

Karol Bukowski
Katarzyna Woźniak

POLIMORFIZM GENÓW KODUJĄCYCH BIAŁKA NAPRAWY DNA A ZAWODOWE I ŚRODOWISKOWE NARAŻENIE NA OŁÓW, ARSEN I PESTYCYDY

POLYMORPHISM OF GENES ENCODING PROTEINS OF DNA REPAIR
VS. OCCUPATIONAL AND ENVIRONMENTAL EXPOSURE TO LEAD, ARSENIC AND PESTICIDES

Uniwersytet Łódzki / University of Lodz, Łódź, Poland
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Genetyki Molekularnej / Faculty of Biology and Environmental Protection,
Department of Molecular Genetics

STRESZCZENIE

Polimorfizm genetyczny wiąże się z występowaniem w populacji co najmniej 2 różnych alleli w danym locus z częstością większą niż 1%. Wyróżniamy m.in. polimorfizm pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphism – SNP) i polimorfizm zmiennej liczby powtórzeń tandemowych. Występowanie określonych polimorfizmów w genach kodujących enzymy naprawy DNA jest związane z szybkością i wydajnością naprawy DNA oraz może chronić lub narażać daną osobę na skutki działania określonego ksenobiotyku. Związki chemiczne takie, jak ołów, arsen i pestycydy odznaczają się dużą toksycznością. Opisano wiele różnych polimorfizmów genów kodujących enzymy naprawy DNA, które mają wpływ na skuteczność naprawy uszkodzeń DNA indukowanych przez te ksenobiotyki. W przypadku ołowiu zbadano wpływ polimorfizmów genów: *APE1* (apurinic/apirimidinic endonuclease 1 – endonukleaza miejsca apurynowego/apirimidynowego) (rs1130409), *hOGG1* (human 8-oxoguanine glycosylase – glikozylaza 8-oksoguaniny) (rs1052133), *XRCC1* (X-ray repair cross-complementing protein group 1 – białko biorące udział w naprawie DNA przez wycinanie zasad) (rs25487), *XRCC1* (rs1799782) oraz *XRCC3* (X-ray repair cross-complementing protein group 3 – białko biorące udział w naprawie DNA przez rekombinację homologiczną) (rs861539). Dla arsenu przedstawiono w niniejszej pracy wyniki badań dotyczących następujących polimorfizmów: *ERCC2* (excision repair cross-complementing – białko biorące udział w naprawie DNA przez wycinanie nukleotydów) (rs13181), *XRCC3* (rs861539), *APE1* (rs1130409) oraz *hOGG1* (rs1052133). W odniesieniu do pestycydów w pracy przedstawiono zarówno osobny, jak i łączny wpływ polimorfizmów genów takich, jak *XRCC1* (rs1799782), *hOGG1* (rs1052133), *XRCC4* (X-ray repair cross-complementing protein group 4 – białko biorące udział w naprawie DNA przez łączenie końców niehomologicznych) (rs28360135) i genu kodującego enzym detoksykacyjny paraoksonazę *PON1* (paraoxonase 1) (rs662). Med. Pr. 2018;69(2):225–235

Słowa kluczowe: polimorfizm genetyczny, arsen, pestycydy, ołów, uszkodzenia DNA, geny naprawy DNA

ABSTRACT

Genetic polymorphism is associated with the occurrence of at least 2 different alleles in the locus with a frequency higher than 1% in the population. Among polymorphisms we can find single nucleotide polymorphism (SNP) and polymorphism of variable number of tandem repeats. The presence of certain polymorphisms in genes encoding DNA repair enzymes is associated with the speed and efficiency of DNA repair and can protect or expose humans to the effects provoked by xenobiotics. Chemicals, such as lead, arsenic pesticides are considered to exhibit strong toxicity. There are many different polymorphisms in genes encoding DNA repair enzymes, which determine the speed and efficiency of DNA damage repair induced by these xenobiotics. In the case of lead, the influence of various polymorphisms, such as *APE1* (apurinic/apirimidinic endonuclease 1) (rs1130409), *hOGG1* (human 8-oxoguanine glycosylase) (rs1052133), *XRCC1* (X-ray repair cross-complementing protein group 1) (rs25487), *XRCC1* (rs1799782) and *XRCC3* (X-ray repair cross-complementing protein group 3) (rs861539) were described. For arsenic polymorphisms, such as *ERCC2* (excision repair cross-complementing) (rs13181), *XRCC3* (rs861539), *APE1* (rs1130409) and *hOGG1* (rs1052133) were examined. As to pesticides, separate and combined effects of polymorphisms in genes encoding DNA repair enzymes, such as *XRCC1* (rs1799782), *hOGG1* (rs1052133), *XRCC4* (X-ray repair cross-complementing protein group 4) (rs28360135) and the gene encoding the detoxification enzyme *PON1* paraoxonase (rs662) were reported. Med Pr 2018;69(2):225–235

Key words: genetic polymorphism, arsenic, pesticides, lead, DNA damage, DNA repair genes

Autorka do korespondencji / Corresponding author: Katarzyna Woźniak, Uniwersytet Łódzki,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Genetyki Molekularnej, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź,
e-mail: katarzyna.wozniak@biol.uni.lodz.pl
Nadesłano: 13 stycznia 2017, zatwierdzono: 13 lipca 2017

WSTĘP

Gwałtowny rozwój cywilizacji w ostatnich latach doprowadził do znacznego skażenia środowiska szkodliwymi związkami chemicznymi, w mniejszym lub większym stopniu docierającymi do organizmu człowieka i uszkadzającymi jego komórki. W toku ewolucji wykształciły się mechanizmy detoksykacji szkodliwych substancji i systemy naprawy uszkodzonego DNA. Systemy naprawy DNA, takie jak naprawa bezpośrednia (DNA direct repair – DDR), naprawa błędnie sparowanych nukleotydów (DNA mismatch repair – MMR), naprawa przez wycinanie zasad (base excision repair – BER) lub nukleotydów (nucleotide excision repair – NER) czy naprawa dwuniciowych pęknięć DNA [1,2], chronią człowieka przed uszkodzeniami DNA indukowanymi przez ksenobiotyki (tab. 1). Naprawa DNA jest niezbędną do utrzymania stabilności i integralności genomowej, a jej znaczące zmiany mogą zasadniczo wpływać na genotyp oraz fenotyp komórki. Zmiany te mogą przyczyniać się do wzmożonej proliferacji komórek i ostatecznie do ekspansji komórek zmienionych nowotworowo.

W literaturze można znaleźć wiele informacji wskazujących na ważną rolę, jaką odgrywa polimorfizm genów naprawy DNA w ocenie ryzyka narażenia na ksenobiotyki. Polimorfizm genetyczny definiuje się jako występowanie w populacji 2 lub więcej alleli w danym locus z częstością powyżej 1%, w odróżnieniu od mutacji, które są zjawiskiem występującym znacznie rzadziej. Indywidualne różnice w reakcji na ksenobiotyki mogą wynikać z występowania określonych polimorfizmów w genach kodujących enzymy naprawy DNA czy

enzymy I i II fazy detoksykacji. Występowanie określonych wariantów alleli może chronić lub narażać daną osobę na skutki działania ksenobiotyku. Wydajność i szybkość naprawy DNA jest ściśle skorelowana z polimorfizmem genetycznym genów kodujących enzymy naprawy DNA [3,4].

