

SLEDOVÁNÍ VÝSKYTU GENOTOXICKÝCH LÁTEK V POVODÍ ŘEKY SVRATKY V SOUVISLOSTI S URANOVÝM PRŮMYSEM

**Jana Badurová, Hana Hudcová, Radoslava Funková, Helena Mojžíšková,
Jana Svobodová**

Toxikologická rizika spojená s těžbou uranu

- Z oblasti uranových dolů se do půdy a vody dostávají:

- **Radionuklidy a jejich izotopy**

- › U_{nat} , ^{226}Ra , ^{224}Ra
- › Toxické, karcinogenní, mutagenní
- › Radiotoxicita x chemotoxicita
- › Z hlediska toxicity U_{nat} pro živé organismy jsou nebezpečnější jeho chemické účinky a nikoli radiologické

- **skupina těžkých kovů** *ve velmi vysokých koncentracích*

- › Mutageny – As, Be, Cr, Cd, Ni, Hg
- › Karcinogeny – Cr, As, Pb
- › Prokarcinogeny – Ni, Cr
- › Svou podobností nahrazují esenciální prvky v buňce
- › Promutagenní, prokarcinogenní látky - mutageny a karcinogeny se stávají až po metabolické aktivaci v organismu, kdy se přeměňují na nebezpečné deriváty



Toxicita uranu

- Radiotoxické a chemotoxické účinky uranu způsobují významná buněčná a genetická poškození organismů
- **Radiotoxicita (fyzikální mutagen)**
 - vznik volných radikálů
 - poškození chromozomů – zlomy jednoho x obou řetězců DNA
- **Chemotoxicita**
 - **Toxicita** – stejně jako ostatní těžké kovy, látka velmi toxická, sloučeniny uranu – uranylové ionty, dusičnan uranylu
 - **Mutagenita** - ??
 - Kovalentní vazby na DNA (DNA adukty)
 - **Karcinogenita** - ?? U není prokázaným karcinogenem (podle dat IARC, EPA, ATSDR)
- **Synergické účinky mezi kovy a radionuklidy:**
 - Cd – Zn, Ni – Zn, Hg – Cu
 - předpokládán synergismus mezi uranem a těžkými kovy
 - toxický účinek vyšší – neodpovídá koncentracím těchto látek v prostředí

Výskyt uranu ve vodě

- Ve sladkých vodách se uran vyskytuje v různých formách, zahrnujících:
 - nejčastěji U^{6+} - rozpustný uranylový iont UO_2^{2+}
 - uranylové komplexy s anorganickými (sírany, uhličitany) organickými (humínové a fulvínové kyseliny) molekulami
- V komplexech se mění fyzikálně-chemické vlastnosti uranu a tím i jeho toxicita
 - Synergismus x antagonismus látek
 - Biodostupnost
 - pH vody
 - Tvrdost vody (Ca^{2+} , Mg^{2+})
 - Biokumulace



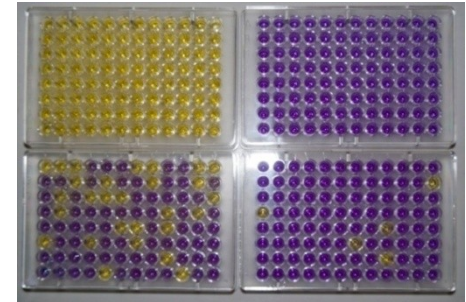
Oblasti dolů Olší a Rožínka

- **Důl Olší** – těžba ukončena, důlní vody přečerpávány přes ČDV do toku Hadůvka, dalším zdrojem U_{nat} prameny v dolní části toku Hadůvka
- **Důl Rožná** – probíhající těžba, oblast odvodňována do toku Nedvědička a Bobrůvka
 - V rámci studia stavu vodních ekosystémů byly na vybraných lokalitách povodí řek Bobrůvky a Svratky zjišťovány v:
 - Povrchových vodách, sedimentech a plaveninách:
 - U_{nat}
 - Vybrané těžké kovy (sedimenty – Zn, Cd, Hg, As, Cu, Pb, Cr, Ni, Al)
 - Mutagenita – Amesův test
 - Toxicita – luminiscenční test



