

RAKOTWÓRCZE DZIAŁANIE DYMU TYTONIOWEGO

CARCINOGENIC EFFECT OF TOBACCO SMOKE

Andrzej Starek¹, Irma Podolak²

¹Zakład Biochemii Toksykologicznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Kraków

²Katedra Farmakognozji, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Kraków

Słowa kluczowe: dym tytoniowy, chemiczne kancerogeny, dodatki, rodzaje tytoniu, budowa papierosa

Key words: tobacco smoke, chemical carcinogens, additives, tobacco types, cigarette construction

STRESZCZENIE

Badania epidemiologiczne i doświadczalne na zwierzętach dowodzą, że istnieją zależności typu dawka-odpowiedź pomiędzy liczbą wypalonych papierosów i ryzykiem raka płuca, narażeniem na smołę papierosową lub dym papierosowy i nowotworami skóry lub rakiem płaskokomórkowym tchawicy i płuc. Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (PAH) oraz lotne i swoiste dla tytoniu N-nitrozoaminy są głównymi czynnikami rakotwórczymi dymu tytoniowego. Związki te wymagają aktywacji metabolicznej z udziałem enzymów biotransformujących. Wrażliwość osobnicza na działanie chemicznych kancerogenów jest uwarunkowana genotypowo i fenotypowo. Wartości stężeń smoły, nikotyny, tlenku węgla, benzo[a]pirenu i N-nitrozonornikotyny w dymie papierosowym, uzyskane metodą maszynowego palenia, wyraźnie zaniżają rzeczywiste narażenie palaczy na te substancje. Na skład chemiczny dymu papierosowego i na ryzyko nowotworowe i poza nowotworowe istotnie wpływają: rodzaj tytoniu i jego modyfikacje oraz zawartość azotanów w tytoniu. Dodatki do tytoniu, w tym substancje uwalniające amoniak nie wpływają na skład chemiczny dymu i jego działanie toksyczne. Filtry papierosowe, porowatość bibułki, długość papierosa i jego obwód oraz grubość krajanki tytoniowej mają istotne znaczenie dla chemicznego składu dymu papierosowego.

ABSTRACT

Both epidemiological and experimental studies provide evidence of the dose-effect relationship between the number of cigarettes smoked and lung cancer risk, exposure to tar or tobacco smoke and skin cancers or squamous cell carcinoma of the trachea and lung. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and volatile N-nitrosamines, and also tobacco specific N-nitrosamines are considered to be the major carcinogens in tobacco smoke. To exert carcinogenic effect these compounds require previous metabolic activation by biotransformation enzymes. Individual susceptibility to chemical carcinogens is genotype and phenotype dependent. Machine-measured yields of tar, nicotine, carbon monoxide, benzo[a]pyrene and N-nitrosonornicotine in cigarette smoke are significantly lower than actual intake by smokers. The following features have significant influence on the tobacco smoke composition, cancer risk and other disease risks relative to cigarette smoking: tobacco type and its modifications and also nitrate content in tobacco. Tobacco additives, including ammonia releasing substances, do not contribute to cigarette smoke composition and its toxicity. Filters, paper porosity, cigarette length and circumference as well as the number of tobacco cuts per inch (whether it is coarse-cut or fine-cut tobacco) are of primary significance for the chemical composition of cigarette smoke and health risk.

WSTĘP

Badania epidemiologiczne nad zależnością między paleniem papierosów i występowaniem raka płuca, przeprowadzone po raz pierwszy w USA i Wielkiej Brytanii w 1950 r., wykazały zależność typu dawka-odpowiedź między liczbą wypalonych papierosów i

ryzykiem raka płuca [28, 85]. Rakotwórcze działanie dymu papierosowego potwierdzono doświadczalnie na myszach, którym podawano miejscowo na skórę boków acetonową zawiesinę fazy cząstkowej dymu (PM), zawierającą smołę, 3 razy/tydzień przez 2 lata. U zwierząt tych obserwowano wyraźną zależność pomiędzy ilościami podanej smoły i odsetkiem zwierząt z

Adres do korespondencji: Prof. dr hab. Andrzej Starek, Zakład Biochemii Toksykologicznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, 30-688 Kraków, ul. Medyczna 9, tel. 012 620 05 651, fax 012 620 05 651
e-mail: mfstarek@cyf-kr.edu.pl

brodawczakiem lub rakiem skóry [86]. W późniejszych badaniach test naskórny u myszy szeroko stosowano do oceny siły działania rakotwórczego smoły tytoniowej i jej frakcji [48, 59-61]. Dotchawicze wkroplenie szczurom obojętnej frakcji smoły papierosowej, zawierającej wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), prowadziło do płaskokomórkowego raka tchawicy i płuc [23]. Smarowanie wewnętrznej powierzchni uszu królików zawiesiną smoły papierosowej w acetonie było przyczyną raka w miejscu narażenia oraz jego przerzutów do narządów klatki piersiowej [36].

W badaniach inhalacyjnych nie zawsze obserwowano rakotwórcze działanie dymu tytoniowego na układ oddechowy. U wysokiego odsetka samic szczurów F344, narażonych na rozcieńczony dym papierosowy (z maksimum 7 papierosów/dzień, 5 razy/tydz. przez 2,5 roku) obserwowano rozrost i metaplastę nabłonka małżowin nosowych i krtani, a w mniejszym stopniu rozrost nabłonka tchawicy [22]. Narażenie na dym papierosowy, rozcieńczony powietrzem (1:15), złośliwych chomików syryjskich 2 razy/dzień, 5 dni/tydz. przez 24 miesiące spowodowało jedynie uszkodzenie tkanki nabłonkowej krtani [29]. Jednakże u wsobnego szczepu tych zwierząt, o zwiększonej podatności dróg oddechowych na chemiczne kancerogeny, przewlekłe narażenie na dym papierosowy spowodowało indukcję łagodnych i złośliwych nowotworów tchawicy [13]. W badaniach na myszach wykazano, że również faza gazowa dymu papierosowego zwiększa częstość występowania nowotworów płuca.

SUBSTANCJE RAKOTWÓRCZE W DYMIE PAPIEROSOWYM I ICH DZIAŁANIE

W dymie papierosowym zidentyfikowano około 4800 substancji chemicznych pochodzenia tytoniowego [38] oraz 599 dodatków do tytoniu, dodawanych w procesie produkcji papierosów [30]. Obok bardzo wielu substancji toksycznych wykryto 69 kancerogenów, wśród których 11 to wg IARC ludzkie kancerogeny (Grupa 1), 7 to prawdopodobne ludzkie kancerogeny (Grupa 2A), a 49 to zwierzęce kancerogeny, przypuszczalnie rakotwórcze dla ludzi (Grupa 2B) (Tab. 1). Umieszczone w tabeli kancerogeny podano w kolejności: WWA, związki heterocykliczne, N-nitrozoaminy, aminy aromatyczne, aldehydy, lotne węglowodory, inne związki organiczne oraz substancje nieorganiczne.

Większość wymienionych kancerogenów wymaga aktywacji metabolicznej do ujawnienia działania rakotwórczego. Najwcześniej poznany proces aktywacji metabolicznej WWA, przy udziale mikrosomalnych monoooksygenaz zależnych od CYP1A1, a ostatnio na szlaku lipooksygenazowym, jest podwójna epoksydacja pierścienia aromatycznego [69, 70]. O ile CYP1A1

Tabela 1. Związki rakotwórcze w dymie papierosa bez filtra
Carcinogenic compounds in cigarette smoke from non-filter cigarette

Związek chemiczny	Stężenie/ papierosa	Grupa wg IARC
4-Aminobifenyl	2-5,6 ng	1
2-Naftyloamina	1-334 ng	1
Benzen	20-70 µg	1
Chlorek winylu	11-15 ng	1
Tlenek etylenu	7 µg	1
Arsen	40-120 µg	1
Beryl	0,5 ng	1
Nikiel	0-600 ng	1
Chrom(VI)	4-70 ng	1
Kadm	7-350 ng	1
Polon-210	0,03-1,0 pCi	1
Benzo[a]antracen	20-70 ng	2A
Benzo[a]piren	20-40 ng	2A
Dibenzo[a,h]antracen	4 ng	2A
N-Nitrozodimetyloamina	2-180 ng	2A
N-Nitrozodietylamina	0-2,8 ng	2A
Formaldehyd	70-100 µg	2A
Akrylonitryl	3-15 µg	2A
Benzo[b]fluoranten	4-22 ng	2B
Benzo[j]fluoranten	6-21 ng	2B
Benzo[k]fluoranten	6-12 ng	2B
Dibenzo[a,l]piren	1,7-3,2 ng	2B
Indeno[1,2,3-cd]piren	4-20 ng	2B
5-Metylochryzen	0,6 ng	2B
Dibenzo[a,h]akrydyna	0,1 ng	2B
Dibenzo[a,j]akrydyna	3-10 ng	2B
Dibenzo[c,g]karbazol	0,7 ng	2B
Furan	18-37 ng	2B
N-Nitrozoetylometyloamina	3-13 ng	2B
N-Nitrozo-di-n-butyloamina	0-30 ng	2B
N-Nitrozopirolidyna	3-110 ng	2B
N-Nitrozonornikotyna	120-3700 ng	2B
2-Toluidyna	30-337 ng	2B
2,6-Dimetyloanilina	4-50 µg	2B
Acetaldehyd	500-1400 µg	2B
1,3-Butadien	20-75 µg	2B
Izopren	450-1000 µg	2B
Styren	10 µg	2B
Amid kwasu octowego	38-56 µg	2B
DDT	800-1200 µg	2B
DDE	200-370 µg	2B
Pirokatechol	100-360 µg	2B
Nitrometan	0,3-0,6 µg	2B
2-Nitropropan	0,7-1,2 µg	2B
Nitrobenzen	25 µg	2B
Karbaminian etylu	20-38 µg	2B
Tlenek propylenu	12-100 µg	2B
Hydrazyna	24-43 ng	2B
Kobalt	0,13-0,2 ng	2B
Ołów	34-85 ng	2B

