environmental exposures to tobacco smoke. *Cancer Causes Control.* 8: 333-345, 1997.
51. Dolan-Mullen P., Ramfrez G., Groff J.Y.: A meta analysis of randomized trial of prenatal smoking cessation intervention. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 171: 1328-1334, 1994.
52. Doyle L.W., Olinsky A., Faber B., Callanan C.: Adverse effects of smoking on respiratory function in young adults born weighting less than 1000 grams. *Pediatrics.* 112: 565-569, 2003.
53. Dregval Z., Klumbiene J., Petkeviciene J.: Lifestyle trends in relation to social determinants in Lithuania. 2<sup>nd</sup> Conference on Health Status of Central and Eastern European Populations after Transition, Warsaw, Poland, 157, 2000.
54. Dunn H.G., McBurney A.K., Ingram S., Hunter C.M.: Maternal cigarette smoking during pregnancy and child's subsequent development: II Neurological and intellectual maturation to the age of 6 ½ years. *Can. J. Public Health.* 68: 43-50, 1977.
55. Durska G.: Levels of lead and cadmium in pregnant women and newborns and evaluation of their impact on child development. *Ann. Acad. Med. Stetin.* 47: 49-60, 2001.
56. Dziennik Ustaw nr 121, Załącznik nr 1 do rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11.09.1996.
57. Ekwo E.E., Gosselink C.A., Moawad A.: Unfavorable outcome in penultimate pregnancy and premature rupture of membranes in successive pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 2: 166-172, 1992.
58. Ellard G.A., Johnstone F.D., Prescott R.J., Ji-Xian W., Jian-Hua M.: Smoking during pregnancy: the dose dependence of birthweight deficits. *J. Obstet. Gynecol.* 103: 806-813, 1996.

59. Errard-Lalande G., Halimi A.: What measures can be taken to reduce the number of smoking adolescents and young women? *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* 34: 303-17, 2005.
60. Esamai F.O.: Relationship between exposure to tobacco smoke and bronchial asthma in children: a review. *East Afr. Med. J.*, 75: 47-50, 1998.
61. Eskenazi B: Association of prenatal maternal or postnatal child environmental tobacco smoke exposure and neurodevelopment and behavioral problems In children. *Environ. Health Perspect.* 107: 991-1000, 1999.
62. Ezaki T., Tsukahara T., Moriguchi J., Furuki K., Fukui Y., Ukai H., Okamoto S., Sakurai H., Honda S. , Ikeda M.: Analysis for threshold levels of cadmium in urine that induce tubular dysfunction among women in non-polluted areas in Japan. *Internation. Arch. Occup. Environ. Health.* 76: 197-204, 2003.
63. Ferreira-Borges C.: Effectiveness of a brief counseling and behavioral intervention for smoking cessation in pregnant women. *Prev. Med.* 41: 295-302, 2005.
64. Florek E., Marszałek A., Piekoszewski W., Wrzosek J., Opala T., Moczko J.: Występowanie narażenia na dym tytoniowy wśród kobiet w wieku prokreacyjnym. *Ginek. Prakt.*, 60: 16-21, 2001.
65. Florek E., Kornacka M.K., Hubert A., Wilimowska J., Basior A.: Poziom kotyniny w moczu i łóżysku kobiet palących tytoń i narażonych na ETS w czasie ciąży. *Przeg. Lek.* 61: 1090-1093, 2004a.
66. Florek E., Piekoszewski W., Kornacka M.K., Koroniak H., Wolna M., Król A.: Zawartość kadmu w moczu kobiet ciężarnych palących tytoń. *Przeg. Lek.* 61: 1109-1112, 2004b.
67. Florek E., Piekoszewski W., Rybakowski L., Moczko J.: Zastosowanie kwestionariusza ankiety i pomiar kotyniny w moczu do oceny nalogu palenia i ekspozycji na ETS kobiet ciężarnych. *Przeg. Lek.* 61: 993-996, 2004c.
68. Florek E., Piekoszewski W., Bręborowicz G.H., Pach D., Pasich A.: Ocena ankietowa i biochemiczna palenia tytoniu przez kobiety rodzące. *Przegł Lek.*, 61: 344-47, 2004d.
69. Florek E., Piekoszewski W., Wrzosek J.: Relationship between the level and time of exposure to tobacco smoke and urine nicotine and cotinine concentration. *Polish J. Pharmacol.* 55: 97-102, 2003.

70. Florek E.: Skład chemiczny i kancerogeny dymu tytoniowego. *Alkoholizm i Narkomania*. 3: 333-347, 1999.
71. Frery N., Nessmann C., Girard F., Lafond J., Moreau T., Blot P., Lellouch J., Huel G.: Environmental exposure to cadmium and human birthweight. *Toxicology*. 79: 109-118, 1993.
72. Friberg L., Kjellstrom T., Nordberg G.F.: Cadmium. *Handbook of the toxicology of metals T. II. Specific Metals*. Elsevier, Amsterdam – NY, 1986.
73. Fukui Y., Ezaki T., Tsukahara T., Moriguchi J., Furuki K., Okamoto S., Ukai H., Ikeda M.: Lead levels in urine of never-smoking adult women in non-polluted areas in Japan, with references to cadmium levels in urine. *Ind. Health*. 42: 415-423, 2004.
74. Gan J., Skipper P.L., Gago-Dominguez M., Arakawa K., Ross R.K., Yu M.C., Tannenbaum S.R.: Alkylaniline-haemoglobin adducts and risk of non-smoking related bladder cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 96: 1425-1431, 2004.
75. Gandini C., Castoldi A.F., Stefano M. et al.: Carbon Monoxide Cardiotoxicity. *J. Toxicol. Clin. Tox.* 39-44: 35, 2001.
76. Gardella C.: Lead exposure in pregnancy: A review of the literature and argument for routine prenatal screening. *Obst. Gynecol. Survey*. 56: 231-238, 2001.
77. Genbacev O., McMaster M.T., Zdravkovic T., Fisher S.J.: Disruption of oxygen-regulated responses underlies pathological changes in the placentas of women who smoke or who are passively exposed to smoke during pregnancy. *Reprod. Toxicol.* 17: 509-18, 2003.
78. Georgiadis P., Demopoulos N.A., Topinka J., Stephanou G., Stoikidou M., Bekyrou M., Katsouyianni K., Sram R., Autrup H., Kyrtopoulos S.A.: Impact of phase I or phase II enzyme polymorphisms on lymphocyte DNA adducts in subjects exposed to urban air pollution and environmental tobacco smoke. *Toxicol. Letters*. 149: 269-280, 2004.
79. Ghosheh O.A., Browne D., Rogers T., de Leon J., Dwoskin L.P., Crooks P.A.: A simple high performance liquid chromatographic method for the quantification of total cotinine, total 3'-hydroxycotinine and caffeine in the plasma of smokers. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 23: 543-549, 2000.
80. Gilliland F.D., Li YF., Dubeau L., Berhane K., Avol E., McConnell R., Gauderman W.J., Peters J.M.: Effects of glutathione S-transferase M1, maternal