Za zmienność ludzkiego genomu odpowiadają przede wszystkim polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (single nucleotide polymorphisms – SNPs). Występują one co 500–1000 nukleotydów, więc odpowiadają za kilka milionów polimorfizmów w całym genomie człowieka. Zbadano wiele polimorfizmów typu SNP w genach kodujących enzymy naprawy DNA, takie jak APE1 (apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 – endonukleaza miejsca apurynowego/apirymidynowego), hOGG1 (human 8-oxoguanine glycosylase – glikozylaza 8-oksoguaniny) czy XRCC1 (X-ray repair cross-complementing protein group 1 – białko biorące udział w naprawie DNA przez wycinanie zasad), które istotnie wpływają na skuteczność zapobiegania uszkodzeniom DNA indukowanym przez ksenobiotyki.

Polimorfizmy typu SNP występują w regionach kodujących i niekodujących genów, jak również w sekwencjach regulatorowych, np. w promotorach genów. Należy podkreślić charakterystyczną cechę polimorfizmów typu SNP związaną ze zróżnicowaną częstością ich występowania w obrębie różnych grup etnicznych. Polimorfizmy DNA oparte na delecji lub insercji jednego nukleotydu czy ich większej liczby możemy podzielić na te z allelami wielokrotnymi (multialleliczne) i dotyczące 2 alleli (dialleliczne). Niemal wszystkie polimorfizmy multialleliczne są oparte na powtórzeniach tande-

Tabela 1. Główne systemy naprawy DNA i typy uszkodzeń DNA*
Table 1. Main DNA repair systems and types of DNA damage*

Mechanizm naprawy DNA DNA repair mechanism	Uszkodzenie DNA DNA damage
Naprawa bezpośrednia DNA / Direct DNA repair (DDR)	pęknięcia nici DNA / DNA strand breaks uszkodzenia alkilacyjne / alkylation damages dimery pirymidynowe / pyrimidine dimers
Naprawa przez wycinanie zasad / Base excision repair (BER)	uszkodzenia oksydacyjne i alkilacyjne / oxidative and alkylation damages
Naprawa przez wycinanie nukleotydów / Nucleotide excision repair (NER)	uszkodzenia zniekształcające helisę DNA – addukty DNA, dimery pirymidynowe i purynowe / damages distorting the helix of DNA – DNA adducts, pyrimidine and purine dimers
Naprawa przez łączenie końców niehomologicznych / Nonhomologous end-joining (NHEJ)	dwuniciowe pęknięcia DNA / DNA double strand breaks
Naprawa przez rekombinację homologiczną / Homologous recombination repair (HRR)	dwuniciowe pęknięcia DNA / DNA double strand breaks
Naprawa błędnie sparowanych nukleotydów / Mismatch repair (MMR)	błędy replikacyjne / replication errors

* Na podstawie / Based on: Nickoloff J.A. i wsp. / et al.: Drugging the cancers addicted to DNA repair [1].

mowych, znanych również jako powtórzenia mikrosatelitarne (short tandem repeat polymorphism – STRP) lub minisatelitarne (variable number of tandem repeats – VNTR).

Celem niniejszej pracy było przedstawienie najnowszych wyników badań dotyczących znaczenia polimorfizmów genów naprawy DNA w kontekście narażenia zawodowego oraz środowiskowego na ołów, arsen i pestycydy.

METODY PRZEGLĄDU

Materiał do niniejszego artykułu zebrano, przeglądając dostępną literaturę w bazach PubMed, Elsevier, Springer, Google i SNPedia. Szukano wiadomości na temat polimorfizmu genów naprawy DNA oraz toksyczności arsenu, ołowiu i pestycydów. Analizowano prace w językach polskim i angielskim. Do przeglądu wykorzystano oryginalne prace badawcze i prace poglądowe związane z opisywanym tematem, opublikowane głównie w ciągu ostatnich 10 lat. Prace te stanowią 83% cytowanego piśmiennictwa.

Do wyszukiwania piśmiennictwa użyto następujących słów kluczowych i ich kombinacji: ksenobiotyki (xenobiotics), arsen (arsenic), trójtlenek arsenu (arsenic trioxide), ołów (lead), pestycydy (pesticides), polimorfizm genów (gene polymorphism), uszkodzenia DNA (DNA damage), naprawa DNA (DNA repair) oraz narażenie zawodowe (occupational exposure).

WYNIKI PRZEGLĄDU

Zawodowe i środowiskowe narażenie na ołów, arsen i pestycydy

Ołów (Pb)

Należy on do grupy metali ciężkich i chociaż działa toksycznie na organizm człowieka, jest powszechnie wykorzystywany w różnych dziedzinach przemysłu oraz rolnictwie. Do naturalnych źródeł zanieczyszczenia środowiska ołowiem należą erupcje wulkanów i pożary lasów. Największy udział w emisji ołowiu ma przemysł wydobywczy (kopalnie), hutniczy, motoryzacyjny i rolnictwo (głównie nawozy fosforowe i pestycydy). Ołów jest wykorzystywany w produkcji i recyklingu akumulatorów, naprawie samochodów, produkcji tworzyw sztucznych, ceramiki, farb i barwników. Odgrywa również istotną rolę w produkcji i recyklingu baterii [5].

Do niekorzystnych efektów, jakie wywiera ten metal, można zaliczyć uszkodzenia układów: nerwowego, krwionośnego, krwiotwórczego i rozrodczego, a także

nerek oraz wątroby [6,7]. Podczas zatrucia ołowiem może dojść do uszkodzenia istoty białej mózgu. Ołów wpływa na układ nerwowy na 3 poziomach:

- powoduje zaburzenia psychiczne (lęk, halucynacje, pobudzenie i zespoły psychiatryczne),
- skutkuje bólami brzucha, zaparciami, wymiotami, nadciśnieniem tętniczym i tachykardią,
- wywołuje zaburzenia ruchowe (niedowłady i porażenia).

Przypuszcza się, że ołów wpływa na powstawanie i rozwój choroby Alzheimerera, zwiększa ryzyko zachorowania na chorobę Parkinsona oraz powoduje dysfunkcję neuronów substancji czarnej mózgu [8].

Ołów ma właściwości utleniające, dlatego może indukować reaktywne formy tlenu (RFT), które prowadzą do uszkodzeń materiału genetycznego. Badania wykazały, że ołów przyczynia się do powstawania mikrojąder, aberracji chromosomowych i wpływa na zwiększoną częstość wymiany chromatyd siostrzanych. Obserwowano także pęknięcia jednej lub dwóch nici DNA i wiązania krzyżowe DNA-białko [9]. Metal ten indukuje 8-oksoguaninę, mutagenny produkt oksydacji zasad azotowych.

Ołów może także prowadzić do utraty glutationu i hamować enzymy biorące udział w ochronie antyoksydacyjnej komórki. Ponadto może zastępować wapń i cynk w białkach, powodując ich zmiany strukturalne oraz funkcjonalne. Zmiany te mogą następnie wywoływać zaburzenia w ekspresji genów, hamowanie procesów naprawy DNA i stymulację syntezy DNA [9]. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (International Agency for Research on Cancer – IARC) klasyfikuje nieorganiczne związki ołowiu jako prawdopodobnie rakotwórcze dla ludzi (grupa 2A) [6].

Arsen (As)

Jest pierwiastkiem powszechnie występującym w przyrodzie. Ponadto znajduje się w żywności (szczególnie w rybach), wodzie pitnej (źródło arsenianów i arseninów) i napojach, a także w produktach tytoniowych oraz lekach [10,11].