Źródło: wg [49, 51].

aktywuje benzo[a]piren (B[a]P) do B[a]P-7,8-epoksydu, który następnie ulega enzymatycznej hydrolizie do B[a]P-7,8-dihydrodiolu, to końcowa epoksydacja metabolitu pośredniego do syn,anti-B[a]P-7,8-dihydrodiolu-9,10-epoksydu o działaniu genotoksycznym i

kancerogennym zachodzi w obecności lipooksygenazy (LO), występującej w płucach człowieka i zwierząt [68].

WWA, jako związki o niskich potencjałach redoks, ulegają również aktywacji metabolicznej na drodze jednoelektronowego utlenienia do odpowiednich kationorodników, będących prekursorami chinonów. Proces ten zachodzi przy udziale LO, a jego produktami w przypadku B[a]P są B[a]P-1,6-dion, B[a]P-3,6-dion i B[a]P-6,12-dion [54]. Metabolity te wywierają bezpośrednie działanie genotoksyczne poprzez oksydacyjne modyfikacje DNA, a także pośrednie działanie rakotwórcze.

Potencjał obronny organizmu związany z biotransformacją ksenobiotyków polega na detoksykacji reaktywnych metabolitów pośrednich lub metabolitów końcowych. W procesie tym kluczową rolę odgrywają: hydrolazy epoksydowe (EH), glukuronylotransferazy (UGT), sulfotransferazy (SULT), S-transferazy glutationowe (GST) oraz N-acetylotransferazy (NAT). Istnieją tylko dwa rodzaje EH, mikrosomalna (mEH) i rozpuszczalna, czyli cytozolowa (sEH). Tylko ten drugi rodzaj EH katalizuje przemianę ograniczonej liczby epoksydów WWA do dioli [64]. Z kolei izoformy ludzkiej UGT, takie jak UGT1A9, sprzęgają pośrednie metabolity B[a]P, takie jak 3-hydroksy-B[a]P, B[a]P-3,6-diol, B[a]P-7,8-dihydrodiol, podczas gdy UGT2B7 sprzęga B[a]P-7,8-dihydrodiol. Ponadto UGT1A4 bezpośrednio sprzęga benzydyne, natomiast UGT1A6 obok 3-hydroksy B[a]P i B[a]P-3,6-diolu sprzęga również 1-naftyloaminę, 2-naftyloaminę i produkt jej utlenienia przy udziale CYP1A2, N-hydroksy-2-naftyloaminę [66]. Produktami tych reakcji są polarne mono- i diglukuronidy PAH, łatwo wydalane z organizmu [40]. Sprzęganie z kwasem siarkowym przy udziale SULT1A1 obserwowano w przypadku 1-hydroksymetylopirenu oraz aromatycznych hydroksyloamin. Z kolei SULT1B1 sprzęgał 6-hydroksymetylo-B[a]P, podczas gdy SULT1C2 sprzęgał 1-hydroksymetylopiren. GST sprzęgają ze zredukowanym glutationem cykliczne i acykliczne epoksydy powstające przez utlenienie WWA oraz alkenów i ich halogenopochodnych, obecnych w dymie tytoniowym. NAT2 odgrywa kluczową rolę w procesie acetylacji kancerogennych amin aromatycznych.

Warunkiem koniecznym, ale nie wystarczającym, do indukcji nowotworów przez kancerogeny dymu tytoniowego jest przewaga procesów aktywacji metabolicznej nad procesami detoksykacji. Natomiast warunkiem wystarczającym jest podatność organizmu na działanie kancerogenów wynikająca ze stopnia stabilności materiału genetycznego i potencjału biotransformacyjnego, związanego z genotypem i fenotypem oksydacji i acetylacji u palacza tytoniu.

CYP1A1 jest ważnym enzymem aktywującym prokancerogeny do metabolitów kancerogennych [88]. Poznano cztery mutacje punktowe genu dla tego enzymu, a mianowicie tranzycje: 6235T→C (mutacja m1), 4889A→G (m2), 5639T→C (m3) i 4887C→A (m4). Procentowy udział zmutowanych alleli (CYP1A1*2A, *2B, *3 i *4) w populacji polskiej wynosi odpowiednio 2,0, 2,2, 0,0 i 6,6%. Nie zmutowany allel dzikiego typu (CYP1A1*1) stwierdzono u 91,4% populacji, co jest charakterystyczne dla rasy kaukaskiej [57]. Wykazano, że polimorfizm CYP1A1, a zwłaszcza obecność mutacji m1 i m2 prowadzi do zwiększonego ryzyka raka płuca [19]. Również polimorfizm genu kodującego heterogenną NAT2 ma istotny wpływ na ryzyko raka krtani i pęcherza moczowego. Jeden niezmutowany allel dzikiego typu NAT2*4 koduje enzym odpowiedzialny za fenotyp szybkiej acetylacji. Zmutowane allele składają się z 1-3 tranzycji, które występują w określonych pozycjach sekwencji kodujących genu. Są to allele NAT2*5A, *5B, *5C, *6A, *7B i *12A występujące u odpowiednio 22%, 5,2%, 33,1%, 6%, 30%, 3,4% i 0,2% populacji polskiej [56]. Mutacje te są odpowiedzialne za fenotyp wolnej acetylacji. Fenotyp ten zwiększa ryzyko nowotworowe u palaczy tytoniu.

Reaktywne metabolity, powstające podczas aktywacji metabolicznej WWA z udziałem CYP1A1, wiążą się z DNA tkanki nabłonkowej i indukują raka płaskokomórkowego krtani, tchawicy i płuca. Efekt ten występuje w przypadku inhalacji dymu tytoniowego do dróg oddechowych. Bezwzględne ryzyko raka płuca u palaczy papierosów, związane z narażeniem na WWA, jest o rząd wielkości wyższe niż u nie palących papierosów pracowników odlewni narażonych na te związki [78]. Z kolei N-nitrozoaminy swoiste dla tytoniu (TSNA), takie jak N-nitrozokotynina (NNK), indukują gruczolaki i gruczolakoraki w obwodowych częściach płuca palacza tytoniu. Efekt ten zależy również od inhalacyjnej drogi narażenia na dym papierosowy [44]. W ostatnim ćwierćwieczu częstość występowania gruczolakoraka płuca u palaczy papierosów wyraźnie wzrosła w stosunku do częstości występowania raka płaskokomórkowego.

NNK, podobnie jak WWA, wymaga aktywacji metabolicznej. Jest ona aktywowana głównie do nietrwałych metabolitów: 4-(hydroksymetylonitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanonu i 4-(α -hydroksymetyleno)-1-(3-pirydylo)-1-butanolu, które rozpadają się do odpowiednich wodorotlenków diazowych, tj. wodorotlenku diazometanu i wodorotlenku diazo-4-keto-4-(3-pirydylo)-butanu. Wodorotlenki te metylują zasady purynowe i pirymidynowe w DNA tworząc 7-metyloguaninę, O⁶-metyloguaninę i O⁴-metylotymidynę oraz addukt pirydyloksybutylowy o nieznannej strukturze, którego produktem kwasowej hydrolizy jest 4-hydroksy-1-(3-pirydylo)-1-butanon. Addukty te

zidentyfikowano w płucach człowieka oraz myszy i szczurów po podaniu NNK. W płucach palaczy papierosów wykazano wyższe stężenia 7-metyloguaniny niż u osób niepalących. Podejrzewa się, że N-nitrozodimetyloamina, lotna nitrozoamina dymu tytoniowego, może być również czynnikiem metylującym guaninę [42]. Ponadto obecność metyloguaniny i metylotymidyny oraz adduktów pirydylloksybutylowych stwierdzono w komórkach Clara u zwierząt laboratoryjnych [10]. U myszy szlak O⁶-metyloguaninowy aktywowanej metabolicznie NNK jest główną przyczyną indukcji gruczolakoraka płuca za czym przemawia wysoki odsetek mutacji GGT→GAT w onkogenie K-*ras* [75]. Mutacje na kodonie 12 onkogeny K-*ras* stwierdzono u 24-50% przypadków pierwotnego gruczolakoraka płuca u człowieka. Mutacje te częściej występują u palaczy papierosów niż u niepalących. Dwadzieścia procent mutacji na kodonie 12 stanowi zmiana GGT→GAT, co potwierdza tezę, że NNK odgrywa istotną rolę w indukcji gruczolakoraka płuca u palaczy papierosów. W badaniach histochemicznych ludzkiego raka płuca wykazano ekspresję cyklooksygenazy-2 (COX-2) u 70% przypadków raka inwazyjnego [43]. Ekspresję tego enzymu obserwowano także w gruczolakoraku płuca u szczurów, którym podawano NNK [31]. Wyniki te wydają się wskazywać na nowe możliwości monitorowania kancerogennego działania TSNA.