- smoking during pregnancy, and environmental tobacco smoke on asthma and wheezing in children. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, 15; 166: 457-63, 2002.
81. Godschalk R., Hogervorst J., Albering H., Mercelina-Roumans P., van Schooten F.J., de Haan J., Kleinjans J.: Interaction between cadmium and aromatic DNA adducts in hprt mutagenesis during foetal development. *Mutagenesis*. 20: 181-185, 2005.
  82. Gomółka E., Król A., Piekoszewski W., Pach J., Gawlikowski T.: Uzależnienie od nikotyny i alkoholu – interakcje pomiędzy używkami. IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa TYTOŃ A ZDROWIE, Poznań: 339-347, 2003.
  83. Goyer R.A.: Mechanisms of lead and cadmium nephrotoxicity. *Toxicol. Letters*. 46: 153-162, 1989.
  84. Goyer R.A.: Trans placental transport of lead. *Environ. Health Perspect.*, 89: 101-105, 1990.
  85. Granga G., Pannier E.: Effect of smoking on mode of delivery and per partum hypoxia and acidosis. *J. Gyn. Obst. Biol. Reprod.* 34: 146-151, 2005.
  86. Gyorffy E., Anna L., Gyori Z., Segesdi J., Minarovits J., Soltesz I., Kostic S., Csekeo A., Poirier M.C., Schoket B.: DNA adducts in tumour, normal peripheral lung and bronchus, and peripheral blood lymphocytes from smoking and non-smoking lung cancer patients: correlations between tissues and detection by <sup>32</sup>P-postlabelling and immunoassay. *Carcinogenesis*. 25: 1201-1209, 2004.
  87. Haley N.L., Axelrad C.M., Tilton K.: Validation of self reported smoking behavior: Biochemical analysis of cotinine and thiocyanate. *Am. J. Public Health*. 73: 1204-1207, 1983.
  88. Hanke W., Sobala W., Kalinka J.: Environmental tobacco smoke exposure among pregnant women: impact on fetal biometry at 20-24 weeks of gestation and newborn child's birth weight. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 77: 47-52, 2004.
  89. Hariharan M., VanNoord T.: Liquid-chromatographic determination of nicotine and cotinine in urine from passive smokers: comparison with gas chromatography with nitrogen-specific detector. *Clin. Chem.* 37: 1276-1280, 1991.
  90. Harlap S., Shiono P.H.: Alcohol, smoking and incidence of spontaneous abortion in the first and second trimester. *Lancet*. 2: 173-176, 1980.

91. Hatsukami D.K., Lemmonds C., Zhang Y., Murphy S.E., Le C., Carmella S.G., Hecht S.S.: Evaluation of Carcinogen Exposure in People Who Used "Reduced Exposure" Tobacco Products. *J. Nation. Cancer Inst.*, 96: 844-852, 2004.
92. Hecht S.S., Murphy S.E., Carmella S.G., Li S., Jensen J., Le C., Joseph A.M., Hatsukami D.K.: Similar uptake of lung carcinogens by smokers of regular, light, and ultralight cigarettes. *Cancer. Epidemiol. Biomarkers Prev.* 14: 693-698, 2005.
93. Hecht S.S., Murphy S.E., Carmella S.G., Zimmerman C.L., Losey L., Kramarczuk I., Roe M.R., Puumala S.S., Li Y.S., Le C., Jensen J., Hatsukami D.K.: Effects of reduced cigarette smoking on the uptake of tobacco-specific lung carcinogen. *J. Natl. Cancer Inst.*, 96: 107-115, 2004.
94. Hecht S.S.: Human urinary carcinogen metabolites: biomarkers for investigating tobacco and cancer. *Carcinogenesis.* 23: 907-922, 2002.
95. Hecht S.S.: Tobacco carcinogen biomarkers. Old and new. *American Association for Cancer Research. Education Book*: 85-88, 2005b.
96. Heilmaier H.E., Drasch G.A., Kretschmer E., Summer K.H.: Metallothionein, Cadmium, Copper and Zinc levels of Human and Rat Tissues. *Toxicol. Letters*, 38: 205-211, 1987.
97. Henderson A.J., Sherriff A., Northstone K., Kukla L., Hrubá D.: Pre- and postnatal parental smoking and wheeze in infancy: cross cultural differences. Avon Study of Parents and Children (ALSPAC) Study Team, European Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood (ELSPAC) Co-ordinating Centre. *Eur. Respir. J.* 18: 323-329, 2001.
98. Higashikawa K., Zhang Z.W., Shimbo S., Moon C.S., Watanabe T., Nakatsuka H., Matsuda-Inoguchi N., Ikeda M.: Correlation between concentration in urine and in blood of cadmium and lead among women in Asia. *Sci. Total Environ.* 10: 97-107, 2000.
99. Hill G., Millar W., Connelly J.: Smoking, lung cancer, and cancer epidemiology. *Can. Bull. Med. Hist.* 20: 367-386, 2003.
100. Himmelberger D.H., Brown B., Cohen E.N.: Cigarette smoking during pregnancy and the occurrence of spontaneous abortion and the congenital abnormality. *Am. J. Epidemiol.* 108: 470-479, 1978.
101. Hoffmann D., Brunnemann K.D., Prokopczyk B., Djordjevic M.V.: Tobacco-specific N-nitrosamines and Areca-derived N-nitrosamines: chemistry,