Największe ilości arsenu przedostają się do środowiska w wyniku działalności antropogenicznej, takiej jak hutnictwo, górnictwo czy stosowanie pestycydów. W wielu krajach (np. w Indiach, Wietnamie czy na Tajwanie) dużym problemem jest obecność arsenu w wodach gruntowych. Na arsen w wodzie pitnej narażonych jest 137 mln ludzi w 70 państwach, głównie w Indiach, Chinach, Japonii, na Tajwanie, w Argentynie i USA [12]. W środowisku pracy arsen jest wchłaniany przede wszystkim drogą inhalacyjną, poprzez

wdychanie stałych cząstek zawierających nieorganiczny arsen 3- lub 5-wartościowy.

Na ekspozycję zawodową na arsen są narażone osoby zatrudnione w hutach miedzi, cynku i ołowiu, w przemyśle chemicznym, farmaceutycznym, włókienniczym, szklarskim oraz ceramicznym, a także pracownicy elektrowni, w których spalany jest węgiel o wysokiej zawartości As. Dotyczy to również osób pracujących w leśnictwie czy przy produkcji niektórych środków ochrony roślin.

Mechanizm toksycznego działania arsenu polega na hamowaniu aktywności enzymów mitochondrialnych oraz zaburzeniu procesów metylacji i fosforylacji oksydacyjnej [10]. Według danych literaturowych przewlekłe zatrucie związkami As i iAs (nieorganicznymi związkami arsenu), występującymi w wysokich stężeniach w powietrzu (kilkaset $\mu\text{g}/\text{m}^3$), jest związane przede wszystkim ze zmianami w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym. Odnotowywane są także zaburzenia poznawcze czy trudności z koncentracją uwagi. Znany ciężkim i przewlekłym schorzeniem jest polineuropatia arsenowa, która łączy się z zaburzeniami czuciowymi oraz ruchowymi. Do chorób układu nerwowego, które są wynikiem toksycznego działania As i iAs, można także zakwalifikować pozagłokowe zapalenie nerwu wzrokowego, uszkodzenie nerwu słuchowego lub nerwu węchowego.

Przewlekłe zatrucie As i iAs przejawia się zmianami w układzie oddechowym (perforacje przegrody nosowej, zapalenia gardła, krtani i oskrzeli), zmianami skórnymi (rogowacenie naskórka, kontaktowe przebarwienia i zapalenie skóry), uszkodzeniami wątroby oraz układu krążenia (np. zespół Raynauda czy uszkodzenie mięśnia sercowego) i krwiotwórczego [10].

Przeprowadzone badania potwierdziły mutagenne działanie arsenu oraz jego właściwości rakotwórcze, spowodowane tzw. klastogenezą, tj. wywoływaniem aberracji chromosomalnych w limfocytach krwi obwodowej i nasileniem procesu wymiany chromatyd siostrzanych. Arsen wykazuje toksyczność w wyniku indukcji zmian genetycznych, stresu oksydacyjnego, zwiększonej proliferacji komórek i zmienionej ekspresji genów. Działanie rakotwórcze arsenu obserwuje się głównie po ekspozycji drogą inhalacyjną (rozwój nowotworów płuc i skóry) [13,14].

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) uznała arsen i jego związki za substancje rakotwórcze oraz umieściła je w grupie 1., do której należą związki o udowodnionym epidemiologicznie rakotwórczym działaniu [11]. Ponadto badania przeprowadzo-

ne w Bangladeszu wykazały związek polimorfizmów genów kodujących białka związane z metabolizmem arsenu, stresem oksydacyjnym, procesem zapalnym i dysfunkcją śródbłonna z występowaniem chorób kardiologicznych w następstwie narażenia na arsen [15].

Pestycydy

To substancje chemiczne, syntetyczne lub naturalne, stosowane do zwalczania organizmów szkodliwych lub niepożądanych. Wprowadzenie pestycydów do użycia przyniosło liczne korzyści, dlatego obecnie ze względu na zwiększającą się liczbę ludzi na świecie i konieczność uzyskania odpowiedniej ilości płodów rolnych funkcjonowanie rolnictwa bez tych preparatów jest niemożliwe. Ich zużycie ciągle więc wzrasta.

W Polsce w 2000 r. sprzedaż środków ochrony roślin wynosiła 22 tys. ton, a w 2012 r. była prawie 3-krotnie większa i wynosiła 61,5 tys. ton [16]. W strukturze sprzedaży dominowały herbicydy, następnie fungicydy, insektycydy, natomiast najmniejszy procentowy udział przypadła na rodentycydy i regulatory wzrostu [16].

Oprócz niekwestionowanych korzyści powszechne wykorzystywanie pestycydów wpływa także szkodliwie na środowisko, w tym na zdrowie i życie człowieka. Narażenie na działanie pestycydów jest poważnym problemem zdrowia publicznego ze względu na szeroką dystrybucję tych związków i ich możliwe skutki długoterminowe. Do osób zawodowo narażonych na działanie pestycydów należą rolnicy oraz osoby pracujące przy produkcji, transporcie i sprzedaży tych związków.

Ekspozycja na pestycydy wiąże się ze wzrostem ryzyka występowania chłoniaka nieziarniczego [17], raka płuca [18], raka trzustki [19], raka prostaty [20], chorób neurodegeneracyjnych [21,22], a także chorób przewlekłych, np. cukrzycy [23,24]. Niektóre pestycydy (np. malation czy glifosat) są uznawane przez IARC za związki prawdopodobnie rakotwórcze dla ludzi i zwierząt laboratoryjnych [25]. W związku z tak szkodliwymi działaniami pestycydów ich wpływ na zdrowie człowieka powinien być monitorowany za pomocą biologicznych wskaźników (biomarkerów) oceniających ekspozycję, ryzyko zdrowotne czy osobniczą wrażliwość.

Wśród markerów wrażliwości ocenia się najczęściej polimorfizmy genów kodujących cytochrom P450, transferazy glutationowe (m.in. GSTM1 (glutathione S-transferase Mu 1), GSTP1 (glutathione S-transferase Pi 1), GSTT1 (glutathione S-transferase theta 1)), acetylotransferazy (np. N-acetylotransferase 2 – NAT2) czy paraoksonazę 1 (paraoxonase 1 – PON1), która uczest-

niczy w metabolizmie związków fosforoorganicznych, np. insektycydów, hydrolizując wiązania estrowe [26]. W przypadku narażenia na pestycydy osób z polimorficzną wersją genu *PONI* kodującą enzym o niskiej aktywności stwierdzono, że są one wrażliwsze na zatrucie parationem niż osoby z wersją genu *PONI* kodującą enzym o podwyższonej aktywności [27].

Liczne badania wskazują na działanie pestycydów jako induktorów aberracji chromosomowych, wymiany siostrzanych chromatyd i powstawania mikrojąder [28,29]. Jednym z nich było badanie przeprowadzone w grupie 173 pracowników winnicy w Caxias do Sul w Brazylii [29]. Spośród badanych grupę narażoną na toksyczne działanie pestycydów, głównie fosforoorganicznych i karbaminianów, tworzyło 108 rolników, a pozostałe 65 osób stanowiło grupę porównawczą. U osób narażonych na pestycydy stwierdzono wysoki poziom mikrojąder i znaczny poziom uszkodzeń DNA [29].

