



"Cross-Mediterranean Environment and Health Network (CROME)"

LIFE12 ENV/GR/001040

Task Technical Report



Δια – Μεσογειακό Δίκτυο για το Περιβάλλον και την Υγεία

CROME-LIFE

Παραδοτέο: B6.1

Συστάσεις για τους υπεύθυνους χάραξης πολιτικής

**LIFE ENVIRONMENT PROGRAMME
LIFE12 ENV/GR/001040**

Δράση: B.6

ΠΑΚΕΤΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ: 6.1

Ημερομηνία Αναφοράς: 31/12/2016

<http://www.crome-life.eu>



Βιβλιογραφική Πληροφόρηση

Πρόγραμμα: Δια – Μεσογειακό Δίκτυο για το Περιβάλλον και την Υγεία – CROME-LIFE

Θέμα: Συστάσεις για τους υπεύθυνους χάραξης πολιτικής

LIFE ENVIRONMENT PROGRAMME

Αρ. Σύμβασης: **LIFE12 ENV/GR/001040**

Διάρκεια Σύμβασης: 01/07/2013 - 31/12/2016

ΔΡΑΣΗ: Β.6 – Δημιουργία οδηγιών

ΠΑΚΕΤΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ: 6.1 – Δημιουργία οδηγιών

Συνεργάτης Σύνταξης: ISS

Άλλοι Συνεργάτες: AUTH, CSIC, JSI

Ημερομηνία Αναφοράς: 31/12/2016

Σελίδες: 42 (συμπεριλαμβανομένων εικόνων, πινάκων, συνημμένων, αναφορών)

Λέξεις Κλειδιά: συστάσεις για τους υπεύθυνους χάραξης πολιτικής, κενά δεδομένων, μετάφραση δεδομένων, ανθρώπινη βιοπαρακολούθηση

Άτομο Επικοινωνίας – Συνεργάτης Σύνταξης Συγγραφείς – Συνεργάτης Σύνταξης

Όνομα: Dott.sa Gemma Calamandrei

Τηλ: +39 06 49902106

Fax:

e-mail: gemma.calamandrei@iss.it

Όνομα:

Τηλ:

Fax:

e-mail:

CROME-LIFE web site:

<http://www.crome-life.eu>



Task Technical Report

Περιεχόμενα

Σύνοψη	4
Περιγραφή των ακολουθούμενων πρωτόκολλων και των συναντούμενων δυσκολιών κατά την εφαρμογή των εθνικών μελετών	4
Ελλάδα	4
Ιταλία	7
Σλοβενία	13
Ισπανία	15
Υπάρχουσες πληροφορίες και κενά που καλύφθηκαν	20
Ελλάδα	20
Ιταλία	21
Σλοβενία	23
Ισπανία	25
Ανάλυση των αποτελεσμάτων και των συστάσεων για τις απαντήσεις χάραξης πολιτικής	28
Συστάσεις ειδικές ανά χώρα	28
Γενικές μεθοδολογικές συστάσεις	35
Συστάσεις σχετικά με τον βέλτιστο τρόπο χρήσης των διαθέσιμων μετρήσεων	35
Συμπεράσματα	39
Συνολική σύνοψη της συγκεκριμένης χώρας και των μεθοδολογικών συστάσεων που παρουσιάστηκαν παραπάνω	39
Βιβλιογραφία	40



Task Technical Report

Σύνοψη

Η συγκεκριμένη έκθεση αναφοράς αφορούσε τη δημιουργία οδηγιών για την παραγωγή και τη γενικευμένη εφαρμογή της μεθοδολογίας CROME-LIFE που προτάθηκε και εφαρμόστηκε σε διάφορες μελέτες περίπτωσης στις χώρες που παρουσιάστηκε σύμφωνα με το έργο. Εμπειρέχει συστάσεις για τη δειγματοληψία από το περιβάλλον και την ανθρώπινη βιοπαρακολούθηση, την επεξεργασία των δεδομένων, τη στατιστική ανάλυσή τους, καθώς και το έγγραφο αναφοράς μαζί με τις αρχικές συστάσεις για την απάντηση πολιτικής σε Ευρωπαϊκό, Εθνικό και Περιφερειακό επίπεδο. Η δημιουργία οδηγιών θα διευκολυνθεί από μία ήδη στενά καθορισμένη συνεργασία με τις ομάδες του COPHES και DEMOCOPHES.