JAKOŚĆ WYROBÓW TYTONIOWYCH I ICH BIOLOGICZNE ZNACZENIE

Miarą jakości wyrobów tytoniowych jest zawartość nikotyny, smoły, tlenku węgla (CO) i innych substancji w głównym strumieniu dymu (MS), generowanym

podczas maszynowego palenia papierosów. W 1969 r. amerykańska Federal Trade Commission (FTC) wprowadziła standardową metodę maszynowego palenia papierosów. Warunki palenia określają jedno zaciągnięcie/min., objętość pobranego dymu 35 ml w ciągu 2 sek. z pozostawieniem niedopałka o długości 23 mm w przypadku papierosa bez filtra lub niedopałka długości 3 mm plus długość filtra dla papierosa z filtrem [65]. W Kanadzie i Wielkiej Brytanii standardowe warunki palenia przyjęto w 1991 r. [52]. W innych krajach europejskich warunki te zostały określone w 1991 r. przez Centre de Cooperation Pour Les Recherches Scientifiques Relative au Tabac (CORESTA). Metoda FTC definiuje smołę jako fazę PM zatrzymaną na filtrze Cambridge minus woda i nikotyna, podczas gdy CORESTA od fazy PM odejmuje tylko wodę [21]. W Polsce, tak jak w większości krajów, przyjęto metodę FTC. Metodą FTC stwierdzono, że średnie zawartości smoły i nikotyny w papierosach amerykańskich uległy wyraźnemu obniżeniu odpowiednio z 37 mg i 2,7 mg w 1954 r. do 12 mg i 0,85 mg w 1993 r.

Niemal 30 lat temu stwierdzono, że nałogowi palacze w przypadku papierosów o niższej zawartości nikotyny pobierają więcej niż jedną porcję dymu w ciągu minuty, której objętość przekracza 35 ml oraz inhalują dym głębiej, tj. do dalszych odcinków dróg oddechowych, w porównaniu z palaczami papierosów o wyższej zawartości nikotyny [11]. Porównując ilości głównych substancji toksycznych obecnych w głównym strumieniu dymu (MS) tych samych papierosów palonych maszynowo wg FTC z dymem inhalowanym przez palaczy papierosów o niskiej i średniej zawartości nikotyny wykazano, że palacze pobierali odpowiednio 2,5 i 2,2 razy więcej nikotyny/papieros, 2,6 i 1,9 razy więcej smoły/papieros, 1,8 i 1,5 razy więcej CO/papie-

Tabela 2. Porównanie wartości parametrów dymu dwóch marek amerykańskich papierosów z filtrem o niskiej zawartości nikotyny palonych metodą FTC oraz przez palaczy tytoniu
A comparison of smoke parameter values for two low-yield U.S. filter cigarettes smoked according to the FTC-method and by smokers

Parametry	Metoda FTC	Palacze papierosów	
		Nikotyna 0,6-0,8 mg	Nikotyna 0,9-1,2 mg
Pobranie dymu			
- objętość (ml)	35,0	48,6 (45,2-52,3)	44,1 (40,8-46,8)
- przerwa między kolejnymi pobraniami (sek.)	58,0	21,3 (19,0-23,8)	18,5 (16,5-20,6)
- czas pobrania (sek.)	2,0	1,5 (1,4-1,7)	1,5 (1,4-1,6)
Nikotyna (mg/pap.)	0,7 (0,6-0,8)	1,74 (1,54-1,98)	
	1,1 (1,09-1,13)		2,39 (2,20-2,60)
Smola (mg/pap.)	8,5 (7,7-9,5)	22,3 (18,8-26,5)	
	15,4 (14,2-14,9)		29,0 (25,8-32,5)
CO (mg/pap.)	9,7 (9,0-10,4)	17,3 (15,0-20,1)	
	14,6 (14,2-14,9)		22,5 (20,3-25,0)
B[a]P (ng/pap.)	10 (8,2-12,3)	17,9 (15,3-20,9)	
	14 (10,1-19,4)		21,4 (19,2-23,7)
NNK (ng/pap.)	112,9 (96,6-113,0)	186,5 (158,3-219,7)	
	146,2 (132,5-165,5)		250,9 (222,7-282,7)

Źródło: wg [27].

ros, 1,8 i 1,6 razy więcej B[a]P/papieros oraz 1,7 i 1,7 razy więcej NNK/papieros niż to wykazano za pomocą metody FTC [27] (Tab. 2). Tak więc wyniki pomiarów stężeń substancji chemicznych występujących w dymie papierosowym generowanym metodą FTC wyraźnie zaniżają rzeczywiste narażenie palacza na substancje toksyczne i kancerogenne.

Jakość papierosów, obok zachowań palacza (behawior), jest jednym z czynników determinujących zdrowotne skutki palenia. Jakość ta zależy od wielu czynników, m.in. takich jak rodzaj tytoniu, dodatki do tytoniu, porowatość bibułki i budowa papierosa.

Rodzaje tytoniu

Rodzaj *Nicotiana* – tytoń, jest reprezentowany przez dwa gatunki: *N. rustica* i *N. tabacum*. *N. rustica* – tytoń bakun rośnie głównie na terenie Rosji, Ukrainy, Mołdawii, Gruzji i Polski oraz Ameryki Płd. W pozostałej części świata rośnie *N. tabacum* – tytoń szlachetny, który jest tytoniem uprawnym. W zależności od metody suszenia wyróżnia się następujące tytonie papierosowe: ogniowo-rurowe (*flue-cured*), często nazywane tytoniami jasnymi (odmiany Virginia i Maryland), powietrzne (*air-cured*) (odmiana Burley), w tym tytoń jasny (*light air-cured*) (odmiana Kentucky) i tytoń ciemny (*dark air-cured*), pozyskiwane z upraw na terenie Tennessee, Kentucky, Ameryki Płd. oraz we Włoszech i Francji. Istnieje również tytoń słoneczny (*sun-cured*), zwany orientальnym, pozyskiwany głównie w Grecji i Turcji. Tytonie papierosowe *air-cured* są preferowane we Francji, Włoszech Płd., Szwajcarii, Niemczech i Ameryce Płd. Papierosy wyłącznie z tytoniu orientального są popularne w Grecji i Turcji. W innych krajach europejskich i USA do papierosów stosowane są mieszanki tytoni *flue-cured* i *air-cured*. Na początku lat 90. mieszanka tytoniu papierosowego zawierała ok. 35% tytoniu *flue-cured*, 30% tytoniu *air-cured* oraz po kilka procent tytoniu Maryland i tytoniu orientального [45]. Preferencja papierosów mieszkankowych wynika z faktu, że każdy z tytoni wprowadza swój aromat do dymu papierosowego. Niektóre izoprenoidy i duża liczba związków karboksylowych są odpowiedzialne za aromat tytoni *flue-cured*. Inne izoprenoidy oraz składniki kwasowej frakcji dymu decydują o zapachu tytoni *air-cured* [77]. Kwas izowalerianowy jest uważany za najważniejszą substancję zapachową tytoniu orientального [72].

Zawartość azotanów w tytoniu decyduje o toksyczności i rakotwórczości tytoniu i dymu tytoniowego. Tytoń *flue-cured* może zawierać do 0,9% azotanów, tytoń *air-cured* 0,9-5,0%, ale w papierosach komercyjnych nie przekracza 3%, natomiast tytoń orientalny do 0,6%. Najwyższe stężenia azotanów występują w nerwach liści tytoniu, a najniższe w blaszkach liści pochodzących ze szczytowych części rośliny [81].

Stężenia tlenków azotu (NO_x) i nitrometanu w dymie papierosowym zależą głównie od stężenia azotanów w tytoniu, chociaż związki te powstają także z aminokwasów i białek [62]. Papieros wykonany tylko z tytonu *flue-cured* wytwarza do 200 μg NO_x i 20 μg nitrometanu, podczas gdy papieros z tytoniu *air-cured* dostarcza 700 μg NO_x i 400 μg nitrometanu. Dym papierosa wykonanego z mieszanki tytoniowej zawiera 500 μg NO_2 i 200 μg nitrometanu. Tak więc głównym źródłem azotanów, pochodzących z nawozów azotowych, jest tytoń *air-cured*, którego łodygi zawierają $\leq 6,8\%$ azotanów [16].