Wiele badań wskazuje także na korelację między polimorfizmem różnych genów a występowaniem nowotworów u rolników. Amr i wsp. [30] wykazali wzrost ryzyka raka pęcherza moczowego u rolników pracujących w Egipcie i mających kontakt z pestycydami (iloraz szans (odds ratio – OR) = 1,68, 95% przedział ufności (confidence interval – CI): 1,23–2,29). Cytowane badania wykazały także, że ryzyko to jest modulowane przez warianty polimorficzne 2 genów, kodujących dysmutazę ponadtlenkową 2 (superoxide dismutase 2 – SOD2) (rs4880) i oksydoreduktazę NADPH-chinon 1 (NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 – NQO1) (rs1800566) [30].

Polimorfizm genów kodujących białka naprawy DNA a zawodowe i środowiskowe narażenie na arsen, ołów i pestycydy

Ołów

Jednym z polimorfizmów genów naprawy DNA wpływających na toksyczność ołowiu jest polimorfizm genu *APE1* (rs1130409) kodującego ludzką endonukleazę APE1, która bierze udział w naprawie DNA typu BER. Polimorfizm ten polega na transwersji tyminy (T) do guaniny (G) w pozycji 444, co wiąże się z zamianą kwasu asparaginowego na kwas glutaminowy (Asp na Glu) (tab. 2) [31]. W badaniach McNeill i wsp. [32] przeprowadzonych *in vitro* stwierdzono, że ołów inaktywuje endonukleazę APE1, czego skutkiem może być nieprawidłowa naprawa DNA.

Garcia-Lestón i wsp. [33] ocenili wpływ polimorfizmów w genach naprawy DNA na genotoksyczne skutki zawodowej ekspozycji na ołów. Autorzy zbadali próbki krwi obwodowej pochodzące od 148 mężczyzn pracu-

jących w portugalskich fabrykach i mających kontakt z ołowiem w ochronie roślin lub w pracy z akumulatorami ołowioowymi oraz od 107 osób wykonujących prace administracyjne lub handlowe i nienarażonych na ołów. Badano związek polimorfizmów różnych genów, w tym *APE1* (rs1130409) oraz *hOGG1* (rs1052133), z poziomem uszkodzeń DNA i powstawaniem mikrojąder. Wykazano znaczny wzrost uszkodzeń DNA u homozygot GG w miejscu polimorficznym *APE1* (rs1130409). Garcia-Lestón i wsp. [33] sugerują, że zamiana aminokwasu modyfikuje strukturę białka, co prowadzi do efektywniejszego wiązania ołowiu zamiast magnezu w centrum aktywnym enzymu. Homozygoty GG w przypadku ekspozycji na ołów są więc wrażliwsze na inhibicję *APE1* i związane z tym uszkodzenia DNA.

Innym polimorfizmem występującym wśród genów naprawy DNA, związanym z reakcją na ołów, jest polimorfizm rs1052133 genu *hOGG1*, który znajduje się na chromosomie 3 (3p26.2). Gen ten koduje glikozylazę 8-oksyguaniny, która jest istotnym elementem systemu naprawczego BER [31,34]. Opisany polimorfizm *hOGG1* polega na transwersji cytozyny do guaniny, czego skutkiem jest zamiana seryny (Ser) na cysteinę (Cys) w pozycji 326 w łańcuchu polipeptydowym (tab. 2) [31]. Garcia-Lestón i wsp. [33] wykazali, że polimorfizm genu *hOGG1* (rs1052133) wpływa na poziom zmian oksydacyjnych u osób narażonych na ołów. Osoby z allelem G charakteryzowały się wyższym poziomem uszkodzeń oksydacyjnych w DNA w porównaniu z homozygotami CC u osób narażonych [33]. Badania te są zgodne z badaniami Kershaw i Hodgesa [35], które wykazały mniejszą efektywność naprawy oksydacyjnych uszkodzeń DNA w przypadku wariantu Cys326-*hOGG1*.

Kolejnym polimorfizmem badanym w odniesieniu do ekspozycji na ołów był polimorfizm genu *XRCC1* (rs25487). Białko XRCC1 uczestniczy w szlaku naprawy DNA typu BER. Polimorfizm ten polega na zamianie adeniny (A) na guaninę (G), czego konsekwencją jest występowanie argininy (Arg) zamiast glutaminy (Gln) w pozycji 399 (tab. 2) [31]. Według badań przeprowadzonych przez Lu i wsp. [36] osoby z genotypem GA lub AA cechowało mniejsze ryzyko wystąpienia skutków ekspozycji na ołów (OR = 0,31, 95% CI: 0,15–0,65).

Badania te obejmowały także inny polimorfizm genu *XRCC1* (rs1799782), w którym dochodzi do zamiany cytozyny (C) na tyminę (T), a w białku do zamiany argininy (Arg) na tryptofan (Trp) w pozycji 194 (tab. 2) [31]. Osoby o genotypie CT lub TT charakteryzowały się większą wrażliwością na ołów i w konsekwencji pod-

Tabela 2. Warianty polimorficzne genów naprawy DNA
Table 2. Polymorphic variants of DNA repair genes

Gen / mechanizm naprawy DNA Gene / DNA repair pathway	Numer SNP* SNP reference* (rs)	Genotyp Genotype	Częstość genotypów w populacji ogólnej Genotype frequency in the general population	Częstość rzadszego allele Minor allele count (MAF)	Zmiana aminokwasu Residue change	Piśmiennictwo References
APEI/BER	rs1130409	G/G	0,239	G = 0,3756/1881	D (Asp) → E (Glu)	33, 40
		G/T	0,450			
hOGG1/BER	rs1052133	T/T	0,309	G = 0,3021/1513	S (Ser) → C (Cys)	33, 40, 41
		C/C	0,510			
		C/G	0,388			
		G/G	0,100			
XRCC1/BER	rs25487	A/A	0,087	T = 0,2604/1304	Q (Gln) → R (Arg)	36
		A/G	0,357			
		G/G	0,554			
		C/C	0,776			
ERCC2/NER	rs1799782	C/T	0,194	A = 0,1238/620	R (Arg) → W (Trp)	36, 41
		T/T	0,029			
		G/G	0,098			
		G/T	0,234			
XRCC3/HRR	rs861539	T/T	0,666	G = 0,2366/1185	K (Lys) → Q (Gln)	38
		C/C	0,622			
		C/T	0,311			
		T/T	0,066			
XRCC4/NHEJ	rs28360135	C/C	–	A = 0,2169/1086	T (Thr) → M (Met)	37, 39
		C/T	0,153			
		T/T	0,846			
		C/C	0,637			
Lig4/NHEJ	rs1805388	C/T	0,349	C = 0,0144/72	I (Ile) → T (Thr)	33
		T/T	0,012			
		C/C	0,637			
		C/T	0,349			

* Na podstawie / Based on: National Center for Biotechnology Information: dbSNP [31].

APEI – endonukleaza miejsca apurynowego/apirymidynowego / apurinic/aprimidinic endonuclease 1, hOGG1 – glikozylaza 8-oksoguaniny / human 8-oxoguanine glycosylase, XRCC1 – białko biorące udział w naprawie DNA przez wycinanie zasad / X-ray repair cross-complementing protein group 1, ERCC2 – białko biorące udział w naprawie DNA przez wycinanie nukleotydów / excision repair cross-complementing, XRCC3 – białko biorące udział w naprawie DNA przez rekombinację homologiczną / X-ray repair cross-complementing protein group 3, XRCC4 – białko biorące udział w naprawie DNA przez łączenie końców niehomologicznych / X-ray repair cross-complementing protein group 4, Lig4 – ligaza 4 / ligase 4.