Η έκθεση αναφοράς δομήθηκε προς τρεις βασικές κατευθύνσεις: η πρώτη παρέχει μία επισκόπηση των πρωτόκολλων που χρησιμοποιήθηκαν μαζί με τις μεγαλύτερες δυσκολίες που αντιμετωπίστηκαν κατά την εκτέλεση των μελετών περίπτωσης του έργου, ενώ η δεύτερη συνοψίζει τα διαθέσιμα δεδομένα μαζί με τα κυριότερα κενά δεδομένων που διαπιστώθηκαν. Βασικό στοιχείο στις δύο κατευθύνσεις, η τρίτη ανακεφαλαιώνει τα σημαντικότερα ευρήματα και τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εφαρμογή της μεθοδολογίας που αναπτύχθηκε, προτείνοντας συστάσεις για την απάντηση πολιτικής σε Ευρωπαϊκό, Εθνικό και Περιφερειακό επίπεδο. Οι συστάσεις που προτάθηκαν περιλαμβάνουν προτάσεις για τη βέλτιστη χρήση των διαθέσιμων μετρήσεων, για εν δυνάμει χρήση μετρήσεων όταν κενά δεδομένων εντοπιστούν, καθώς και για εν δυνάμει χρήση στατιστικών μεθόδων για βέλτιστη μετάφραση περιβαλλοντικών δεδομένων και δεδομένων βιοδεικτών.

Περιγραφή των ακολουθούμενων πρωτόκολλων και των συναντώμενων δυσκολιών κατά την εφαρμογή των εθνικών μελετών

Ελλάδα

Οινόφυτα – Cr(VI)

Προσλήφθηκαν πενήντα (50) άτομα με ηλικιακή διασπαστικότητα (4 ως 65 ετών) ώστε να αξιολογηθούν οι τρέχουσες και οι παρελθούσες αθροιστικές εκθέσεις στο Cr. Για τον συγκεκριμένο σκοπό, πάρθηκαν τόσο δείγματα ούρων όσο και τριχών. Ο πληθυσμός κάλυπτε την ευρύτερη λεκάνη του Ασωπού, αντικατοπτρίζοντας την ποικιλομορφία εκθέσεων σχετικών με τα διαφορετικά επίπεδα Cr που δειγματολήφθηκαν κατά τις περιβαλλοντικές καμπάνιες που προαναφέρθηκαν. Τα δείγματα τριχών συλλέχθηκαν από την ινιακή περιοχή του κεφαλιού. Τα δείγματα τρίχας ελήφθησαν χρησιμοποιώντας ψαλίδια από ανοξείδωτο χάλυβα από τον αυχένα του λαιμού. Τα δείγματα τριχών τμηματίστηκαν σε κομμάτια μήκους περίπου 0,5 cm και αναμίχθηκαν προκειμένου να σχηματιστεί ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα τριχών.

Η αναλυτική μέθοδος στηρίχθηκε σε αυτήν που περιγράφηκε από Afridi et al (2006), κατά την οποία βιολογικά δείγματα επιλέχθηκαν από ένα σύνολο 56 εργαζόμενων μακράς έκθεσης στην παραγωγή χάλυβα (PW), 35 εργαζόμενων στον ποιοτικό έλεγχο (QCW) και 75 μη εκτεθειμένους ως κανονικούς μάρτυρες (normal controls) (όλοι άνδρες ηλικίας 25 ως 55 ετών). Ως εκ τούτου, το διάλυμα εργασίας του Cr παρασκευάστηκε από πιστοποιημένα πρότυπα διαλύματα όλων των υπό ανάλυση ουσιών που εξετάστηκαν σε 2M νιτρικό οξύ. Όλα τα διαλύματα αποθηκεύτηκαν στους 4°C. Στην περίπτωση του κάθε ατόμου, το δείγμα του τριχωτού κεφαλής πλύθηκε με μίγμα διαιθυλαιθέρα-ακετόνης (3+1), μη-ιονικό διάλυμα απορρυπαντικού (απεσταγμένο νερό) και πολύ καθαρό νερό, αντίστοιχα. Μετά από έκπλυση, τα δείγματα των μαλλιών ξηράθηκαν στους 80°C για 6 ώρες. Τα δείγματα μαλλιών για κάθε συμμετέχοντα τοποθετήθηκαν σε ξεχωριστούς πλαστικούς φακέλους, που υποδείκνυαν τον αριθμό αναγνώρισης (ID) του συμμετέχοντα. Διπλασιάστηκαν 0,5 mL εκάστου πιστοποιημένου δείγματος ούρων, ενώ 0,2 γρ δείγματα ανθρώπινων τριχών BCR 397, τοποθετήθηκαν σε φιάλες Pyrex των 50 mL. Σε κάθε φιάλη προστίθεται ένας



