

## **Occupational exposure to heavy metals: DNA damage induction and DNA repair inhibition prove co-exposures to cadmium, cobalt and lead as more dangerous than hitherto expected.**

[Hengstler JG](#), [Bolm-Audorff U](#), [Faldum A](#), [Janssen K](#), [Reifenrath M](#), [Götte W](#), [Jung D](#), [Mayer-Popken O](#), [Fuchs J](#), [Gebhard S](#), [Bienfait HG](#), [Schlink K](#), [Dietrich C](#), [Faust D](#), [Epe B](#), [Oesch F](#).

Institute of Toxicology, Obere Zahlbacher Str. 67, 55131 Mainz, Germany. [hengstle@mail.Uni-Mainz.de](mailto:hengstle@mail.Uni-Mainz.de)

Co-exposure to cadmium, cobalt, lead and other heavy metals occurs in many occupational settings, such as pigment and batteries production, galvanization and recycling of electric tools. However, little is known about interactions between several heavy metals. In the present study we determined DNA single strand break (DNA-SSB) induction and repair capacity for 8-oxoguanine in mononuclear blood cells of 78 individuals co-exposed to cadmium (range of concentrations in air: 0.05-138.00 micro g/m<sup>3</sup>), cobalt (range: 0-10 micro g/m<sup>3</sup>) and lead (range: 0-125 micro g/m<sup>3</sup>). Exposure to heavy metals was determined in air, blood and urine. Non-parametric correlation analysis showed a correlation between cadmium concentrations in air with DNA-SSB ( $P = 0.001$ ,  $R = 0.371$ ). Surprisingly, cobalt air concentrations correlated even better ( $P < 0.001$ ,  $R = 0.401$ ), whereas lead did not correlate with DNA-SSB. Logistic regression analysis including 11 possible parameters of influence resulted in a model showing that cobalt in air, cadmium in air, cadmium in blood and lead in blood influence the level of DNA-SSB. The positive result with cobalt was surprising, since exposure levels were much lower compared with the TRK-value (technical exposure limit) of 100 micro g/m<sup>3</sup>. To examine, whether the positive result with cobalt is stable, we applied several logistic regression models with two blocks, where all factors except

## **Exposition professionnelle aux métaux lourds: l'induction de modifications de l'ADN et l'inhibition de la réparation de l'ADN prouvent que la co-exposition au cadmium, au cobalt et au plomb est plus dangereuse que ce qui était admis jusqu'à présent.**

[Hengstler JG](#), [Bolm-Audorff U](#), [Faldum A](#), [Janssen K](#), [Reifenrath M](#), [Götte W](#), [Jung D](#), [Mayer-Popken O](#), [Fuchs J](#), [Gebhard S](#), [Bienfait HG](#), [Schlink K](#), [Dietrich C](#), [Faust D](#), [Epe B](#), [Oesch F](#).

Institute of Toxicology, Obere Zahlbacher Str. 67, 55131 Mainz, Germany. [hengstle@mail.Uni-Mainz.de](mailto:hengstle@mail.Uni-Mainz.de)

La co-exposition au cadmium, au cobalt, au plomb et à d'autres métaux lourds se produit dans beaucoup d'environnements professionnels, tels que la production de colorants et de batteries, la galvanisation et le recyclage des outils électriques. Cependant, on connaît peu les interactions entre plusieurs métaux lourds. Dans la présente étude nous avons déterminé l'induction de la cassure simple-brin d'ADN (DNA-SSB) et la capacité de réparation pour la 8-oxoguanine dans des cellules sanguines mononuclées de 78 individus co-exposés au cadmium (gamme des concentrations en air : 0.05-138.00 microg/m<sup>3</sup>), au cobalt (gamme : 0-10 microg/m<sup>3</sup>) et au plomb (gamme : 0-125 microg/m<sup>3</sup>). L'exposition aux métaux lourds a été analysée dans l'air, le sang et l'urine. L'analyse de corrélation non paramétrique a montré une corrélation entre les concentrations en cadmium dans l'air et le DNA-SSB ( $P = 0.001$ ,  $R = 0.371$ ). De façon étonnante, les concentrations dans l'air de cobalt sont encore plus corrélées ( $P < 0.001$ ,  $R = 0.401$ ), alors que les concentrations en plomb ne sont pas corrélées avec le DNA-SSB. L'analyse logistique de régression comprenant 11 paramètres d'influence possibles