SNP – polimorfizm pojedynczych nukleotydów / single nucleotide polymorphism, MAF – częstość rzadszego allele / minor allele count.

G – guanina / guanine, T – tymina / thymine, C – cytozyna / cytosine, A – adenina / adenine, D (Asp) – kwas asparaginowy / aspartic acid, E (Glu) – kwas glutaminowy / glutamic acid, S (Ser) – seryna / serine, C (Cys) – cysteina / cysteine, Q (Gln) – glutamina / glutamine, R (Arg) – arginina / arginine, W (Trp) – tryptofan / tryptophan, K (Lys) – lizyna / lysine, T (Thr) – treonina / threonine, M (Met) – metionina / methionine, I (Ile) – izoleucyna / isoleucine. Inne skróty jak w tabeli 1 / Other abbreviations as in Table 1.

wyższym ryzykiem wystąpienia efektów poekspozycyjnych (OR = 2,46, 95% CI: 1,16–5,21) [33]. Dane literaturowe nie są jednak jednoznaczne, ponieważ Garcia-Lestón i wsp. [33] nie stwierdzili wpływu polimorfizmów w genie *XRCC1* (rs1799782 i rs25487) na poziom uszkodzeń DNA powstających w wyniku narażenia na ołów.

Innym istotnym polimorfizmem w aspekcie narażenia na ołów jest polimorfizm genu *XRCC3* (X-ray repair cross-complementing protein group 3 – białko biorące udział w naprawie DNA przez rekombinację homologiczną) (rs861539). Białko *XRCC3*, obok białka *RAD51*, uczestniczy w tworzeniu kompleksów nukleoproteiny i ich stabilizacji w naprawie DNA przez rekombinację homologiczną [1]. Polimorfizm ten polega na transycji cytozyny (C) do tyminy (T), czego efektem jest substytucja aminokwasów Thr214Met (tab. 2) [31]. Badania [37] przeprowadzone wśród 326 chińskich pracowników narażonych zawodowo na ołów dowiodły, że stężenie ołowiu we krwi osób o genotypie CT lub TT było znacznie wyższe (OR = 2,34, 95% CI: 1,61–5,13) w porównaniu z homozygotami CC.

Arsen

W 2007 r. Banerjee i wsp. [38] zbadali znaczenie polimorfizmu genu *ERCC2* (excision repair cross-complementing – białko biorące udział w naprawie DNA przez wycinanie nukleotydów) (rs13181) na ryzyko narażenia na arsen. Gen ten koduje białko *ERCC2*, które uczestniczy w naprawie DNA typu NER. Polimorfizm rs13181 polega na zamianie adeniny (A) w cytozynę (C) w kodonie 751, co prowadzi do zmiany lizyny (Lys) w glutaminę (Gln) (tab. 2) [31]. W badaniu brało udział 318 osób, które wypily wodę skażoną arsenem. U około połowy z nich (165 osób) stwierdzono hiperkeratozę (znaczne pogrubienie warstwy rogowej naskórka związane z nadmiernym rogowaceniem), a u pozostałych 153 osób nie zaobserwowano żadnych zmian.

U osób z fenotypem Lys/Lys wykazano uszkodzenia cytogenetyczne oraz znaczny wzrost zarówno aberracji chromosomowych, jak i liczby nieprawidłowych komórek. Ponadto stwierdzono u nich zwiększone rogowacenie i występowanie hiperkeratozy. Zaobserwowane różnice między osobami z genotypem AA a osobami z genotypem AC lub CC były istotne statystycznie. Banerjee i wsp. [38] wnioskuje, że genotyp AA wpływa na zmianę aktywności białka *ERCC2*, co prowadzi do nieefektywnej naprawy DNA. W związku z tym osoby z takim genotypem są znacznie bardziej narażone na hiperkeratozę wskutek ekspozycji na arsen (OR = 4,77,

95% CI: 2,75–8,23) w porównaniu z homozygotami CC i heterozygotami AC [38].

Innym polimorfizmem, który zbadano w kontekście ryzyka narażenia na arsen, jest polimorfizm genu *XRCC3* rs861539. Polega on na zamianie cytozyny na tyminę w kodonie 241, co wiąże się z zamianą treoniny (Thr) na metioninę (Met) (tab. 2) [31]. Kundu i wsp. [39] badali związek tego polimorfizmu z wpływem arseniku na powstawanie zmian przedrakowych i chorób nienowotworowych. W badaniu klinicznym przeprowadzonym przez cytowanych autorów w Bengalu Zachodnim w Indiach uczestniczyło 206 osób ze zmianami skórnymi wywołanymi przez arsenik i 215 osób nienarażonych na arsen. Wyniki jednoznacznie wykazały, że obecność przynajmniej 1 allele T (Met/Met lub Thr/Met) zapobiega zmianom skórnym, neuropatii obwodowej i zapaleniu spojówek.

Kundu i wsp. [39] zauważyli także znaczącą korelację między genotypami TT i TC a zmniejszeniem częstości aberracji chromosomowych oraz uszkodzeń DNA wskutek ekspozycji na arsen w stosunku do osób z genotypem CC. Dane wykazały, że obecność co najmniej 1 allele Met (Met/Met lub Thr/Met) chroniła przed rozwojem zmian skórných wywoływanych arsenem (OR = 0,45, 95% CI: 0,30–0,6), neuropatii obwodowej (OR = 0,49, 95% CI: 0,30–0,82) i zapaleniem spojówek (OR = 0,60, 95% CI: 0,40–0,92) [39].

Podobnie jak w narażeniu na ołów badacze podkreślają istotną rolę polimorfizmu rs1052133 genu *hOGG1* i polimorfizmu rs1130409 genu *APE1* także w narażeniu na arsen. Fujihara i wsp. [40] ocenili stężenie 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny (8-OHdG) w moczu u 100 Wietnamczyków narażonych na podwyższony poziom arsenu. W badanej populacji w przypadku polimorfizmu genu *hOGG1* homozygoty GG wykazały wyższe stężenie 8-OHdG w porównaniu z homozygotami CC i heterozygotami GC. Podobna zależność występowała w przypadku polimorfizmu genu *APE1*, w którym heterozygoty TG charakteryzowały się wyższym stężeniem 8-OHdG w moczu w porównaniu z homozygotami TT.

Pestycydy

Rohr i wsp. [41] oceniali wpływ polimorfizmów genu *PON1* rs662 oraz genów *XRCC1* i *hOGG1* na uszkodzenia DNA u rolników z południowych rejonów Brazylii. Uszkodzenia DNA były oceniane metodą kometową i testem mikrojądrowym. Badaniom poddano limfocyty pobrane od 107 rolników i 73 osób niemających bezpośredniego kontaktu z pestycydami. U rol-

ników stwierdzono wyraźne różnice międzysobnicze w liczbie powstałych mikrojąder względem polimorfizmu rs662. Polega on na zamianie adeniny na guaninę w pozycji 672, co wiąże się z zamianą glutaminy (Gln) w pozycji 192 na argininę (Arg) [31].