- biochemistry, carcinogenicity, and relevance to humans. *J. Toxicol. Environ. Health*, 41: 1-52, 1994.
102. Hotham E.D., Gilbert A.L., Atkinson E.R.: A randomised-controlled pilot study using nicotine patches with pregnant women. *Addict Behav.* 31:641-648, 2005.
  103. Hrubá D., Kachlik P.: Influence of maternal active and passive smoking during pregnancy on birthweight in newborns. *Cent. Eur. J. Public Health.* 8: 249-252, 2000.
  104. Hughes J., Lindgren P., Connett J., Nides M.: Smoking reduction in the Lung Health Study. *Nicotine Tobacco Res.* 6: 275-280, 2004.
  105. Hurt R.D., Croghan G.A., Wolter T.D., Croghan I.T., Offord K.P., Williams G.M., Djordjevic M.V., Richie J.P. Jr., Jeffrey A.M.: Does smoking reduction result in reduction of biomarkers associated with harm? A pilot study using a nicotine inhaler. *Nicotine Tobacco Res.* 2: 327-336, 2000.
  106. Husgafvel-Pursiainen K.: Biomarkers in the assessment of exposure and biological effects of environmental tobacco smoke. *Scand. J. Work Environ. Health.* 28, Suppl 2: 21-29, 2002.
  107. Husgafvel-Pursiainen K.: Genotoxicity of environmental tobacco smoke: a review. *Mutation Res.* 567: 427-445, 2004.
  108. Hypponen E., Smith G.D., Power C: Effects of grandmothers' smoking in pregnancy on birth weight: intergenerational cohort study. *Br. Med. J.* 327: 898-900, 2003.
  109. IARC-Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Tobacco Smoking. Lyon, 38, 1986.
  110. IARC-Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans Supplement 7. Lead and lead compounds: Lead and inorganic lead compounds (Group 2B), Organolead compounds (Group 3), Lyon, 1987.
  111. Ikeda M., Moriguchi J., Ezaki T., Fukui Y., Ukai H., Okamoto S., Shimbo S., Sakurai H.: Smoking-induced increase in urinary cadmium levels among Japanese women. *Intern. Arch. Occup. Environ. Health.* 78: 533-540, 2005.
  112. Ikeda M., Zhang Z.W., Shimbo S., Nakatsuka H., Moon C.S., Matsuda-Inoguchi N., Higashikawa K.: Exposure of Women in General Populations to Lead via Food and Air in East and Southeast Asia. *Am. J. Ind. Med.*, 38(3): 271-280, 2000.



113. Indulski J.A.: Biomarkery i ocena ryzyka. Pojęcia i zasady. Kryteria zdrowotne środowiska, tom 155, Instytut Medycyny Pracy, Łódź 1995.
114. Irvine L., Rombie I.K., Clark R.A., Slane P.W., Goodman K.E., Feyerabend C., Cater J.I.: What determines levels of passive smoking In children with asthma? *Thorax*. 52: 766-769, 1997.
115. Istvan J.A., Wong Lee W., Buist A.S., Connett J.E.: Relation of Salivary Cotinine to Blood Pressure in Middle-Aged Cigarette Smokers. *Am. Hearth J.* 137: 928-931, 1999.
116. Iwanowicz-Palus G.J., Walentyn E., Wiktor H.: Relationship between maternal cigarette smoking and newborn birth weight and physical condition. *Wiad. Lek.* 55: 152-156, 2002.
117. Jaakkola J.J.K., Gissler M.: Maternal smoking in pregnancy, fetal development, and childhood asthma. *Am. J. Pub. Health*. 94: 136-140, 2004.
118. Jaakkola J.J.K., Jaakkola N., Zahlsen K.: Fetal growth and lenght of gestation in relation to prenatal exposure to environmrntal tobacco smoke assessed by hair nicotine concentration. *Environ. Health Persp.* 109: 557-561, 2001.
119. Jacob N., Berny C., Boyer J.C., Capolaghi B., de l'homme G., Desch G., Garelik D., Houdret N., Le Moel G., Moulisma M., Plantin-Carrenard E.: Measurement of urinary free cotinine. Comparison with the level of expired air carbon monoxide. *Ann. Biol. Clin.* 63: 467-473, 2005.
120. Jakubowski M.: Monitoring biologiczny narażenia na czynniki chemiczne. *Med. Pracy*. 55: 13-18, 2004.
121. Jakubowski M.: Monitoring biologiczny narażenia na czynniki chemiczne w środowisku pracy, Oficyna Wydawnicza Instytutu Medycyny Pracy im. prof. dra med. Jerzego Nofera, Łódź 1997.
122. Jakubowski M.: Poziomy biologiczne kadmu u mieszkańców Polski. *Med. Pracy* 46, Supl. 5: 83-92, 1995.
123. Jarup L., Rogenfelt A, Elinder CG, Nogawa K, Kjellstrom T.: Biological half-life of cadmium in the blood of workers after cessation of exposure. *Scand. J. Work. Environ. Health*. 9: 327-331, 1983.
124. Jarvis M.J., Russel M.A., Feyerabend C.: Absorption of nicotine and carbon monoxide from passive smoking under normal conditions. *Thorax*. 38: 829-833, 1983.