Amesův fluktuační test

- Jedná se o bakteriální test využívající auxotrofní mutantní kmeny *Salmonella typhimurium his⁻*. Bakterie *his⁻* nejsou schopny syntetizovat histidin a růst na médiu, které ho postrádá
- Růst bakterií a tedy mutagenita vzorku, indikuje změna zbarvení chromogenu z fialové na žlutou
- *Salmonella typhimurium his⁻*
 - umožňují detekovat bodové mutace
 - posunové mutace - *S. typhimurium* TA 98
 - substituce bází - *S. typhimurium* TA 100
 - detekci mutagenů působících různými mechanismy
- Test s oběma kmeny byl prováděn ve variantě s a bez in vitro metabolické aktivace mikrosomálními enzymy (S9) získanými z jater pstruhů duhových (*Oncorhynchus mykiss*)
 - Detekce promutagenů



Detekce mutagenních látek Amesovým testem v povrchové vodě

Povrchová voda	<i>S. Typhimurium</i> TA 98	<i>S. typhimurium</i> TA 100	<i>S. Typhimurium</i> TA 98	<i>S. Typhimurium</i> TA 100
Lokalita	Bez metabolické aktivace		S metabolickou aktivací	
Hadůvka – Skryje (6)	neg.	poz.	poz.	poz.
Hadůvka – Olší (4)	neg.	neg.	poz.	poz.
Nedvědička – Rožná (1)	neg.	neg.	poz.	neg.
Nedvědička – Nedvědice (2)	neg.	neg.	neg.	neg.

Hadůvka – Skryje



Detekce mutagenních látek Amesovým testem v plaveninách

Plaveniny	<i>S. Typhimurium</i> TA 98	<i>S. typhimurium</i> TA 100	<i>S. Typhimurium</i> TA 98	<i>S. Typhimurium</i> TA 100
Lokalita	Bez metabolické aktivace		S metabolickou aktivací	
Hadůvka - pod ČDV (5)	neg.	poz.	-	-
Hadůvka – Skryje (6)	poz.	poz.	-	-
Přítok do Nedvědičky z oblasti pod odkalištěm I	neg.	neg.	neg.	poz.

Hadůvka pod ČDV



Detekce mutagenních látek Amesovým testem v říčním sedimentu za celé sledované období

Lokalita	Záchyt genotoxických látek	<i>Salmonella typhimurium</i>	
		varianta bez S9	varianta s S9
Hadůvka - pod ČDV	opakovaně	Negativní	Pozitivní
Hadůvka - Skryje		Pozitivní	Pozitivní
Hadůvka - Olší		Pozitivní	Pozitivní
Nedvědička - Rožná	jednorázově	Negativní	Pozitivní
Nedvědička - Nedvědice		Negativní	Negativní

Hadůvka – Olší

- Zjištěn výskyt přímých i nepřímých mutagenů (promutagenů)
- Přítomnost mutagenních látek byla opakovaně detekována zejména v testech s S9 frakcí a to oběma kmeny *S. typhimurium* TA 98 i 100



Analýzy těžkých kovů v sedimentech

mg/kg	Zn	Cd	Hg	As	Cu	Pb	Cr	U _{nat}
Hadůvka - pod ČDV	297	1,1	0,2	25,8	79,0	34,5	113	-
Hadůvka - Skryje	149	0,7	0,1	11,1	30,1	28,2	92,6	44,3
Hadůvka - Olší	203	1,0	0,2	23,4	40,1	38,5	130	182
Nedvědička - Rožná	219	0,9	0,3	17,2	42,6	47,8	90,8	16,4
Nedvědička - Nedvědice	192	0,8	0,2	22,0	38,4	40,1	94,7	5,6
Přítok do Nedvědičky z oblasti pod odkalištěm I.	344	0,8	0,9	31,7	72,7	48,7	78,5	74,8

Problematika hodnocení těžkých kovů v sedimentech: sediment = odpadní látka

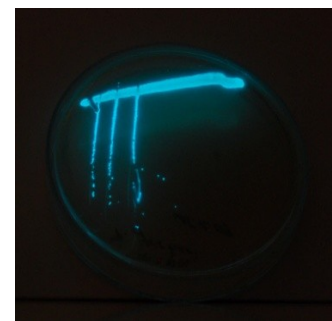
Limity pro těžké kovy: zákon č. 185/2001 Sb., vyhláška č. 257/2009 Sb., vyhláška 294/2005 Sb., vyhláška 13/1994 Sb.