Wyniki wykazały, że homozygoty Gln/Gln charakteryzowały się zwiększoną częstością występowania mikrojąder w porównaniu z heterozygotami Arg/Gln lub homozygotami Arg/Arg [41]. Zbadano także polimorfizm genu *XRCC1* (rs1799782), który polega na zamianie argininy (Arg) w pozycji 194 na tryptofan (Trp) (tab. 2) [31,41]. Wykazano, że heterozygoty Arg/Trp cechowały się mniejszymi uszkodzeniami DNA i niższym poziomem mikrojąder w porównaniu z innymi polimorficznymi wariantami tego genu. Podobną zależność zaobserwowano dla polimorfizmu rs1052133 genu *hOGG1*. Heterozygoty Ser/Cys charakteryzowała mniejsza częstość powstawania mikrojąder [41].

Rohr i wsp. [41] ocenili też wpływ haplotypów genów *PON1*, *XRCC1* i *hOGG1* na uszkodzenia DNA limfocytów pobranych od rolników. Wyniki wykazały skuteczną naprawę DNA w przypadku osób z fenotypem Gln/Gln (*PON1*) + Arg/Trp (*XRCC1*). Z kolei ocena działania genów *PON1* i *hOGG1* wykazała skuteczną naprawę dla fenotypów, odpowiednio, Gln/Arg + Cys/Cys lub Ser/Cys.

Cytowani autorzy [41] podkreślają, że zarówno polimorficzne kombinacje genu *PON1* związanego z metabolizmem ksenobiotyków, jak i związane z genami kodującymi enzymy biorące udział w naprawie typu BER mogą modulować uszkodzenia DNA powstające w wyniku ekspozycji na pestycydy. Wyniki te wskazują, jak ważna jest jednoczesna analiza polimorfizmów związanych z genami kodującymi enzymy detoksykacyjne i tymi, które bezpośrednio dotyczą enzymów biorących udział w naprawie DNA. W niedalekiej przyszłości ta analiza może odgrywać kluczową rolę w ocenie indywidualnej wrażliwości na uszkodzenia DNA w aspekcie narażenia na ksenobiotyki [41].

W kolejnej pracy Rohr i wsp. [42] zbadali limfocyty 108 rolników pracujących w winnicach w stanie Rio Grande do Sul na południu Brazylii i 65 mężczyzn nienarażonych na pestycydy. Oceniono zarówno osobno, jak i łączny wpływ polimorfizmów genów *PON1* (Gln192Arg), *XRCC1* (Arg194Trp) i *hOGG1* (Ser326Cys) na indukcję zmian w limfocytach. Mierzono poziom mikrojąder i uszkodzenia DNA za pomocą metody kometowej. Cytowani autorzy [42] wykazali, że u osób z wariantami CG lub GG poziom uszkodzeń DNA będzie wyższy niż u osoby z wariantem CC.

Biorąc pod uwagę łączny wpływ polimorfizmów genów *hOGG1* i *PON1*, zaobserwowano znacznie wyższy poziom uszkodzeń DNA u osób z allelem *hOGG1*Cys, niezależnie od ich genotypu dla *PON1*. Sugeruje to istotną rolę polimorfizmu *hOGG1* Ser326Cys w odpowiedzi na uszkodzenia DNA będące skutkiem ekspozycji na pestycydy.

Rohr i wsp. [42] stwierdzili także, że u rolników z fenotypem *PON1* Gln/Gln, którzy mieli fenotyp *XRCC1* Arg/Trp, niezależnie od słabo działającego enzymu detoksykacyjnego niższy był poziom mikrojąder powstających w wyniku narażenia na pestycydy. Wyniki te wskazują, że wariant Arg/Trp genu *XRCC1* może działać ochronnie wobec uszkodzeń wywoływanych przez pestycydy nawet u osób, które są homozygotami *PON1* Gln/Gln (Gln192Arg).

W przeciwieństwie do opisanych prac wyniki badań opublikowane w 2015 r. przez Adad i wsp. [28] zaprzeczają znaczącej roli polimorfizmów genów naprawy DNA w aspekcie narażenia na pestycydy. Oceniano wpływ polimorfizmów następujących genów: *PON1* (Gln192Arg), *hOGG1* (Ser326Cys), *XRCC1* (Arg194Trp) i *XRCC4* (Ile401Thr). Cytowani autorzy [28] prowadzili badania na komórkach nabłonka jamy ustnej i krwi rolników ze stanu Piauí w Brazylii, narażonych m.in. na glifosat oraz metyloparation. Grupę badaną stanowiło 100 mężczyzn, z czego 80 osób pracowało przy uprawach kukurydzy, fasoli i arbuzów, a 20 osób – cytryn i mango. W grupie porównawczej było 100 osób, które nie były narażone na pestycydy. Oceniano poziom mikrojąder w złuszczonej błonie śluzowej jamy ustnej, poziom lipidów, a także parametry biochemiczne i hematologiczne.

Adad i wsp. [28] zaobserwowali znaczny wzrost występowania mikrojąder w komórkach osób narażonych na pestycydy w stosunku do grupy porównawczej. Nie wykryto natomiast żadnych różnic dotyczących parametrów hematologicznych, biochemicznych czy profilu lipidowego. Nie stwierdzono też istotnych różnic w uszkodzeniach DNA i poziomie mikrojąder w zależności od różnych wariantów polimorficznych badanych genów naprawy DNA [28].

WNIOSKI

Polimorfizm genetyczny może modyfikować skutki narażenia na metale ciężkie, takie jak ołów i arsen, czy pestycydy. Szczegółowe dane o skutkach narażenia na analizowane w pracy ksenobiotyki w kontekście polimorfizmów genów naprawy DNA przedstawia tabela 3.

Tabela 3. Obserwowane u ludzi efekty narażenia na ołów, arsen i pestycydy dla poszczególnych wariantów polimorficznych genów naprawy DNA**Table 3.** Observed human health effects of exposure to lead, arsenic and pesticides for polymorphic variants of DNA repair genes