125. Jarvis M.J., Russel M.A.: Measurement and estimation of smoke dose to non-smokers from environmental tobacco smoke. *Eur. J. Respiratory Dis.* 133: 68-75, 1984.
126. Jarvis M.J., Tunstall-Pedoe H., Feyerabend C. et al.: Comparison of tests used to distinguish smokers from nonsmokers. *Am. J. Public Health.* 77: 1435-1438, 1987.
127. Jędrychowski W., Flak E.: Confronting the prenatal effects of active and passive tobacco smoking on the birth weight of children. *Cent. Eur. J. Public Health.* 4: 201-205, 1996.
128. Jędrzejczak P., Taszarek-Hauke G., Derwich K. i wsp.: Jakość nasienia u płodnych mężczyzn narażonych na dym tytoniowy. *Przeg. Lek.* 61: 1028-1030, 2004.
129. Jimenez-Ruiz C., Miravittles M., Sobradillo V., Gabriel R., Viejo J.L., Masa J.F., Fernandez-Fau L., Villasante C.: Can cumulative tobacco consumption, FTND score, and carbon monoxide concentration in expired air be predictors of chronic obstructive pulmonary disease? *Nicotine Tobacco Res.* 6: 649-653, 2004.
130. Johnston C.: Cigarette smoking and the outcome of human pregnancies: a status report on the consequences. *Clin. Toxicol.* 18: 189-209, 1981.
131. Jones I.E., Williams S.M., Goulding A.: Associations of birth weight and length, childhood size, and smoking with bone fractures during growth: Evidence from a birth cohort study. *Am. J. Epidem.* 159: 343-350, 2005.
132. Jongeneelen F.J.: Biological monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons; 1-hydroxypyrene in urine of people. *Toxicol. Letters.* 72: 205-211, 1994.
133. Joosens L.: Tobacco. Priorities for public health action in the European Union: 44-55, 1999.
134. Kabata-Pendias A., Pendias H.: *Biochemia pierwiastków śladowych.* PWN, Warszawa, 1993.
135. Kelsey J.L., Dwyer T., Molford T.R., Bracken M.B.: Maternal smoking and congenital malformations: An epidemiological study. *J. Epidemiol. Comm. Health.* 32: 102-107, 1978.

136. Kjellstom T., Nordberg G.F.: Kinetics model of cadmium metabolism. Cadmium and Health. A toxicological and epidemiological appraisal. T. I. Dose and Metabolism. CRC Press, Boca Raton, 1986.
137. Klein L.C., Corwin E.J., Ceballos R.M.: Leptin, hunger, and body weight: Influence of gender, tobacco smoking, and smoking abstinence. *Addict. Behav.*, 29: 921-7, 2004.
138. Knight J.M., Eliopoulos C., Klein J., Greenwald M., Koren G.: Passive smoking in children. Racial differences in systemic exposure to cotinine by hair and urine analysis. *Chest*. 109: 446-450, 1996.
139. Korpela H., Loueniva R., Yrjanheikki E., Kauppila A.: Lead and cadmium concentrations in maternal and umbilical cord blood, amniotic fluid, placenta, and amniotic membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 155: 1086-1089, 1986.
140. Kuehl G.E., Murphy S.E.: *N*-glucuronidation of nicotine and cotinine by human liver microsomes and heterologously expressed UDP-glucuronosyltransferases. *Drug Metab. Dispos.* 31: 1361-1368, 2003.
141. Kuhnert B.R., Kuhnert P.M., Debanne S. Williams T.G.: The relationship between cadmium, zinc, and birth weight in pregnant women who smoke. *Am J Obstet. Gynecol.* 157: 1247-1251, 1987a.
142. Kuhnert B.R., Kuhnert P.M., Zarlingo T.J.: Associations between placental cadmium and zinc and age and parity in pregnant women who smoke. *Obstet. Gynecol.* 71: 67-70, 1988.
143. Kuhnert P.M., Kuhnert B.R., Erhard P., Brashear W.T., Groh-Wargo S.L., Webster S.: The effect of smoking on placental and fetal zinc status. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 157: 1241-1246, 1987b.
144. Kukla L., Hrubá D., Tyrlik M.: Smoking and damages of reproduction: evidence of ELSPAC. *Cent. Eur. J. Public Health.* 9: 59-63, 2001.
145. Kutlu T., Gelboin H.V., Gozukara E.M.: Cigarette smoking and secondary smoke in Turkey: effect on placental aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH), infant birth weight, and size. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 69: 855-862, 2002.
146. Lach J., Ziółkowski M., Marcinkowski Z., Rybakowski J., Kłyszajko C.: Analiza typologiczna ciężarnych ze względu na palenie podczas ciąży i picie alkoholu. *Klin. Ginekol.* 27: 342-346, 1998.

147. Lanphear B.P., Hornung R., Khoury J., Yolton K, Baghurst P, Bellinger DC, Canfield RL, Dietrich KN, Bornschein R, Greene T, Rothenberg SJ, Needleman HL, Schnaas L, Wasserman G, Graziano J, Roberts R.: Low-Level Environmental Lead Exposure and Children's Intellectual Function: An International Pooled Analysis. *Environ. Health Perspect.*, 113: 894-899, 2005.
148. Lauwerys R., Buchet J.P., Roels H., Hubermont G.: Placental transfer of lead, mercury, cadmium, and carbon monoxide in women. *Environ. Research.* 15: 278-289, 1978.
149. Lauwerys R., Hardy R., Job M., Buchet J.P., Roels H., Bruaux P., Rondia D.: Environmental pollution by cadmium and cadmium body burden: an autopsy study. *Toxicol. Lett.* 23: 287-289, 1984.
150. Le Houezec J.: What smoking cessation interventions are effective in pregnant women? *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* 34: 182-193, 2005.
151. Leone A.: Biochemical markers of cardiovascular damage from tobacco smoke. *Currant. Pharm. Des.*, 11: 2199-2208, 2005.
152. Leong J.W., Dore N.D., Shelley K., Holt E.J., Laing I.A., Palmer L.J., LeSouef P.N.: The elimination half-life of urinary cotinine in children of tobacco-smoking mothers. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 11: 287-290, 1998.
153. Lewis S.J., Cherry N.M., Niven R.M., Barber P.V., Povey A.C.: Associations between smoking, GST genotypes and N7-methylguanine levels in DNA extracted from bronchial lavage cells. *Mutation Res.* 559: 11-18, 2004.
154. Lodovici M., Luceri C., Guglielmi F., Bacci C., Akpan V., Fonnesu M.L., Boddi V., Dolaro P.: Benzo(a)pyrene diolepoxide (BPDE)-DNA adducts levels in leukocytes of smokers in relation to polymorphism of CYP1A1, GSTM1, GSTP1, GSTT1, and mEH. *Cancer. Epidemiol. Biomarkers Prev.* 13: 1342-1348, 2004.
155. Loebstein R., Lalkin A., Koren G.: Pharmacokinetics changes during pregnancy and their clinical relevance. *Clin. Pharmacokinet.* 33: 328-343, 1997.
156. Longo L.D.: Some Health consequences of maternal smoking: Issues without answers. *Birth Defect.* 18: 13-31, 1982.
157. Ludwikowski G., Szymański W., Szymański M., Adamczak R., Kazdepka-Zieminska A., Pasinska M.: Występowanie objawów zespołu andropauzalnego wśród palących i niepalących. *Przeg. Lek.* 61: 1033-1034, 2004.