Świeży dym papierosowy i dym opuszczający ustnik zawierają NO_x wyłącznie w postaci tlenku azotu (NO). Podczas starzenia się dymu NO ulega utlenieniu do NO_2 . Wysoce reaktywne NO_x , powstające w palącym się stożku papierosa (950°C) i strefie wysokiej temperatury (950-600°C) pełnią rolę zmiataczy rodników węglowych i wodorowych, przez co hamują pirosyntezę rakotwórczych PAH. Świeżo powstające NO_x reagują z aminami II- i III-rzędowymi tworząc lotne N-nitrozaminy, natomiast w reakcji nitrozowania nikotyny i innych alkaloidów pirydynowych wytwarzają TSNA [44, 82]. Wzrastające stężenia TSNA w dymie papierosowym są uważane za główną przyczynę wzrostu częstości występowania gruczolakoraka płuca u palaczy papierosów obojga płci w minionym 30-leciu [25, 79]. Wysokie stężenia azotanów w tytoniu były również przyczyną wzrostu stężenia 2-naftyloaminy i 4-aminobifenylu oraz innych amin aromatycznych w dymie papierosowym, odpowiedzialnych za raka pęcherza moczowego [39].

Ważnym zagadnieniem z punktu widzenia toksykologii dymu tytoniowego jest zależność między stężeniem azotanów w tytoniu i pH dymu. O ile dym z papierosów wykonanych z tytoniu *flue-cured* ma odczyn słabo kwaśny (pH 5,8-6,3), to dym z papierosów zawierających tytoń *air-cured* wykazuje odczyn obojętny do słabo zasadowego (pH 6,5-7,5). Przyczyną tych różnic jest stężenie amoniaku w dymie, bezpośrednio związane ze stężeniem azotanów w tytoniu. Amoniak powstaje bowiem w wyniku redukcji wodorem NO_x .

Odczyn dymu papierosowego ma również istotny wpływ na formę nikotyny i jej wchłanianie do organizmu. W tytoniu nikotyna występuje w postaci związanej (forma jedno- i dwuprotonowana), podczas gdy w dymie papierosowym o pH powyżej 6,0 rośnie ilość wolnej nikotyny (nieprotonowanej), osiągając wartość ok. 30% w pH 7,4 i ok. 60% w pH 7,8 [14]. W przeciwieństwie do protonowanej nikotyny, która jest bardzo wolno wchłaniana jedynie w jamie ustnej, nieprotonowana nikotyna, która częściowo występuje w fazie parowej dymu, jest szybko wchłaniana w jamie ustnej [5]. W przypadku cygar pH dymu rośnie od 6,5 do 8,5 wraz ze wzrostem liczby pobrań dymu, co zapewnia

szybkie wchłanianie wolnej nikotyny w jamie ustnej, dające satysfakcję palaczowi, przez co nie potrzebuje on inhalować dymu. Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku palenia papierosów z ciemnego tytoniu *air-cured*.

W badaniach porównawczych nad siłą działania rakotwórczego smoły pochodzącej z różnych tytoni na skórę myszy wykazano najwyższą aktywność smoły z tytoni *flue-cured* i *sun-cured*, a najniższą z tytoniu *air-cured*. Z kolei dym papierosów wykonanych z mieszanki tytoniowej częściej indukował raka krtani u złocistych chomików syryjskich niż dym papierosów z tytoniu ciemnego, *air-cured* [29].

W celu weryfikacji hipotezy, że azotany obniżają zawartość PAH w tytoniu i tym samym zmniejszają siłę działania rakotwórczego smoły tytoniowej na skórę myszy, do standardowej mieszanki tytoniowej dodano azotan sodu (V) w ilości 8,3%. Smoła z tej mieszanki, zawierająca 0,6 µg B[a]P/g smoły, wywołała brodawczaki i raki skóry tylko u 2/50 myszy, podczas gdy smoła z papierosów kontrolnych, bez dodatku azotanu, zawierająca 1,05 µg B[a]P/g smoły, spowodowała nowotwory skóry u 25/100 myszy [46]. Również u złocistych chomików syryjskich narażonych na dym papierosów z dodatkiem 8 % azotanu sodu stwierdzono raka krtani u 25/100 zwierząt (15,6%), natomiast w przypadku tych samych papierosów bez dodatku azotanu nowotwór ten wystąpił u 60/200 zwierząt (30%) [29].

Do mieszanek tytoni papierosowych dodawany jest tzw. tytoń modyfikowany (*reconstituted tobacco*, RT) i tytoń ekspandowany (*expanded tobacco*, ET). RT umożliwia wykorzystanie rozdrobnionego tytoniu oraz nerwów liści i łodyg tytoniu, co obniża koszty produkcji papierosów i ich cenę rynkową. Wykazano, że dym z papierosów zawierających wyłącznie RT cechuje się mniejszymi zawartościami smoły, nikotyny, lotnych fenoli i rakotwórczych PAH w porównaniu z krajanką tytoniową. Zaletą RT jest zwiększona aeracja tytoniu, co poprawia jego palność. Większość badanych smół otrzymanych z RT wykazywała słabe działanie rakotwórcze na skórę myszy [59]. Również w badaniach inhalacyjnych na złocistych chomikach syryjskich rozcieńczony dym papierosów z RT indukował znamienne mniej raków krtani (19/160) w porównaniu z dymem z papierosów nie zawierających RT (60/200). W 7 porcjach dymu papierosów z RT stwierdzono obecność 20,8 mg smoły i 16 ng B[a]P, natomiast w 10 porcjach dymu papierosa kontrolnego, bez dodatku RT, ilości te wynosiły odpowiednio 33,7 mg i 35,4 ng [29]. Wyniki te dowodzą, że na modelach zwierzęcych występowanie brodawczaka i raka w tkance nabłonkowej koreluje z ilością kancerogennych PAH w dymie papierosowym. Z drugiej strony prokancerogeny typu TSNA nie są aktywowane metabolicznie w tkankach nabłonkowych, a zatem nie indukują nowotworów w tych tkankach.

Aktywacja metaboliczna tych związków zachodzi bowiem w płucach [44], gdzie indukują gruczolakoraka. Stężenie azotanów w tytoniu jest odpowiedzialne za ilość emitowanych TSNA w dymie papierosowym. Papierosy z RT generują znacznie więcej TSNA niż papierosy nie zawierające tego składnika. Stężenie azotanów w obecnych mieszanych tytoniach papierosowych, z dodatkiem 20-30% RT, wynosi 1,2-1,5%, podczas gdy w dawniej stosowanych tytoniach, bez dodatku RT, nie przekraczało 0,5%. W USA opracowano proces technologiczny, który obniża stężenie azotanów w RT o ponad 90% [35].

Zaletą ET, otrzymanego m.in. na drodze kriodesykcji (*freeze-drying*) jest większa zdolność wypełniania od tytoniu naturalnego. Do wypełnienia papierosa z filtrem o długości 85 mm potrzeba 630 mg tytoniu ET, podczas gdy do wypełnienia papierosa bez filtra o tych samych wymiarach należy użyć 920 mg tytoniu zwykłego. Zawartości smoły w obu rodzajach papierosów wynosiły odpowiednio 12,4 mg i 22,1 mg. Również stężenia innych substancji toksycznych i rakotwórczych, a zwłaszcza CO, cyjanowodoru (HCN), akroleiny, nikotyny, benzo[a]antracenu (B[a]A) i B[a]P w dymie papierosów z tytoniu modyfikowanego były istotnie niższe niż w dymie papierosów z tytoniu zwykłego [62].

D o d a t k i d o t y t o n i u

W niektórych krajach, takich jak Niemcy i USA, do produktów tytoniowych dodawane są składniki zapewniające specyficzny smak i aromat produktu. Stosowane są także dodatki do tytoniu w celach technologicznych, m.in. utrzymujące wilgotność i plastyczność papierosa. W innych krajach, takich jak np. Wielka Brytania, Australia i Kanada, nie są stosowane dodatki zapachowe do papierosów [9].

Tytoń naturalny zawiera szerokie spektrum substancji, które podczas palenia papierosa przyczyniają się do zapachu dymu. Obejmują one swoiste dla tytoniu terpenoidy (solanesol, solanesen, fiten, norfiten, lewantenolidy, cyklotetradekanoole i in.), pirole i pirazyny [67]. Dodatki będące prekursorami zapachów dymu papierosowego, dodawane do mieszanek tytoniowych, mają kompensować utratę naturalnego zapachu tytoniu na filtrze papierosa i wzmacniać słaby zapach mieszanki tytoniowej zawierającej RT. Obejmują one substancje naturalne, dające zapach miętowy, leśny, owocowy, kwiatowy i pikantny. W niektórych przypadkach dodawane są substancje syntetyczne wzmacniające zapach. Sugerowano, że dodatki do papierosów są stosowane w celu zmniejszenia percepcji środowiskowego dymu tytoniowego (ETS) [20].