Gen Gene	Numer SNP* SNP reference* (rs)	Efekt narażenia Effect of exposure	Piśmiennictwo References
<i>APE1</i>	rs1130409	wzrost uszkodzeń DNA u homozygot GG po ekspozycji na ołów / increase in DNA damage in GG homozygotes after exposure to lead	33
		heterozygoty TG charakteryzowały się wyższym poziomem 8-OHdG w moczu w porównaniu z homozygotami TT po ekspozycji na arsen / TG heterozygotes were characterized by a higher level of 8-OHdG in urine compared to homozygous TT after arsenic exposure	40
<i>hOGG1</i>	rs1052133	u osób mających allel G występował wyższy poziom uszkodzeń oksydacyjnych w DNA w porównaniu z homozygotami CC u osób narażonych na ołów / subjects with G alleles exhibited higher levels of oxidative damage in DNA compared to CC homozygotes in the group exposed to lead	33
		homozygoty GG wykazywały wyższe stężenie 8-OHdG w moczu w porównaniu z homozygotami CC i heterozygotami GC po ekspozycji na arsen / GG homozygotes exhibited a higher concentration of 8-OHdG in urine compared to CC homozygotes and CG heterozygotes after exposure to arsenic	40
		heterozygoty Ser/Cys charakteryzowała mniejsza częstość powstawania mikrojąder po ekspozycji na pestycydy / Ser/Cys heterozygotes showed a lower incidence of micronuclei after exposure to pesticides	41
<i>XRCC1</i>	rs25487	u osób z genotypem GA lub AA wykazano mniejsze ryzyko wystąpienia skutków ekspozycji na ołów / people with GA or AA genotype showed a lower risk of lead exposure effects	36
<i>XRCC1</i>	rs1799782	osoby o genotypie CT lub TT charakteryzowały się większą wrażliwością na ołów / people with CT or TT genotype were more sensitive to lead	36
		heterozygoty Arg/Trp cechowały się mniejszymi uszkodzeniami DNA i niższym poziomem mikrojąder wskutek narażenia na pestycydy / Arg/Trp heterozygotes was characterized by lower DNA damage and lower micronuclei level after exposure to pesticides	41
<i>ERCC2</i>	rs13181	u osób z genotypem AA wykazano wzrost aberracji chromosomowych i liczby nieprawidłowych komórek wskutek ekspozycji na arsen / people with AA genotype showed increased chromosome aberrations and abnormal cells after exposure to arsenic	38
<i>XRCC3</i>	rs861539	osoby o genotypach CT lub TT miały znacznie wyższe stężenie ołowiu we krwi w porównaniu z osobami o genotypie CC / people with CT or TT genotypes had significantly higher blood lead concentrations compared to persons with the CC genotype	37
		u osób z genotypami TT i TC występowała mniejsza częstość aberracji chromosomowych i uszkodzeń DNA wskutek ekspozycji na arsen niż u osób z genotypem CC / in people with TT and TC genotypes, there was a lower incidence of chromosomal aberrations and DNA damage after exposure to arsenic compared to people with the CC genotype	39
<i>XRCC4</i>	rs28360135	u homozygot CC stwierdzono niższy poziom uszkodzeń oksydacyjnych DNA po ekspozycji na ołów / CC homozygotes showed a lower level of oxidative DNA damage after exposure to lead	33
<i>Lig4</i>	rs1805388	u homozygot TT wykazano wyższy poziom uszkodzeń oksydacyjnych DNA po ekspozycji na ołów / TT homozygotes showed a higher level of oxidative DNA damage after exposure to lead	33

8-OHdG – 8-hydrokso-2'-deoksyguanozyna / 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine.

Inne skróty jak w tabeli 2 / Other abbreviations as in Table 2.

Polimorficzne geny naprawy DNA zaliczane są w większości do genów niskiej penetracji. Oznacza to, że produkt pojedynczego genu z reguły nieznacznie wpływa na reakcję na ksenobiotyk, lecz akumulacja zmienionych alleli może mieć zasadniczy wpływ na tę reakcję. Największe znaczenie mają więc badania dotyczące zmienności wielu genów naprawy DNA i ich kombinacji. Istotne wydają się też badania dotyczące interakcji między genami naprawy DNA a genami

kodującymi białka, biorącymi udział w detoksykacji ksenobiotyków. Powszechna wiedza o polimorfizmie genetycznym może w przyszłości umożliwić przeprowadzenie na masową skalę badań przesiewowych będących wskaźnikiem podatności na narażenie zawodowe i środowiskowe na metale oraz pestycydy. Dzięki takim badaniom będzie można m.in. chronić potencjalnie zagrożone osoby przed podejmowaniem pracy w zawodach związanych z ekspozycją na substancje szkodliwe.

PIŚMIENNICTWO

1. Nickoloff J.A., Jones D., Lee S.-H., Williamson E.A., Hromas R.: Drugging the cancers addicted to DNA repair. *J. Natl. Cancer Inst.* 2017;109:djx059, <https://doi.org/10.1093/jnci/djx059>
2. Popławski T., Stoczyńska E., Błasiak J.: Naprawa DNA przez niehomologiczne łączenie końców – nowe białka, nowe funkcje, nowe mechanizmy. *Postępy Biochem.* 2009;55(1):36–45
3. Synowiec E., Stefanska J., Morawiec Z., Błasiak J., Woźniak K.: Association between DNA damage, DNA repair genes variability and clinical characteristics in breast cancer patients. *Mutat. Res.* 2008;648:65–72, <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2008.09.014>
4. Krupa R., Sobczuk A., Popławski T., Woźniak K., Błasiak J.: DNA damage and repair in endometrial cancer in correlation with the *hOGG1* and *RAD51* genes polymorphism. *Mol. Biol. Rep.* 2011;38:1163–1170, <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0214-z>
5. Borghini A., Gianicolo E.A., Andreassi M.G.: Usefulness of biomarkers as intermediate endpoints in health risks posed by occupational lead exposure. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* 2016;29(2):167–178, <https://doi.org/10.13075/ijom.1896.00417>
6. Kim H.-C., Jang T.-W., Chae H.-J., Choi W.-J., Ha M.-N., Ye B.-J. i wsp.: Evaluation and management of lead exposure. *Ann. Occup. Environ. Med.* 2015;27:30, <https://doi.org/10.1186/s40557-015-0085-9>
7. Assi M.A., Hezmee M.N.M., Haron A.W., Sabri M.Y.M., Rajion M.A.: The detrimental effects of lead on human and animal health. *Vet. World* 2016;9:660–671, <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.660-671>
8. Tkachenko H., Żółcińska K., Kurhaluk N.: Ekspozycja na działanie ołowiu i poziom depresji u osób młodych. *Słupskie Pr. Biol.* 2014;11:191–209
9. Woźniak K., Błasiak J.: *In vitro* genotoxicity of lead acetate: Induction of single and double DNA strand breaks and DNA–protein cross-links. *Mutat. Res.* 2003;535(2):127–139, [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(02\)00295-4](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00295-4)
10. Sińczuk-Walczak H.: Zmiany w układzie nerwowym w następstwie narażenia zawodowego na arsen i związki nieorganiczne arsenu w świetle piśmiennictwa. *Med. Pr.* 2009;60(6):519–522
11. Kulik-Kupka K., Koszowska A., Brończyk-Puzoń A., Nowak J., Gwizdek K., Zubelewicz-Szkodzińska B.: Arsen – trucizna czy lek? *Med. Pr.* 2016;67(1):89–96, <https://doi.org/10.13075/mp.5893.00322>
12. Paul S., Giri A.K.: Epimutagenesis: A prospective mechanism to remediate arsenic-induced toxicity. *Environ. Int.* 2015;81:8–17, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.04.002>
13. Tabrez S., Priyadarshini M., Priyamvada S., Khand M.S., Na A., Zaidi S.K.: Gene–environment interactions in heavy metal and pesticide carcinogenesis. *Mutat. Res.* 2014;760:1–9, <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.11.002>
14. De Vizcaya-Ruiz A., Barbier O., Ruiz-Ramos R., Cebrian M.E.: Biomarkers of oxidative stress and damage in human populations exposed to arsenic. *Mutat. Res.* 2009;674:85–92, <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.09.020>
15. Wu F., Jasmine F., Kibriya M.G., Liu M., Cheng X., Parvez F. i wsp.: Interaction between arsenic exposure from drinking water and genetic polymorphisms on cardiovascular disease in Bangladesh: A prospective case-cohort study. *Environ. Health Perspect.* 2015;123(5):451–457, <https://doi.org/10.1289/ehp.1307883>
16. Malinowska E., Jankowski K., Wyrębek H., Truba M.: Struktura sprzedaży i zużycia środków ochrony roślin w Polsce w latach 2000–2012. *Zesz. Nauk. Uniw. Przyr.-Humanist. Siedlce* 2015;104:174–185
17. Alavanja M.C., Hofmann J.N., Lynch C.F., Hines C.J., Barry K.H., Barker J. i wsp.: Non-Hodgkin lymphoma risk and insecticide, fungicide and fumigant use in the agricultural health study. *PLoS One* 2014;9:e109332, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109332>
18. Bonner M.R., Freeman L.E., Hoppin J.A., Koutros S., Sandler D.P., Lynch C.F. i wsp.: Occupational exposure to pesticides and the incidence of lung cancer in the agricultural health study. *Environ. Health Perspect.* 2017;125:544–551, <https://doi.org/10.1289/EHP456>
19. Antwi S.O., Eckert E.C., Sabaque C.V., Leof E.R., Hawthorne K.M., Bamlet W.R. i wsp.: Exposure to environmental chemicals and heavy metals, and risk of pancreatic cancer. *Cancer Causes Control* 2015;26:1583–1591, <https://doi.org/10.1007/s10552-015-0652-y>
20. Barry K.H., Koutros S., Andreotti G., Sandler D.P., Burdette L.A., Yeager M. i wsp.: Genetic variation in nucleotide excision repair pathway genes, pesticide exposure and prostate cancer risk. *Carcinogenesis* 2012;33:331–337, <https://doi.org/10.1093/carcin/bgr258>
21. Yegambaram M., Manivannan B., Beach T.G., Halden R.U.: Role of environmental contaminants in the etiology of Alzheimer's disease: A review. *Curr. Alzheimer Res.* 2015;12:116–146, <https://doi.org/10.2174/1567205012666150204121719>
22. Sanders L.H., Paul K.C., Howlett E.H., Lawal H., Boppana S., Bronstein J.M. i wsp.: Base excision repair variants and pesticide exposure increase Parkinson's disease risk. *Toxicol. Sci.* 2017;158(1):188–198, <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfx086>
23. Gangemi S., Miozzi E., Teodoro M., Briguglio G., de Luca A., Alibrando C. i wsp.: Occupational exposure to pesticides