Některé limity jsou příliš přísné, nezohledňují biodostupnost např. As

Toxikologické analýzy sedimentů z roku 2010

Lokalita	Cytoxikita <i>P. phosphoreum</i>	Cytotoxicita <i>S. typhimurium</i>		Mutagenita <i>S. typhimurium</i>	
Hadůvka - pod ČDV	-	neg.	neg.	poz. (S9)	poz. (S9)
Hadůvka - Skryje	neg.	neg.	neg.	poz. (S9)	poz. (S9)
Hadůvka - Olší	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Nedvědička - Rožná	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Nedvědička - Nedvědice	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Přítok do Nedvědičky z oblasti pod odkalištěm I.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.

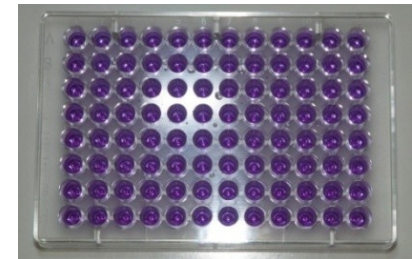
- Výsledky chemických analýz neodpovídají výsledkům toxikologickým testů a testu mutagenity – přítok do Nedvědičky z odkaliště, Hadůvka Skryje
- Výsledky chemických analýz v žádném případě nedovolují předpovědět výsledky biologických testů
- **Mezi koncentracemi uranu a výsledky Amesova testu nebyla nalezena žádná souvislost**



Výsledky ^{226}Ra , U_{nat} a směsného vzorku

	<i>S. Typhimurium</i> TA 98	<i>S. typhimurium</i> TA 100	<i>S. Typhimurium</i> TA 98	<i>S. Typhimurium</i> TA 100
	Bez metabolické aktivace		S metabolickou aktivací	
U_{nat}	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní
^{226}Ra	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní
$^{137}\text{Cs} + ^{226}\text{Ra} + \text{U}_{\text{nat}}$	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní

- V testu s U_{nat} a ^{226}Ra nezaznamenány signifikantní pozitivní výsledky
- Směs radionuklidů rovněž nevykazovala mutagenní účinky
- Proti kontrolám bylo ve všech vzorcích zaznamenáno zvýšené množství revertant



Závěr

- V povrchové vodě, sedimentech a plaveninách z oblasti dolu Olší – Drahonín (Hadůvka) a Rožná (Nedvědička) detekovány mutagenní látky
- Pozitivní výsledky Amesova testu mohou být připisovány kombinaci mutagenních účinků těžkých kovů, radionuklidů a komplexů, které uran ve vodě vytváří s organickými a anorganickými látkami
- Testy mutagenity pravděpodobně detekují ve větší míře jiný typ genotoxických látek typických pro uranové doly např. As, Cd, Cr, Ni, Pb, Zn
- Výsledky chemických analýz v žádném případě nedovolují předpovědět výsledky biologických testů – problematika přítoku do Nedvědičky z odkaliště I a Hadůvka - Skryje
- Vzorky vody s velmi odlišným kvantitativním zastoupením jednotlivých kationtů kovů mohou indukovat statisticky shodné genotoxické a toxikologické výsledky: Hadůvka – pod ČDV a Hadůvka – Skryje
- **Nebyl potvrzen lineární vztah mezi koncentracemi těžkých kovů, radionuklidů a výslednou toxicitou a mutagenitou**

Příspěvek byl zpracován s přispěním výzkumného
záměru MŽP 0002071101



DĚKUJI ZA POZORNOST