W 1993 r. i 1994 r. z inicjatywy przemysłu tytoniowego ustalono listę 599 substancji, które uznano za bezpieczne dodatki do tytoniu bez uwzględnienia aktywności tych substancji podczas spalania i po spalaniu

[30]. Wyjątek stanowił mentol, znany z przechodzenia do dymu bez konsekwencji generowania WWA [53]. Ocena toksykologiczna 170 substancji zapachowych, stosowanych do produkcji amerykańskich papierosów mieszkanych, przeprowadzono w 4 badaniach podprzewlekłych na szczurach, którym dym z papierosów mieszkanych zawierających dodatki lub z papierosów bez tych dodatków podawano donosowo. Narażenie monitorowano oceniając stężenie COHb we krwi oraz nikotyny i kotyniny w surowicy. MS dymu papierosów z dodatkami zapachowymi i bez tych dodatków spowodował takie same zmiany w drogach oddechowych szczurów w postaci rozrostu i metaplastyki komórek błony śluzowej nosa i krtani [34].

Substancje utrzymujące wilgotność przeciwdziałają wysychaniu tytoniu, które mogłoby prowadzić do cierpkiego smaku dymu, a ponadto chronią tytoń przed utratą substancji zapachowych. Obecnie najważniejszymi dodatkami utrzymującymi wilgoć są glicerol i glikol propylenowy, natomiast mniej ważnymi – glikol dietylenowy i sorbitol. Substancje utrzymujące wilgotność stanowią do 5% całkowitej masy tytoniu papierosowego. Należy pamiętać, że glicerol jest prekursorem akroleiny toksycznej dla aparatu ręskowego dróg oddechowych, natomiast glikol propylenowy może ulegać termicznemu rozkładowi do tlenku propylenu, uważanego za możliwy kancerogen ludzki [50]. W końcu lat 60. ubiegłego stulecia niektóre marki amerykańskich papierosów zawierały tlenek propylenu w ilościach 0,34-0,96 mg/papieros. W 1999 r. w dymie papierosów wypełnionych tytoniem z dodatkiem glikolu propylenowego wykazano obecność 12-100 ng/papieros tlenku propylenu.

W ostatnich latach oszacowano wpływ 482 tytoniowych ingrediencji na skład chemiczny dymu i jego toksyczność [9]. Badaniami objęto substancje zapachowe, wiążące, konserwujące, wypełniające, utrzymujące wilgoć i wspomagające proces produkcji papierosów. Oznaczono produkty pirolizy badanych związków oraz ich wpływ na składniki dymu papierosowego uważane za istotne czynniki etiologiczne chorób tytoniozależnych (tzw. „analitów Hoffmanna”). Do czynników tych zaliczono m.in. niektóre lotne związki karbonylowe, TSNA, aminy aromatyczne, fenole, B[a]P i metale toksyczne. Ponadto oceniono genotoksyczność ingrediencji *in vitro* i cytotoksyczność frakcji PM oraz wpływ ingrediencji na toksyczność dymu u szczurów *Sprague-Dawley* obojga płci w doświadczeniu podprzewlekłym. Wykazano, że spośród 291 badanych substancji 3 ulegały pirolizie z wydajnością poniżej 1%, a 2/3 z nich były rozkładane z wydajnością około 5%. Zidentyfikowano 19 dodatków, które w wyniku pirolizy generowały 8 spośród 82 „analitów Hoffmanna” w ilościach przekraczających poziom progowy (0,03 µg/papieros). Były to: aldehyd masłowy, aldehyd octowy,

benzen, fenol, m- + p-krezol, o-krezol, styren i toluen. Stężenia tych substancji w dymie papierosów zawierających dodatki były nieznacznie wyższe (7-15,5%), ale również niższe (9-13,4%) w porównaniu z dymem papierosów bez dodatków (papierosy kontrolne). W teście *Amesa* na *Salmonella typhimurium*, szczepy TA98, TA100, TA102, TA1535 i TA1537 w obecności i bez udziału frakcji S9, nie wykazano różnic w sile działania mutagennego pomiędzy PM papierosów zawierających dodatki i papierosów kontrolnych. W teście mikrojądrowym oraz w teście cytotoksycznym z wychwytem czerwieni obojętnej (NRU) nie stwierdzono różnic w aktywności frakcji PM papierosów badanych i kontrolnych. Również w doświadczeniu podprzewlekłym nie obserwowano różnic w zmianach histopatologicznych i histomorfometrycznych w obrębie jamy nosowej, krtani i płuc u szczurów narażonych na dym tytoniowy papierosów zawierających dodatki i papierosów kontrolnych [9].

Jednym z dodatków do tytoniu, niektórych marek papierosów (np. Marlboro), jest amoniak w postaci wodorotlenku amonu (0,3%) lub wodorofosforanu (V) diamonu (0,8%). Amoniak pełni funkcję zapachowo-smakową oraz pomocniczą. Jest on dodawany wyłącznie do tytoni modyfikowanych jako czynnik uwalniający pektyny z tytoniu, które wiążą cząstki drobnego tytoniu, co umożliwi uzyskanie arkuszy RT [18]. Stężenie donora amoniaku w papierosie jest zawsze niższe od ilości dodanej. Jest to spowodowane m.in. ogrzewaniem i suszeniem oraz reakcjami z cukrami i innymi węglowodanami tytoniu do ważnych substancji smakowo-zapachowych. Stwierdzono, że wzrost ilości donorów amoniaku w mieszance tytoniowej na ogół zwiększa stężenie wolnego amoniaku w MS dymu. Na przykład papierosy Marlboro Lights King Size produkowane w 1998 r. uwalniały ok. 16,4 µg amoniaku/papieros, podczas gdy takie same papierosy bez dodatku donorów amoniaku uwalniały amoniak w ilości ok. 7-9 µg/papieros [18]. Ilość amoniaku w bocznym strumieniu dymu papierosowego, a zatem w środowiskowym dymie tytoniowym jest 50-170 razy większa niż w MS dymu [7].

W ostatnich latach postawiono tezę, że donory amoniaku dodawane do tytoniu zwiększają biodostępność nikotyny, a zatem nasilają uzależnienie palaczy od papierosów i zwiększają ryzyko zdrowotne [37, 83]. Teza ta nie miała empirycznego potwierdzenia. W tym czasie nie było badań nad wpływem amoniaku na ilość nikotyny i szybkość z jaką osiąga ona strumień krwi tętniczej lub pokonuje barierę krew/mózg u palaczy.

Protonowane formy nikotyny, czyli jej sole, w obecności tlenu ulegają rozkładowi termicznemu w temp. > 600°C [70]. W niższych temperaturach nikotyna ulega przekształceniu w wolną zasadę, która odparowuje do

fazy gazowej dymu i frakcji PM bez udziału amoniaku [33].

Callicutt i wsp. [18] jako pierwsi ocenili wpływ donorów amoniaku na przechodzenie nikotyny z tytoniu do MS dymu papierosów komercyjnych. Nie stwierdzili zwiększonego przechodzenia nikotyny z papierosów Marlboro Lights King Size do MS dymu pomimo wzrostu stężenia wolnego amoniaku. Ponadto nie wykazali zależności pomiędzy pH tytoniu lub pH dymu tytoniowego i przechodzeniem nikotyny z tytoniu do MS dymu.

Wchłanianie nikotyny w jamie ustnej i górnych drogach oddechowych jest mniej wydajne od deponowania i wchłaniania nikotyny w płucach [73]. W wielu badaniach stwierdzono, że ponad 90%, a nawet do 100% nikotyny obecnej w MS dymu inhalowanego przez palacza ulega retencji, a następnie wchłonięciu przez barierę pęcherzykowo/włośniczkową [3, 8]. Zatem amoniak pochodzący z substancji dodawanych do tytoniu nie może zwiększać deponowania cząstek zawierających nikotynę oraz jej wchłaniania w dolnych drogach oddechowych. Ponadto amoniak i inne substancje o charakterze słabych zasad i słabych kwasów nie są w stanie zmieniać pH światła dróg oddechowych ze względu na wysoką pojemność buforowania płynu wyściółki płuc człowieka, dużą powierzchnię dróg oddechowych (ok. 90 m²) i stosunkowo niewielkie ilości substancji wchłanianych tą drogą; w przypadku nikotyny < 0,3 mg/porcję dymu [73, 84]. Nie bez znaczenia pozostaje fakt, że amoniak jako substancja lotna obecna w fazie gazowej MS dymu i uprzednio odparowana z frakcji PM ulega wchłanianiu już w jamie ustnej i górnych drogach oddechowych.