158. Mackay J.: The global tobacco epidemic. The Next 25 years. *Public Health Rep.* 113: 14-21, 1998.
159. Makin J., Fried P.A., Watkinson B.: A comparison of active and passive smoking during pregnancy: long term effect. *Neurotox. Teratol.* 13: 5-12, 1991.
160. Marszałek A., Biczysko W.: Skutki zdrowotne narażenia na dym tytoniowy występujące u kobiet i ich potomstwa. W: Florek E. Zdrowotne skutki narażenia na dym tytoniowy w środowisku. (Ed.) Katedra i Zakład Toksykologii, Akademia Medyczna, Poznań: 29-42, 2000.
161. Martin J.A., Hamilton B.E., Sutton P.D., Ventura S.J., Menacker F., Munson M.L.: Births: final data for 2002. *National Vital Statistics Reports.* 52: 1-113, 2003.
162. Martin J.A., Hamilton B.E., Sutton P.D., Ventura S.J., Menacker F., Munson M.L.: Births: final data for 2003. *National Vital Statistics Reports.* 54: 1-116, 2005.
163. Martin-Lagos F., Navarro-Alarcon M., Terres-Martos C., Lopez-Garcia de la Serrana H., Perez-Valero V., Lopez-Martinez M.C.: Zinc and copper concentrations in serum from spanish women during pregnancy. *Biol. Trace Elem. Research.* vol. 61: 61-70, 1998.
164. McLaughlin J.K., Dietz M.S., Mehl E.S., Blot W.J.: Reliability of surrogate information on cigarette smoking by type of informant. *Am. J. Epidemiol.* 126: 144-146, 1987.
165. Melve K.K., Skjaerven R.: Birthweight and perinatal mortality: paradoxes, social class, and sibling dependencies. *Int. J. Epidemiol.* 32: 625-633, 2003.
166. Meyer M.B., Jonas B.S., Tonascia J.A.: Perinatal events associated with maternal smoking during pregnancy. *Am. J. Epidemiol.* 103: 467-476, 1976.
167. Miller R.L., Garfinkel R., Horton M., Camann D., Perera F.P., Whyatt R.M., Kinney P.L.: Polycyclic aromatic hydrocarbons, environmental tobacco smoke, and respiratory symptoms in an inner-city birth cohort. *Chest.* 126: 1071-1078, 2004.
168. Milnerowicz H.: Influence of tobacco smoking on metallothionein isoforms contents in human placenta, amniotic fluid and milk. *Int. Occup. Med. Environ. Health.* 10: 395-403, 1997.
169. Mirza A., Eder V., Rochefort G.Y., Hyvelin J.M., Machet M.C., Fauchier L., Bonnet P.: CO inhalation at dose corresponding to tobacco smoke worsens

- cardiac remodeling after experimental myocardial infarction in rats. *Toxicol. Sci.*, 85: 976-82, 2005.
170. Monsen A.L.B., Vollset S.E., Refsum H., Markestad T., Ueland P.M.: Hematological Parameters and Cobalamin Status in Infants Born to Smoking Mothers. *Biol. Neonate.*, 85: 249-255, 2004.
  171. Moolchan E.T., Hudson D.L., Schroeder J.R., Sehnert S.S.: Heart rate and blood pressure responses to tobacco smoking among African-American adolescents. *J. Natl. Med. Assoc.* 96: 767-771, 2004.
  172. Moon, Chan-Seok, Paik, Jong-Min, Choi, Chang-Soo, Kim, Do-Hoon, Ikeda, Masayuki: Lead and cadmium levels in daily foods, blood and urine in children and their mothers in Korea. *Int. Archives of Occup. Environ. Health.* 76: 282-288, 2003.
  173. Morbidity & Mortality weekly report, centers for disease control and prevention: cigarette smoking among adults – United States, 1998. 49, 2000.
  174. Mortada W.I., Sobh M.A., El-Defrawy M.M.: The exposure to cadmium, lead and mercury from smoking and its impact on renal integrity. *Medical Science Monitor: Intern. Med. J. Experim. Clin. Research.* 10: 112-116, 2004.
  175. Mortada, Sobh, elDefrawy, Farahat: Reference intervals of cadmium, lead, and mercury in blood, urine, hair, and nails among residents in Mansoura city, Nile delta, Egypt. *Environ. Research.* 90: 104-110, 2002.
  176. Munia A., Amasio M.E., Peluso M.: Exocyclic malondialdehyde and aromatic DNA adducts in larynx tissues. *Free Radic. Biol. Med.*, 37: 850-858, 2004.
  177. Murphy S.E., Link C.A., Jensen J., Le C., Puumala S.S., Hecht S.S., Carmella S.G., Losey L., Hatsukami D.K.: A comparison of urinary biomarkers of tobacco and carcinogen exposure in smokers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 13: 1617-1623, 2004.
  178. Mutschler E., Geissinger G., Kroemer H.K., Schafer-Kortig M.: *Farmakologia i toksykologia.* Danysz A. (red.) Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner. Wrocław, 2001.
  179. Nakamura M.U., Alexandre S.M., Kuhn dos Santos J.F., de Souza E., Sass N., Auritscher Beck AP., Trayna E., Andrade CM., Barroso T., Kulay Junior L.: Obstetric and perinatal effects of active and/or passive smoking during pregnancy. *Sao Paulo Med. J.* 6: 94-98, 2004.