cobalt were considered preferentially. All strategies resulted in the model described above. Logistic regression analysis considering also all possible interactions between the relevant parameters of influence finally resulted in the following model: \*Odds ratio = 1.286(Co in air) x 1.040(Cd in air) x 3.111(Cd in blood) x 0.861(Pb in air) x 1.023(Co in air x Pb in air). This model correctly predicts an increased level of DNA-SSB in 91% of the subjects in our study. One conclusion from this model is the existence of more than multiplicative effects for co-exposures of cadmium, cobalt and lead. For instance increasing lead air concentrations from 1.6 to 50 micro g/m(3) in the presence of constant exposures to cobalt and cadmium (8 micro g/m(3) and 3.8 micro g/m(3)) leads to an almost 5-fold increase in the odds ratio, although lead alone does not increase DNA-SSB. The mechanism behind these interactions might be repair inhibition of oxidative DNA damage, since a decrease in repair capacity will increase susceptibility to reactive oxygen species generated by cadmium or cobalt. Indeed, repair of 8-oxoguanine decreased with increasing exposures and inversely correlated with the level of DNA-SSB (P = 0.001, R = -0.427). Protein expression patterns of individuals exposed to cobalt concentrations of approximately 10 micro g/m(3) were compared with those of unexposed individuals using two-dimensional gel electrophoresis. Qualitative and apparent quantitative alterations in protein expression were selective and certainly occurred in <0.1% of all proteins. In conclusion, the hazard due to cobalt exposure - that has been classified only as IIB by the IARC - seems to be underestimated, especially when individuals are co-exposed to cadmium or lead. Co-exposure may cause genotoxic effects, even if the concentrations of individual heavy metals do not exceed TRK-values.

\*The odds ratio is a way of comparing whether the probability of a certain event is the same for two groups

montre que le cobalt dans l'air, le cadmium dans l'air, le cadmium dans le sang et le plomb dans le sang influencent le niveau de DNA-SSB. Le résultat positif avec du cobalt étonnait, puisque les niveaux d'exposition étaient nettement inférieurs comparés à la TRK (valeur limite d'exposition) de 100 micro g/m(3). Pour voir si le résultat positif avec du cobalt était stable, nous avons appliqué plusieurs modèles logistiques de régression avec deux blocs, où tous les facteurs excepté le cobalt étaient considérés préférentiellement. Toutes les stratégies ont eu comme conséquence le modèle décrit ci-dessous. L'analyse logistique de régression considérant également toutes les interactions possibles entre les paramètres d'influence significatifs a finalement eu comme conséquence le modèle suivant : \*Rapport de cotes = 1.286(Co en air) x 1.040(Cd en air) x 3.111(Cd dans le sang) x 0.861(Pb en air) x 1.023(Co en Pb de l'air X en air). Ce modèle prévoit correctement un plus grand niveau de DNA-SSB dans 91% des sujets dans notre étude. Une conclusion tirée de ce modèle est l'existence d'effets plus que multiplicatifs pour des co-expositions de cadmium, de cobalt et de plomb. Par exemple l'augmentation dans l'air des concentrations de 1.6 à 50 micro g/m(3) en présence d'expositions constantes au cobalt et au cadmium (8 microg/m(3) et 3.8 micro g/m(3)) mène à une augmentation de presque 5 fois du rapport de cotes, alors que seul, le plomb n'augmente pas les DNA-SSB. Le mécanisme derrière ces interactions pourrait être une inhibition de la réparation des dommages d'oxydation de l'ADN, puisqu'une diminution de la capacité de réparation augmentera la susceptibilité aux espèces réactives de l'oxygène produites par le cadmium ou le cobalt. En effet, la réparation de la 8-oxoguanine a diminué avec l'augmentation des expositions et s'est inversement corrélée avec le niveau de DNA-SSB (P = 0.001, R = -0.427). Des schémas d'expression de protéines des individus exposés aux concentrations en cobalt d'approximativement 10 microg/m(3) ont été comparés à ceux des individus non exposés en utilisant l'électrophorèse bidimensionnelle sur gel. Les changements quantitatifs et qualitatifs apparents de l'expression de protéine étaient sélectifs et apparaissaient de façon certaine dans < 0.1% de toutes les protéines. En conclusion, le risque dû à l'exposition au cobalt classifié seulement comme IIB par l'IARC - semble être sous-estimé, particulièrement quand les individus sont co-exposés

au cadmium ou au plomb. La co-exposition peut causer des effets génotoxiques, même si les concentrations de différents métaux lourds n'excèdent pas les valeurs limites d'exposition.

\*Rapport de cotes (Odds-ratio)

Si sur une population on observe un symptôme et une maladie, on calcule la cote de la maladie parmi les individus ayant le symptôme puis parmi ceux qui ne l'ont pas. Le quotient des deux est le rapport de cotes. S'il est proche de 1, la maladie est indépendante du symptôme, s'il est supérieur à 1, le symptôme est en faveur de la maladie.