Dyfuzja bierna nikotyny przez barierę pęcherzykowo/włośniczkową jest uzależniona od postaci nikotyny. Postać ta zależy od pH dymu i miejsca wchłaniania. Tylko wolna nikotyna może pokonywać barierę pęcherzykowo/włośniczkową. Uważa się, że w pH 7,6 płynu pokrywającego dolne drogi oddechowe, tylko ok. połowy wolnej nikotyny ulega wchłanianiu do krwi włośniczkowej, a pozostała część jest protono-

wana i deponowana [84]. Zwrócono również uwagę na możliwość aktywnego transportu nikotyny w płucach, niezależnie od jej formy [58]. Wykazano istnienie tzw. cholinowego przenośnika, biorącego udział w aktywnym transporcie nikotyny do mózgu i innych tkanek lub narządów [1, 2]. W podsumowaniu należy stwierdzić, że dodatki do tytoniu uwalniające amoniak nie wpływają na retencję i wchłanianie nikotyny w płucach (Tab. 3). Zagadnienia te szeroko omówiono w kilku pracach poglądowych [26, 73, 74].

Filtry papierosowe

Już w 1959 r. wykazano selektywną redukcję lotnych składników dymu za pomocą filtra węglowego [41]. Na filtrze węglowym ulegają selektywnemu zatrzymywaniu takie toksyczne składniki MS dymu, jak HCN, formaldehyd, akroleina i aldehyd octowy. Wydajność tego procesu oszacowano na około 66% [45]. Filtry węglowe, w przeciwieństwie do filtrów z octanu celulozy, są mniej skuteczne w zatrzymywaniu smoły. W Japonii, Korei Płd., Wenezueli i na Węgrzech co najmniej 90% papierosów miało filtry węglowe. Natomiast w USA udział ten stanowił około 1% wszystkich papierosów sprzedanych w ostatnim 15-leciu [32].

W latach 50. wprowadzono papierosowe filtry z octanu celulozy najpierw w Szwajcarii, a następnie w Niemczech, USA, Wielkiej Brytanii, Japonii i Francji. W 1956 r. udział tych papierosów na rynku szwajcarskim wynosił 57,2%, niemieckim 16,7%, a amerykańskim 29,6%. W latach 60. papierosy z filtrem z octanu celulozy stanowiły co najmniej 95% rynku papierosowego we wszystkich krajach rozwiniętych, z wyjątkiem Francji, gdzie wskaźnik ten wynosił 85% [45].

Na początku lat 60. wykazano, że filtr z octanu celulozy zatrzymuje do 80% lotnych fenoli obecnych w dymie papierosowym [76]. Ma to istotne znaczenie dla rakotwórczego działania dymu papierosowego ponieważ związki te są promotorami nowotworów [47]. Stwierdzono, że smoła lub rozcieńczony dym papierosa z filtrem z octanu celulozy były słabiej rakotwórcze niż smoła lub rozcieńczony dym papierosa z filtrem węglowym.

Tabela 3. Wpływ amoniaku na retencję nikotyny w płucach 10 palaczy papierosów mężczyzn
Effect of ammonia on retention of nicotine in lung of 10 smokers

Parametr	Papieros kontrolny	Papieros z donorem amoniaku	Papieros z donorem amoniaku
Smola FTC (mg/pap.)	9,6	10,2	9,3
Nikotyna FTC (mg/pap.)	0,67	0,70	0,65
Amoniak w MS dymu (µg/pap.)	16	26	38
Warunki palenia	retencja nikotyny (%)		
2 sek. zatrzymanie dymu w ustach	46±9	64±11	53±11
75 ml inhalacja	88	85	80
500 ml inhalacja	99,1±0,5	98,8±0,6	99,6±0,2

Źródło: wg [4].

wym lub bez filtra [29, 61]. Filtr z octanu celulozy, w przeciwieństwie do filtrów węglowych, zatrzymuje do 75% rakotwórczych, lotnych N-nitrozoamin [17].

Perforacja filtra, czyli poprzeczne kanały boczne, umożliwiają rozcieńczanie dymu papierosowego powietrzem podczas zaciągania się. Prędkość przepływu powietrza od stożka papierosa poprzez wałek tytoniu ulega zmniejszeniu na skutek spadku podciśnienia, spowodowanego wciąganiem powietrza przez palacza poprzez poprzeczne kanały filtra. Powoduje to całkowite spalanie tytoniu i wyższą retencję frakcji PM na filtrze z octanu celulozy [6, 45]. Obecnie ponad połowa papierosów posiada perforowane końcówki filtrów. Konwencjonalny filtr z octanu celulozy zatrzymuje więcej smoły, nikotyny i fenolu, ale mniej CO, HCN, aldehydu octowego i akroleiny niż taki sam filtr z końcówką perforowaną [61]. Należy jednak pamiętać, że nabyte przez palacza zapotrzebowanie na nikotyne jest kompensowane przez większe pobieranie dymu, co uniemożliwia wykorzystanie technicznych rozwiązań zmierzających do zmniejszenia stężeń substancji toksycznych w dymie papierosowym [12, 27].

Inne czynniki wpływające na skład chemiczny dymu

Porowatość bibułki posiada istotny wpływ na skład chemiczny dymu papierosowego. Podczas i pomiędzy pobieraniem dymu przez palacza porowata bibułka zwiększa dyfuzję takich składników dymu jak wodór, NO, CO, CO₂, metan, etan i etylen na zewnątrz papierosa. Z drugiej strony przyspiesza dyfuzję tlenu i azotu ze środowiska zewnętrznego do kolumny tytoniu, co ułatwia tlenie się papierosa w przerwach pomiędzy pobieraniem dymu [45]. Porowatość bibułki istotnie obniża stężenia CO, HCN, NO_x i lotnych aldehydów oraz znacznie zmniejsza ilości generowanych lotnych i specyficznych dla tytoniu N-nitrozoamin, obecnych w dymie papierosowym. Natomiast nie wpływa zasadniczo na poziomy smoły, nikotyny, B[a]A i B[a]P [15].

Skład chemiczny dymu papierosowego zależy również od takich parametrów jak długość i obwód papierosa, grubość składników mieszanki tytoniowej oraz stopień upakowania papierosa tytoniem. Wydłużenie papierosa z 50 mm do 130 mm zwiększa ilość tlenu w MS dymu, natomiast obniża ilości wodoru, CO, metanu, etanu i etylenu, co jest spowodowane wzrostem ilości dyfundującego tlenu przez bibułkę do strumienia dymu [80]. Ze wzrostem długości papierosa rosną stężenia smoły, nikotyny, PAH i innych składników frakcji PM [24].

Obwód papierosa mniejszy od standardowego (24,8-25,5 mm) obniża ilości smoły, nikotyny i innych składników frakcji PM w wyniku zmniejszenia ilości palonego tytoniu i wzrostu objętości tlenu niezbędnego do palenia [15, 24, 45, 55].

Rozstęp pomiędzy nitkami tytoniu wypełniającego papieros, uwarunkowany liczbą cięć na jednostkę długości tytoniu, wpływa również na skład chemiczny dymu papierosowego i jego rakotwórcze działanie. Zwiększenie liczby cięć/cal z 8 do 60 spowodowało zmniejszenie zawartości smoły/papieros z 29,1 do 23 mg, zaś B[a]P z 37 do 21 ng. Rakotwórcze działanie na skórę myszy smoły pochodzącej z papierosów wykonanych z tego samego tytoniu o liczbie cięć/cal wynoszącej 8, 30 lub 50, wyrażona odsetkiem zwierząt z nowotworami, wynosiła odpowiednio 27%, 16% i 13%. Natomiast w innych badaniach, pomimo istotnie niższych zawartości smoły, nikotyny, lotnych aldehydów oraz B[a]A i B[a]P w dymie papierosów wykonanych z drobno pokrojonego tytoniu, nie wykazano różnic w sile działania rakotwórczego na skórę myszy smoły pochodzącej z tych papierosów w porównaniu ze smołą z papierosów zawierających grubo pokrojony tytoń [59, 86].

PIŚMIENNICTWO

1. Allen D.D., Lockman P.R.: The blood-brain barrier choline transporter as a brain drug delivery vector. *Life Sci.* 2003, 73, 1609-1615.
2. Allen D.D., Lockman P.R., Roder K.P., Dwoskin I.P., Crooks P.A.: Active transport of high-affinity choline and nicotine analogs into the central nervous system by the blood-brain barrier choline transporter. *J. Pharm. Exper. Therap.* 2003, 304, 1268-1274.
3. Armitage A.K., Dixon M., Frost B.E., Mariner D.C., Sinclair N.M.: The effect of inhalation volume and breath-hold duration on the retention of nicotine and solanesol in the human respiratory tract and on subsequent plasma nicotine concentrations during cigarette smoking. *Beitr. Tabakforsch. Int.* 2004a, 21, 240-249.
4. Armitage A.K., Dixon M., Frost B.E., Mariner D.C., Sinclair N.M.: The effect of tobacco blend additives on the retention of nicotine and solanesol in the human respiratory tract and on subsequent plasma nicotine concentrations during cigarette smoking. *Chem. Res. Toxicol.* 2004b, 17, 537-544.
5. Armitage A.K., Turner D.H.: Absorption of nicotine in cigarette and cigar smoke through the oral mucosa. *Nature (London)* 1970, 226, 1231-1232.
6. Baker R.R.: The effect of ventilation on cigarette combustion mechanisms. *Recent Adv. Tob. Sci.* 1984, 10, 88-150.
7. Baker R.R.: Smoke chemistry. In: Davis E.L., Nielsen M.T. (Eds.). *Tobacco, Production, Chemistry and Technology*. Blackwell Science. Oxford 1999, 398-439.
8. Baker R.R., Dixon M.: The retention of tobacco smoke constituents in the human respiratory tract. *Inhal. Toxicol.* 2006, 18, 255-294.
9. Baker R.R., Massey F.D., Smith C.: An overview of the effects of tobacco ingredients on smoke chemistry and toxicity. *Food Chem. Toxicol.* 2004, 42S, S53-S83.