180. Namieśnik J., Górecki T., Wardencki W, Zygmunt B.: Secondary effects and pollutants of the environment. Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej, Gdańsk 1993.
181. Nashashibi N., Cardamakis E., Bolbos G., Tzingounis V.: Investigation of kinetic of lead during pregnancy and lactation. *Gynecol. Obstet. Invest.* 48: 158-162, 1999.
182. Navas-Acien A., Selvin E., Sharrett A.R., Calderon-Aranda E., Silbergeld E., Guallar E.: Lead, cadmium, smoking, and increased risk of peripheral arterial disease. *Circulation.* 109: 3196-3201, 2004.
183. Oddoze C., Dubus J.C., Badier M., Thirion X., Pauli A.M., Pastor J., Bruguerolle B.: Urinary cotinine and exposure to parental smoking in a population of children with asthma. *Clin. Chem.* 45: 505-509, 1999.
184. Ogawa H., Tominaga S., Hori K., Noguchi K., Kaniu I., Matsubara M.: Passive smoking by pregnant women and fetal growth. *J. Epidemiol. Common Health.* 45: 164-168, 1991.
185. Olson J.E., Vachon C.M., Vierkant R.A., Sweeney C., Limburg P.J., Cerhan J.R., Sellers T.A.: Prepregnancy Exposure to Cigarette Smoking and Subsequent Risk of Postmenopausal Breast Cancer. *Mayo Clin. Proc.* 80: 1423-1428, 2005.
186. Ong C.N., Chia S.E., Foo S.C., Ong H.Y., Tsakok M., Liouw P.: Concentrations of heavy metals in maternal and umbilical cord blood. *BioMetals.* 6: 61-66, 1993.
187. Otson R., Fellin P.: Volatile organics in the indoor environment: sources and occurrence. In: (ed. Nriagu J.O.) *Gaseous pollutants: Characterization and cycling*, J. Willey and Sons Inc.: 335-421, 1982.
188. Pach J., Piekoszewski W.: The preliminary study of the addictive substances used by high school students. *Acta Pol. Toxicol.* 8: 179-185, 2000.
189. Pacifici R., Pichini S., Altieri I., Rosa M., Bacosi A., Caronna A.: Determination of nicotine and two major metabolites in serum by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography, and high-performance liquid chromatography-particle beam mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 612: 209-213, 1993.
190. Państwowy Inspektorat Ochrony Środowiska /Państwowy Inspektorat Sanitarny. Zanieczyszczenie powietrza w Polsce w 1993 roku. Biblioteka Monitoringu Środowiska. Warszawa 1994.

191. Parviainen M.T., Barlow R.D.: Assessment of exposure to environmental tobacco smoke using a high performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of nicotine and two its metabolites in urine. *J. Chromatogr.* 431: 216-221, 1988.
192. Parviainen M.T., Puhakainen E.V.J.: Nicotine metabolites in the urine smokers. *J. Chromatogr.* 525: 193-202, 1990.
193. Pavanello S., Clonfero E.: Biological indicators of genotoxic risk and metabolic polymorphisms. *Mutat Res.* 463: 285-308, 2000.
194. Pavanello S., Favretto D., Brugnone F., Mastrangelo G., Dal Pra G., Clonfero E.: HPLC/fluorescence determination of anti-BPDE-DNA adducts in mononuclear white blood cells from PAH-exposed humans. *Cancerogenesis.* 2: 431-435, 1999.
195. Pavanello S., Simioli P., Carrieri M., Gregorio P., Clonfero E.: Tobacco-smoke indicators and urinary mutagenicity. *Mutat. Res.*, 521: 1-9, 2002.
196. Pearce M.S., Hayes L.: Self-reported smoking status and exhaled carbon monoxide: results from two population-based epidemiologic studies in the North of England. *Chest.*, 128: 1233-8, 2005.
197. Phillips D.H., Hewer A., Scholefield J.H., Skinner P.: Smoking-related DNA adducts in anal epithelium. *Mutation Res.* 560: 167-172, 2004.
198. Pickett K.E., Wakschlag L.S., Dai L., Leventhal B.L.: Fluctuations of maternal smoking during pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 101: 140-107, 2003.
199. Pickett K.E., Wakschlag L.S., Rathouz P.J., Leventhal B.L., Abrams B.: The working-class context of pregnancy smoking. *Health Place.* 8: 167-75, 2002.
200. Piekoszewski W., Florek E., Wrzosek J.: Using urinary cotinine tests to check the validity of tobacco smoking and ETS exposure survey responses. 3<sup>rd</sup> European Conference on Tobacco or Health Closing the Gaps – Solidarity for Health. Abstract III A4, Warsaw, 2002.
201. Piekoszewski W., Florek E.: Markery narażenia na dym tytoniowy. (Ed.) Katedra i Zakład Toksykologii Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego, Poznań 2001.
202. Piipari R., Nurminen T., Savela K., Hirvonen A., Mantyla T., Anttila S.: Glutathione S-transferases and aromatic DNA adducts in smokers' bronchoalveolar macrophages. *Lung Cancer.* 39: 265-272, 2003.



203. Pizent A., Jurasovic J., Telisman S.: Serum calcium, zinc, and copper in relation to biomarkers of lead and cadmium in men. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 17: 199-205, 2003.
204. Polanska K., Hanke W.: Influence of smoking during pregnancy on children's health--overview of epidemiologic studies. *Przegl. Epidemiol.* 59: 117-123, 2005.
205. Pond S.M., Kreek M.J., Tong T.G., Raghunath J., Benovitz N.L.: Altered methadone pharmacokinetics in methadone-maintained pregnant women. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 233: 1-6, 1985.
206. Powolny K., Kubicki J., Mączka M.: Wpływ palenia tytoniu na masę urodzeniową noworodków. *Przeg. Lek.* 61: 1001-1002, 2004.
207. Pulkkinen P.: Smoking and pregnancy, with special reference to fetal growth and certain trace element distribution between mother, placenta and fetus. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 69: 543-545, 1990.
208. Rabinowitz M.B., Wetherill G.W., Kopple J.D.: Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. *J. Clin. Invest.* 58: 260-270, 1976.
209. Raport Komisji Toksykologicznej Rady Sanitarno-Epidemiologicznej. *Med. Pracy.* 44: 5-13, 1993.
210. Robertson A.S., Burge P.S., Cockrill B.L.: A study of serum thiocyanate concentrations in office workers as a means of validating smoking histories and assessing exposure to cigarette smoke. *Br. J. Ind. Med.* 44: 351-354, 1987.
211. Rodriguez J.W., Kohan M.J., King L.C., Kirilin W.G.: Detection of DNA adducts in developing CD4+CD8+thymocytes and splenocytes following in utero exposure to benzo[a]pyrene. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 24: 365-381, 2002.
212. Roels H., Hubermont G., Buchet J.P., Lauwerys R.: Placental transfer of lead, mercury, cadmium, and carbon monoxide in women. *Environ. Research.* 16: 236-247, 1978.
213. Rop P.P.: Determination of nicotine and its main metabolites in urine by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 612: 302-309, 1993.
214. Rose J., Behm F.: Effects of low nicotine content cigarettes on smoke intake. *Nicotine Tob Res.*, 6: 309-19, 2004.
215. Rubin D.H., Krasilnikoff P.A., Leventhal J.M., Weile B., Berget A.: Effect of passive smoking on birth-weight. *Lancet.* 2: 415-417, 1986.