- as a possible risk factor for the development of chronic diseases in humans (review). *Mol. Med. Rep.* 2016;14:4475–4488, <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5817>
24. Kvitko K., Bandinelli E., Henriques J.A., Heuser V.D., Rohr P., da Silva F.R. i wsp.: Susceptibility to DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides, to tannery chemicals and to coal dust during mining. *Genet. Mol. Biol.* 2012;35(4):1060–1068, <https://doi.org/10.1590/S1415-47572012000600022>
25. Guyton K.Z., Loomis D., Grosse Y., el Ghissassi F., Benbrahim-Tallaa L., Guha N. i wsp.: Carcinogenicity of tetrachloro-rvinphos, parathion, malathion, diazinon and glyphosate. *Lancet Oncol.* 2015;16:490–491, [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)70134-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70134-8)
26. Kapka-Skrzypczak L., Cyranka M., Skrzypczak M., Kruszewski M.: Biomonitoring and biomarkers of organophosphate pesticides exposure – State of the art. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2011;18(2):294–303
27. Bolognesi C.: Genotoxicity of pesticides: A review of human biomonitoring studies. *Mutat. Res.* 2003;543(3):251–272, [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(03\)00015-2](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(03)00015-2)
28. Adad L.M., de Andrade H.H., Kvitko K., Lehmann M., Cavalcante A.A., Dihl R.R.: Occupational exposure of workers to pesticides: Toxicogenetics and susceptibility gene polymorphisms. *Genet. Mol. Biol.* 2015;38(3):308–315, <https://doi.org/10.1590/S1415-475738320140336>
29. Da Silva J., Moraes C.R., Heuser V.D., Andrade V.M., Silva F.R., Kvitko K. i wsp.: Evaluation of genetic damage in a Brazilian population occupationally exposed to pesticides and its correlation with polymorphisms in metabolizing genes. *Mutagenesis* 2008;23:415–422, <https://doi.org/10.1093/mutage/gen031>
30. Amr S., Dawson R., Saleh D.A., Magder L.S., George D.M. St., El-Daly M. i wsp.: Pesticides, gene polymorphisms, and bladder cancer among Egyptian agricultural workers. *Arch. Environ. Occup. Health* 2015;70(1):19–26, <https://doi.org/10.1080/19338244.2013.853646>
31. National Center for Biotechnology Information [Internet]: Center, Bethesda [cytowany 6 grudnia 2016]. RS1130409. Adres: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs1130409>
32. McNeill D.R., Narayana A., Wong H.K., Wilson D.M.: Inhibition of Ape1 nuclease activity by lead, iron, and cadmium. *Environ. Health Perspect.* 2004;12(7):799–804, <https://doi.org/10.1289/txg.7038>
33. Garcia-Lestón J., Roma-Torres J., Vilares M., Pinto R., Prista J., Teixeira J.P. i wsp.: Genotoxic effects of occupational exposure to lead and influence of polymorphisms in genes involved in lead toxicokinetics and in DNA repair. *Environ. Int.* 2012;4:29–36, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.03.001>
34. Boiteux S., Coste F., Castaing B.: Repair of 8-oxo-7,8-dihydroguanine in prokaryotic and eukaryotic cells: Properties and biological roles of the Fpg and OGG1 DNA N-glycosylases. *Free Radic. Biol. Med.* 2017;107:179–201, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.042>
35. Kershaw R.M., Hodges N.J.: Repair of oxidative DNA damage is delayed in the Ser326Cys polymorphic variant of the base excision repair protein OGG1. *Mutagenesis* 2012;27:501–510, <https://doi.org/10.1093/mutage/ges012>
36. Lu C., He X., Yang Z.: Study on relationship between gene polymorphism of XRCC1 and susceptibility to lead poisoning. *Med. J. Commun.* [Internet]: 2006 [cytowany 6 grudnia 2016]. Adres: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-JTYX200604007.htm
37. Liu X., Zhang Z.: Relationship between XRCC3 gene polymorphism and susceptibility to lead poisoning in male lead exposed workers. *Chin. J. Ind. Hyg. Occup. Dis.* 2013;31:401–404
38. Banerjee M., Sarkar J., Das J.K., Mukherjee A., Sarkar A.K., Mondal L. i wsp.: Polymorphism in the ERCC2 codon 751 is associated with arsenic-induced premalignant hyperkeratosis and significant chromosome aberrations. *Carcinogenesis* 2007;28(3):672–676, <https://doi.org/10.1093/carcin/bgl181>
39. Kundu M., Ghosh P., Mitra S., Das J.K., Sau T.J., Banerjee S. i wsp.: Precancerous and non-cancer disease endpoints of chronic arsenic exposure: The level of chromosomal damage and XRCC3 T241M polymorphism. *Mutat. Res.* 2011;706:7–12, <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.10.004>
40. Fujihara J., Soejima M., Yasuda T., Koda Y., Kunito T., Iwata H. i wsp.: Polymorphic trial in oxidative damage of arsenic exposed Vietnamese. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2011;256(2):174–178, <https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.08.007>
41. Rohr P., da Silva J., Erdtmann B., Henriques J.A.P., Kvitko K.: The BER pathway genes and PON1 polymorphism: Influence on DNA damage in agriculture exposed workers. *Theoria* 2006;15:69–77
42. Rohr P., da Silva J., Erdtmann B., Saffi J., Guecheva T.N., Henriques P. i wsp.: BER gene polymorphisms (OGG1Ser326Cys and XRCC1Arg194Trp) and modulation of DNA damage due to pesticides exposure. *Environ. Mol. Mutagen.* 2011;52:20–27, <https://doi.org/10.1002/em.20562>