10. *Belinsky S.A., Foley J.F., White C.M., Anderson M.W., Maronpot R.*: dose-response relationship between O6-methylguanine formation in Clara cells and induction of pulmonary neoplasia in the rat with 4-(methylnitro-Samino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Cancer Res.* 1990, 50, 3772-3780.
11. *Benowitz N.L., Hall S.M., Herning S.I., Jacob P.III, Jones R.T., Osman A.L.*: Smokers of low yield cigarettes do not consume less nicotine during cigarette smoking. *New Engl. J. Med.* 1983, 309, 139-142.
12. *Benowitz N.L., Henningfield J.E.*: Establishing a nicotine threshold for addiction. The implications for tobacco regulation. *New Engl. J. Med.* 1994, 331, 123-125.
13. *Bernfeld P., Homberger F., Russfield A.B.*: Strain differences in the response of inbred Syrian hamsters to cigarette smoke inhalation. *J. Natl. Cancer Inst.* 1974, 53, 1141-1157.
14. *Brunnemann K.D., Hoffmann D.*: Chemical studies on tobacco smoke. XXV. The pH of tobacco smoke. *Food Cosm. Toxicol.* 1974, 12, 115-124.
15. *Brunnemann K.D., Hoffmann D., Gairola C.G., Lee B.C.*: Low ignition propensity cigarettes: smoke analysis for carcinogens and testing for mutagenic activity of the smoke particulate matter. *Food Chem. Toxicol.* 1994, 32, 917-922.
16. *Brunnemann K.D., Masaryk J., Hoffmann D.*: The role of tobacco stems in the formation of N-nitrosamines in tobacco and cigarette mainstream and sidestream smoke. *J. Agricult. Food Chem.* 1983, 31, 1221-1224.
17. *Brunnemann K.D., Yu L., Hoffmann D.*: Chemical studies on tobacco smoke. XVII. Assessment of carcinogenic volatile N-nitrosamines in mainstream and sidestream smoke from cigarettes. *Cancer Res.* 1977, 37, 3218-3222.
18. *Callicutt C.H., Cox R.H., Hsu F., Kinser R.D., Laffoon S.W., Lee P.N., Podraza K.F., Sanders E.B., Seeman J.I.*: The role of ammonia in the transfer of nicotine from tobacco to mainstream smoke. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 2006, 46, 1-17.
19. *Cascorbi I., Brockmüller J., Mrozikiewicz P.M., Bauer S., Loddenkemper R., Roots I.*: Homozygous rapid arylamine N-acetyltransferase (NAT2) genotype as a susceptibility factor for lung cancer. *Cancer Res.* 1996, 56, 3961-3966.
20. *Connolly G.N., Wayne G.D., Lymperis D., Doherty M.C.*: How cigarette additives are used to mask environmental smoke. *Tob. Control* 2000, 9, 283-291.
21. CORESTA Standard Smoking Methods 23: Determination of total and nicotine-free dry particulate matter using a routine analytical cigarette-smoking machine. Determination of total particulate matter and preparation for water and nicotine measurements. *CORESTA Inform. Bull.*, 1991, 1991-3, 141-151.
22. *Dalbey W.E., Nettesheim P., Griesemer R., Caton J.E., Guerin M.R.*: Chronic inhalation of cigarette smoke by F344 rats. *J. Natl Cancer Inst.* 1980, 64, 383-390.
23. *Davis B.R., Whitehead J.K., Gill M.E., Lee P.N., Butterworth A.D., Roe F.J.*: Response of rat lung to tobacco smoke condensate or fractions derived from it ministered repeatedly by intratracheal installation. *Br. J. Cancer* 1975, 31, 453-461.
24. *DeBardeleben M.Z., Claflin W.E., Gannon W.F.*: Role of cigarette physical characteristics on smoke composition. *Recent Advan. Tob. Sci.* 1978, 4, 85-111.
25. *Devesa S.S., Shaw G.L., Blot W.J.*: Changing patterns of lung cancer incidence by histologic type. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 1991, 1, 29-34.
26. *Dixon M., Lambing K., Seeman J.I.*: On the transfer of nicotine from tobacco to the smoker. A brief review of ammonia and "pH" factors. *Beitr. Tabakforsch. Int.* 2000, 19, 103-113.
27. *Djordjevic M.V., Stellman S.D., Zang E.*: Doses of nicotine and lung carcinogens delivered to cigarette smokers. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000, 92, 106-111.
28. *Doll R., Hill A.B.*: Smoking and carcinoma of the lung. Preliminary report. *Br. Med. J.*, 1950, 2, 739-748.
29. *Dontenwill W., Chevalier H.J., Harke H.P., Lafrenz U., Reckzeh G., Schneider B.*: Investigations on the effects of chronic cigarette smoke inhalation in Syrian golden hamsters. *J. Natl. Cancer Inst.* 1973, 51, 1781-1832.
30. *Doull J., Frawley J.P., George W.*: List of ingredients added to tobacco in the manufacture of cigarettes by six major American cigarette companies. *Tob. J. Int.* 1994, 196, 32-39.
31. *El-Bayoumy K., Iatropoulos M., Amin S., Hoffmann B., Wynder E.L.*: Increased expression of cyclooxygenase-2 in rat lung tumors induced by the tobacco-specific nitrosamine 4-(methylnitrosamine)-4-(3-pyridyl)-butanone: Impact of a high-fat diet. *Cancer Res.* 1999, 59, 1400-1403.
32. *Fisher B.*: Filtering new technology. *Tob. Reporter* 2000, 127, 46-47.
33. *Fournier J.A., Paine III J.B., Seeman J.I., Armstrong D.W., Chen X.*: Thermal mechanisms for the transfer of amines, including nicotine, to the gas phase and aerosols. *Heterocycles* 2001, 55, 59-74.
34. *Gaworski C.L., Dozier M.M., Heck J.D., Gerhard J.M., Rajendran N., David R.M., Brennecke L.H., Morrissey R.*: Toxicological evaluation of flavor ingredients added to cigarette tobacco: 13-week inhalation exposures in rats. *Inhal. Toxicol.* 1998, 10, 357-381.
35. *Gellatly G., Uhl R.G.*: Method for removal of potassium nitrate from tobacco extracts. U.S. Patent 4, 131, 118, December 26, 1978.
36. *Graham E.A., Croninger A.B., Wynder E.L.*: Experimental production of carcinoma with cigarette tar. IV. Successful experiments with rabbits. *Cancer Res.*, 1957, 17, 1058-1066.
37. *Gray N., Henningfield J.E., Benovitz N.L., Connolly G.N., Dresler C., Fagertstrom K., Jarvis M.J., Boyle P.*: Toward a comprehensive long term nicotine policy. *Tob. Control* 2005, 14, 161-165.
38. *Green C.R., Rodgman A.*: The Tobacco Chemists' Research Conference. A half-century of advances in analytical methodology of tobacco and its products. *Recent Advan. Tob. Sci.* 1996, 22, 131-304.
39. *Grimmer G., Schneider D., Naujack K.W., Dettbarn G., Jacob J.*: Intercept-reactant method for the determination