216. Saito R.: The smoking habits of pregnant women and their husbands, and the effect on their infants. *Nippon Koshu Eisei Zasshi*. 38: 124-131, 1991.
217. Salam M.T., Millstein J., Li Y.F., Lurmann F.W., Margolis H.G., Gilliland F.D.: Birth outcomes and prenatal exposure to ozone, carbon monoxide, and particulate matter: Results from the children's health study. *Environ. Health Perspect.* 113: 1638-1644, 2005.
218. Sanyal M.K., Li Y.L., Biggers W.J., Satish J., Barnea E.R.: Augmentation of polynuclear aromatic hydrocarbon metabolism of human placental tissues of first-trimester pregnancy by cigarette smoke exposure. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 168: 1587-1597, 1993.
219. Schutz A., Skerfving S., Ranstam J., Christofferson J.O.: Kinetics of lead in blood after the end of occupational exposure. *Scand. J. Work. Environ. Health.* 13: 221-231, 1987.
220. Secher N.J., Hjortdal J., Hjortdal V.: Smoking affects fetal growth selectively. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 69: 469-471, 1990.
221. Secker-Walker R.H., Vacek P.M., Flynn B.S., Mead F.B.: Estimated gains in birth weight associated with reductions in smoking during pregnancy. *J. Reprod. Med.* 43: 967-974, 1986.
222. Seńczuk W.(red.): *Toksykologia.*, PZWL, Warszawa, 2005.
223. Sipowicz M.A., Laudanski T.: Smoking in pregnancy-long term effect. *Ginekol. Pol.* 73: 546-552, 2002.
224. Sirivarasai J., Kaojaren S., Wananukul W., Srisomerang P.: Non-occupational determinants of cadmium and lead in blood and urine among a general population in Thailand. *South East Asian J. Tropical Med. Pub. Health.* 33: 180-187, 2002.
225. Siroux V., Guilbert P., Le Moual N., Oryszczyn M.P., Kauffmann F.: Influence of asthma on the validity of reported lifelong environmental tobacco smoke in the EGEA study. *Eur. J. Epidemiol.*, 19(9): 841-849, 2004.
226. Sirover M.A., Lob L.A.: Infidelity of DNA synthesis in vitro: Screening for potential mutagens or cancirogens. *Science.* 194: 1434-1436, 1976.
227. Skolnick E.T., Vomvolakis M.A., Buck K.A., Mannino S.F., Sun L.S.: Exposure to environmental tobacco smoke and the risk of adverse respiratory events in children receiving general anesthesia. *Anesthesiology.* 88: 1144-1153, 1998.

228. Sobczak A., Wardas W., Szołtysek-Bołdys I.: Ocena narażenia studentów, mieszkańców domu studenckiego, na dym tytoniowy. *Przeg. Lek.* 61: 1094-1097, 2004.
229. Sorensen H.T., Labouriau R., Jensen E.S., Mortensen P.B., Schonheyder H.C.: Fetal growth, maternal prenatal smoking, and risk of invasive meningococcal disease: a nationwide case-control study. *Int. J. Epidemiol.* 33: 816-820, 2004.
230. Steenland K., Sieber K., Etzel R.A., Pechacek T., Maurer K.: Exposure to environmental tobacco smoke and risk factors for heart disease among never smokers in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am. J. Epidemiol.* 147: 932-939, 1998.
231. Stevens K.R., Munoz L.R.: Cigarette smoking: Evidence to guide measurement. *Res. Nurs. Health.* 27: 281-292, 2004.
232. Stohs S.J., Bagchi D.: Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic. Biol Med.*, 18: 321-36, 1995.
233. Swan G.E., Benowitz N.L., Lessov C.N., Jacob P., Tyndale R.F., Wilhelmsen K.: Nicotine metabolism: the impact of CYP2A6 on estimates of additive genetic influence. *Pharmacogenet. Genomics.* 15: 115-125, 2005.
234. Świąteczak J., Cimander B.: Kadm w środowisku. *Medycyna Pracy* XLVI, Supl. 5: 39-56, 1995.
235. Tan R.S., Phillip P.S.: Perceptions of and risk factors for andropause. *Arch. Androl.* 43: 227-233, 1999.
236. Thapliyal R., Dolas S.S., Pakhale S.S., Maru G.B.: Evaluation of DNA damage in mice topically expose to total particulate matter from mainstream and sidestream smoke from cigarettes and bidis. *Mutagenesis.* 19: 413-421, 2004.
237. Thurston S.W., Liu G., Miller D.P., Christiani D.C.: Modeling Lung Cancer Risk in Case-Control Studies Using a New Dose Metric of Smoking. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, Vol. 14: 2296-2302, 2005.
238. Tomblin J.B., Hammer S.C., Hang X.: The association of prenatal tobacco use and SLI. *Int. J. Lang Commun. Disord.*, 33: 357-368, 1998.
239. Toxicological Profile for Lead. US Department of Health and Human Services. Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1993.