- of aromatic amines in mainstream tobacco smoke. Beitr. Tabakforsch. Int. 1995, 16, 141-156.
40. *Gschaidmeier H., Seidel A., Oesch F., Burchell B., Bock K.W.*: Formation of mono- and diglucuronides and of other glycosides of benzo(a)pyrene-3,6-quinol by V79 cell-expressed human phenol UDP-glucuronosyltransferases of the UGT1 gene complex. Biochem. Pharmacol. 1995, 49, 1601-1606.
41. *Haag H.B., Larson P.S., Finnegan J.K.*: Effect of filtration on the chemical and irritating properties of cigarette smoke. A.M.A. Arch. Otolaryngol. 1959, 69, 261-265.
42. *Hecht S.S.*: Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific N-nitrosamines. Chem. Res. Toxicol. 1998, 11, 559-603.
43. *Hida T., Yatabe Y., Achiwa H., Muramatsu H., Kozaki K.I., Makamura S., Ogawa M., Mitsudomic T., Sugiura S., Takahashi T.*: Increased expression of cyclooxygenase-2 occurs frequently in human lung cancers, especially in adenocarcinoma. Cancer Res. 1998, 58, 3761-3764.
44. *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 1994, 41, 1-52.
45. *Hoffmann D., Hoffmann I.*: The changing cigarette, 1950-1995. J. Toxicol. Environ. Health 1997, 50, 307-364.
46. *Hoffmann D., Wynder E.L.*: The reduction in the tumorigenicity of cigarette smoke condensate by addition of sodium nitrate to tobacco. Cancer Res. 1967, 27, 172-174.
47. *Hoffmann D., Wynder E.L.*: A study of tobacco carcinogenesis. XI. Tumor initiation, tumor acceleration, and tumor promoting activity of condensate fraction. Cancer 1971, 27, 848-864.
48. International Agency for Research on Cancer. Tobacco Smoking. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, France. Vol. 38, 1986.
49. International Agency for Research on Cancer. Di(2-ethylhexyl)phthalate. Some Industrial Chemicals and Dyestuffs. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Lyon, France 1982, 29, 257-280.
50. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 60. Some Industrial Chemicals. Lyon, France 1999, 73-75, 181-182.
51. International Agency for Research on Cancer. Di(2-ethylhexyl)phthalate. Some Industrial Chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Lyon, France 2000, 77, 41-148.
52. International Standards Organization. Routine Analytical Cigarette Smoking Machine: Part I. Specifications and Standard Conditions. Geneva, Switzerland, ISO, 1991, 3308.
53. *Jenkins R.W.J., Neroman P.H., Charms M.D.*: Cigarette smoke formation. II. Smoke distribution and mainstream pyrolytic composition of added 14C-menthol (U). Beitr. Tabakforsch. Int. 1970, 5, 299-301.
54. *Kulkarni A.P.*: Lipoxigenases. In: Enzyme Systems that Metabolise Drugs and Other Xenobiotics. Ed. Ioannides C. J. Wiley & Sons, Ltd, Chichester UK 2002, 231-279.
55. *Lewis C.I.*: The effect of cigarette construction parameters on smoke generation and yield. Recent Advan. Tob. Sci. 1992, 16, 73-101.
56. *Mrozikiewicz P.M., Cascorbi I., Brockmüller J., Roots I.*: Determination and allelic allocation of seven nucleotide transitions within the arylamine N-acetyltransferase gene in the Polish population. Clin. Pharmacol. Ther. 1996, 59, 376-382.
57. *Mrozikiewicz P.M., Cascorbi I., Brockmüller J., Roots I.*: CYP1A1 mutations 4887A, 4889G, 5639C and 6235C in the Polish population and their allelic linkage, determined by peptide nucleic acid-mediated PCR clamping. Pharmacogenetics 1997, 7, 303-307.
58. *Nair M.K., Chetty D.J., Ho H., Chien Y.W.*: Biomembrane permeation of nicotine mechanistic studies with porcine mucosae and skin. J. Pharm. Sci. 1997, 86, 257-262.
59. National Cancer Institute. Tar and Less Hazardous Cigarettes. First Set of Experimental Cigarettes. Smoking and Health Program. DHEW Publication No. (NIH) 76-905, 1977a.
60. National Cancer Institute. Toward Less Hazardous Cigarettes. Second Set of Experimental Cigarettes. Smoking and Health Program. DHEW Publication No. (NIH) 76-111, 1977b.
61. National Cancer Institute. Toward Less Hazardous Cigarettes. Third Set of Experimental Cigarettes. Smoking and Health Program. DHEW Publication No. (NIH) 77-1280, 1977c.
62. National Cancer Institute. Toward Less Hazardous Cigarette. Fourth Set of Experimental Cigarettes. Smoking and Health Program. DHEW Publication No. (NIH) 80, 1980.
63. *Norman V., Ihrig A.M., Larson T.M., Moss B.L.*: The effect of nitrogenous blend components on NO/NO_x and HCN levels in mainstream and sidestream smoke. Beitr. Tabakforsch. Int. 1983, 12, 55-62.
64. *Oesch F., Golan M.*: Specificity of mouse liver cytosolic epoxide hydrolase for K-region epoxides derived from polycyclic aromatic hydrocarbons. Cancer Lett. 1980, 9, 169-175.
65. *Pillsbury H.C., Bright C.C., O'Connor K.J., Irish F.W.*: Tar and nicotine in cigarette smoke. J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 1969, 52, 458-462.
66. *Radomska-Pandya A., Czernik P.J., Little J.M., Battaglia E., Mackenzie P.I.*: Structural and functional studies of UDP-glucuronosyltransferases. Drug Metab. Rev. 1999, 31, 817-899.
67. *Roberts D.L.*: Natural tobacco flavor. Recent Advan. Tob. Sci. 1988, 14, 49-81.
68. *Roy P., Kulkarni A.P.*: Cooxidation of acrylonitrile by soybean lipoxigenase and partially purified human lung lipoxigenase. Xenobiotica 1999, 29, 511-531.
69. *Sawicki J., Moschel R.C., Dipple A.*: Involvement of both *Syn*- and *Anti*-dihydrodiol-epoxides in the binding of

- 7,12-dimethylbenz(a)anthracene to DNA in mouse embryo cell cultures. *Cancer Res.* 1983, 43, 3212-3218.
70. *Scharping C.E., McManus M.E., Holder G.M.*: NADPH-supported and arachidonic acid-supported metabolism of the enantiomers of trans-7,8-dihydrobenzo(a)pyrene-7,8-diol by human liver microsomal samples. *Carcinogenesis* 1992, 13, 1199-1207.
71. *Schmeltz I., Wenger A., Hoffmann D., Tso T.C.*: Chemical studies on tobacco smoke. 63. On the fate of nicotine during pyrolysis and in a burning cigarette. *J. Agric. Food Chem.* 1979, 27, 602-608.
72. *Schumacher J.N.*: The isolation of 6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-[(+)-3-methylvaleryl]-b-D-glucopyranose from tobacco. *Carbohydrate Res.* 1970, 13, 1-8.
73. *Seeman J.I.*: Possible role of ammonia on the deposition, retention and absorption of nicotine. *Chem. Res. Toxicol.* 2007, 44, 326-343.
74. *Seeman J.I., Corchman R.A.*: The possible role of ammonia toxicity on the exposure, deposition, retention, and the bioavailability of nicotine during smoking. *Food Chem. Toxicol.* 2008, 46, 1863-1881.
75. *Singer B., Essigmann J.M.*: Site-specific mutagenesis: Retrospective and prospective. *Carcinogenesis* 1991, 12, 945-955.
76. *Spears A.W.*: Selective filtration of volatile phenolic compounds from cigarette smoke. *Tob. Sci.* 1963, 7, 76-80.
77. *Spears A.W., Jones S.T.*: Chemical and physical criteria for tobacco leaf of modern day cigarettes. *Recent Advan. Tob. Sci.* 1981, 7, 19-39.
78. *Starek A.*: Skutki zdrowotne narażenia zawodowego na substancje chemiczne u palaczy tytoniu. *Med. Pracy* 2002, 53, 73-77.
79. *Stellman S.D., Muscat J.E., Thompson S., Hoffmann D., Wynder E.L.*: Risk of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the lung in relation to lifetime filter cigarette smoking. *Cancer* 1997, 80, 362-368.
80. *Terrell J.H., Schmeltz I.*: Alteration of cigarette smoke composition. II. Influence of cigarette design. *Tob. Sci.* 1970, 14, 82-85.
81. *Tso T.C., Chaplin J.P., Adams J.D., Hoffmann D.*: Simple correlation and multiple regression among leaf and smoke characteristics of burley tobaccos. *Beitr. Tabakforsch. Int.* 1982, 11, 141-150.
82. *Tsuda M., Kurashima Y.*: Tobacco smoking, chewing and snuff dipping. Factors contributing to the endogenous formation of N-nitroso compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* 1991, 21, 243-253.
83. *Wayne G.R., Connolly G.N., Henningfield J.F.*: Brand differences of free-base nicotine delivery in cigarette smoke. The view of the tobacco industry documents. *Tob. Control* 2006, 15, 189-198.
84. *Willems E.W., Rambali B., Vleeming W., Opperhuizen A., van Amster J.G.C.*: Significance of ammonium compounds on nicotine exposure to cigarette smokers. *Food Chem. Toxicol.* 2006, 44, 678-688.
85. *Wynder E.L., Graham E.A.*: Tobacco smoking as a possible etiologic factor in bronchiogenic carcinoma. A study of six hundred and eighty-four proved cases. *J. Amer. Med. Assoc.* 1950, 143, 329-336.
86. *Wynder E.L., Hoffmann D.*: Reduction of tumorigenicity of tobacco smoke. An experimental approach. *J. Amer. Med. Assoc.* 1965, 192, 85-94.
87. *Wynder E.L., Kopf P., Ziegler H.*: A study of tobacco carcinogenesis. II. Dose-response studies. *Cancer* 1957, 10, 1193-1200.
88. *Zhang Z.Y., Fasco M.J., Huang L., Guengerich F.P., Kaminsky L.S.*: Characterization of purified human recombinant cytochrome P4501A1- Ile⁴⁶² and -Val⁴⁶²: assessment of a role for the rare allele in carcinogenesis. *Cancer Res.* 1996, 56, 3926-3933.

Otrzymano: 20.03.2009

Zaakceptowano do druku: 21.09.2009