240. Truska P., Rosival L., Balazova G., Hinst J., Rippel A., Palusova O., Grunt J.: Blood and placental concentrations of cadmium, lead, and mercury in mothers and their newborns. *J. Hygien. Epidem. Microbiol. Immunol.* 33: 141-147, 1989.
241. Tuschiya K., Lead W.: Handbook of the toxicology of metals. T II. Friberg L., Nordberg G.F., Vouk V.B. (red.) Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford: 299-353, 1986.
242. Ubbink J.B., Lagendijk J., Vermaak W.H.H.: Simple high-performance liquid chromatographic method to verify the direct barbituric acid assay for urinary cotinine. *J. Chromatogr.* 620: 254-259, 1993.
243. Urbanek-Karłowska B., Wojciechowska-Mazurek M., Starska K.: Ocena zawartości kadmu w wybranych grupach produktów spożywczych. *Med. Pracy.* XLVI, Supl. 5: 57-61, 1995.
244. Van der Vaart H., Postma D.S., Timens W., Ten Hacken N.H.T.: Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review. *Thorax.*, 59: 713-721, 2004.
245. Van Schooten F.J., Boots A.W., Knaapen A.M., Godschalk R.W., Maas L.M., Borm P.J., Drent M., Jacobs J.A.: Myeloperoxidase (MPO)-463G->A reduces MPO activity and DNA adducts levels in bronchoalveolar lavages of smokers. *Cancer. Epidemiol. Biomarkers Prev.* 13: 828-833, 2004.
246. Ventura S.J., Curtin S.C., Martin J.A., Menacker F., Hamilton B.E.: Births: final data for 1999. *Nation. Vital Stat. Reports*, 49: 1-100, 2001.
247. Ventura S.J., Hamilton B.E., Mathews T.J., Chandra A.C.: Trends and variations in smoking during pregnancy and low birth weight: evidence from the birth certificate, 1990-2000. *Pediatrics.* 111: 1176-1180, 2003.
248. Ventura S.J., Martin J.A., Curtin S.C., Mathews T.J.: Report of final natality statistics, 1996. *Monthly Vital Stat. Report.* 46, Supl. 11: 1-99, 1998.
249. Vermeulen A., Kaufman J.M.: Ageing of the hypothalamo-pituitary-testicular axis in men. *Hormon Res.* 43: 25-28, 1995.
250. Wald N.J., Hackshaw A.K.: Cigarette smoking: an epidemiological overview. *Br. Med. Bull.* 52: 3-11, Oxford University Press, 1996.
251. Weaver V.M., Davoli C.T., Murphy S.E., Sunyer J., Heller P.J., Colosimo S.G., Groopman J.D.: Environmental tobacco smoke exposure in inner-city children. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 5: 135-137, 1996.
252. WHO Health for All Database, <http://hfadb.who.dk/hfa>, 2005.

253. WHO. Air Quality Guidelines for Europe. Who Regional Publications, Europe. Series No. 23, 1987.
254. WHO. Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace. T. I. WHO, Geneva, 1996.
255. Williams M.A., Mittendorf R., Lieberman E., Monson R.R., Schoenbaum S.C., Genest D.R.: Cigarette smoking during pregnancy in relation to placenta previa. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 165: 28-32, 1991.
256. Williams M.A., Mittendorf R., Stubbelfield P.G., Lieberman E., Schoenbaum S.C., Monson R.R.: Cigarette, coffee and preterm premature rupture of the membranes. *Am. J. Epidemiol.* 135: 895-903, 1992.
257. Windham G.C., Bottomley C., Birner C., Fenster L.: Age at menarche in relation to maternal use of tobacco, alcohol, coffee, and tea during pregnancy. *Am. J. Epidemiol.* 159: 862-871, 2004.
258. Windham G.C., Swan S.H., Fenster L.: Parental Cigarette Smoking and the Risk of Spontaneous Abortion. *Am. J. Epidemiol.* 135: 1394-1403, 1992.
259. Winneke G., Brockhaus A., Ewers U., Kramer U., Neuf M.: Results from the European multicenter study on lead neurotoxicity in children: implications for risk assessment. *Neurotox. Teratol.* 12: 553-559, 1990.
260. Wittmers L.E., Aufderheide A.C., Wallgren J., Rapp G., Alich A.: Lead in bone. IV Distribution of Lead in the human skeleton. *Arch. Environ. Health.* 43: 381-391, 1988.
261. Wojculewicz J., Kawińska-Kiliańczyk A., Szczapa J.: Palenie papierosów w ciąży, a symetria wzrastania noworodków urodzonych w regionie pomorskim w 2000 roku. *Przeg. Lek.* 61: 997-1000, 2004.
262. Wood T., Wewers M.E., Groner J., Ahijevych K.: Smoke constituent exposure and smoking topography of adolescent daily cigarette smokers. *Nicotine Tobacco Res.* 6: 853-862, 2004.
263. [www.inchem.org](http://www.inchem.org)
264. Yang M., Kunugita N., Kitagawa K., Kang S.H., Coles B., Kadlubar F.F., Katoh T., Matsuno K., Kawamoto T.: Individual differences in urinary cotinine levels in Japanese smokers. *Cancer Epidemiol. Biom. Prev.* 10: 589-593, 2001.
265. Yasuda H., Yamaya M., Nakayama K., Ebihara S., Sasaki T., Okinaga S., Inoue D., Asada M., Nemoto M., Sasaki H.: Increased arterial carboxyhemoglobin

- concentrations in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 171: 1246-1251, 2005.
266. Zhang X., Shu X.O., Yang G., Li H.L., Xiang Y.B., Gao Y.T., Li Q., Zheng W.: Association of passive smoking by husbands with prevalence of stroke among Chinese women nonsmokers. *Am. J. Epidemiol.* 161: 213-218, 2005.
267. Złotkowska R.: Bierne palenie tytoniu, atopia i stan układu oddechowego u dzieci szkolnych. *Przeg Lek.* 61: 1057-1060, 2004.
268. Zuccaro P., Altieri I., Rosa M., Passa A.R., Pichini S., Pacifici R.: Solid-phase extraction of nicotine and its metabolites for high-performance liquid chromatographic determination in urine. *J. Chromatogr. B.* 668: 187-188, 1995.
269. Zuccaro P., Altieri I., Rosa M., Passa A.R., Pichini S., Ricciarello G., Pacifici R.: Determination of nicotine and four metabolites in the serum of smokers by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. Chromatogr.* 621: 257-261, 1993.