Task Technical Report

όγκος 5 ml ενός προσφάτως παρασκευασθέντος μίγματος συμπυκνωμένου $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ (2:1, ο/ο) και τα διαλύματα θα θερμανθούν σε μια ηλεκτρική θερμή πλάκα στους 80°C για 2-3 h, μέχρις ότου επιτυγχάνονται τα διαυγή διαφανή προϊόντα της πέψης. Τα τελικά διαλύματα συμπληρώθηκαν έως 10 mL με 2M HNO_3 . Τα τελικά διαλύματα συλλέχθηκαν σε φιάλη πολυαιθυλενίου για προσδιορισμούς Cr με ETAAS. Πραγματοποιήθηκαν τυφλές (blank) πέψεις. Διπλά δείγματα QCW, PW και κανονικών ελέγχων υποβλήθηκαν σε επεξεργασία όπως περιγράφεται παραπάνω. Η βαθμονόμηση επαληθεύθηκε περιοδικά με ανάλυση του προτύπου στη συχνότητα των 10 μετρήσεων. Διεξήχθη μια διαδικασία πέψης με υποβοήθηση μικροκυμάτων προκειμένου να επιτευχθεί μικρότερος χρόνος πέψης. Για την πέψη βιολογικών δειγμάτων, τα διπλά δείγματα αποξηραμένων μαλλιών τριχωτού της κεφαλής (200 mg) τρία αντίγραφα δείγματος CRM 397, ζυγίστηκαν απευθείας σε δοχεία πέψης Teflon PPA, στα οποία προστέθηκαν 2 mL HNO_3 και 1 mL 30% H_2O_2 και αφέθηκαν να σταθούν για 10 λεπτά, κατόπιν τα δοχεία σφραγίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε αντιδραστήρα PTFE. Αυτός στη συνέχεια θερμάνθηκε μετά από ένα πρόγραμμα πέψης ενός σταδίου (250 W, 15 λεπτά για δείγματα τρίχας). Μετά από ψύξη των δοχείων πέψης σε λουτρό πάγου για 20 λεπτά πριν από το άνοιγμα, το προκύπτον διάλυμα εξατμίστηκε σχεδόν μέχρι ξηρού για να απομακρυνθεί η περίσσεια οξέος και στην συνέχεια αραιώθηκε στα 10,0 mL σε ογκομετρικές φιάλες με 2M HNO_3 . Τυφλές εκχυλίσσεις (χωρίς δείγμα) πραγματοποιήθηκαν μέσω της πλήρους διαδικασίας και των δύο μεθόδων. Οι συγκεντρώσεις ελήφθησαν απευθείας από γραφήματα βαθμονόμησης μετά από διόρθωση της απορρόφησης για το σήμα από ένα κατάλληλο τυφλό αντιδραστήριο.

Η μεθοδολογία για την ανίχνευση του Cr σε δείγματα ούρων βασίστηκε σε αυτή που προτάθηκε από τους Scheepers et al. (2008). Τα σημειακά δείγματα ούρων αποθηκεύτηκαν στους 4°C στο σκοτάδι και μεταφέρθηκαν σε εργαστήριο για περαιτέρω αποθήκευση στους -18°C . Η ανάλυση του Cr εκτελείται σύμφωνα με τους Lewalter, Korallus et al. (1985). Τα ούρα αραιώθηκαν με ένα διάλυμα νιτρικού μαγνησίου με Triton-X και θειικό οξύ (τροποποιητής μήτρας). Τα επίπεδα Cr μετρήθηκαν στα 357,9nm χρησιμοποιώντας ηλεκτρο-θερμική φασματομετρία ατομικής απορρόφησης, AAS (Solaar M, Thermo Analytical) με διόρθωση υποβάθρου Zeeman. Το LOQ ήταν 0,05 $\mu\text{g/L}$ ούρων και ο συντελεστής διακύμανσης ήταν 5,4% στα 0,31 $\mu\text{g/L}$.

Ασπρόπυργος – PCDDs/PCDFs

Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν από 60 άτομα ηλικίας 6 έως 58 ετών, τα οποία ζούσαν κοντά στην εγκατάσταση ανακύκλωσης. Περίπου 50-80 ml αίματος συλλέχθηκαν από κάθε άτομο. Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν σε αποδέκτες πολυαιθυλενίου. Αμέσως μετά τη δειγματοληψία, δείγματα αίματος υποβλήθηκαν σε επεξεργασία για διαχωρισμό ορού, καταψύχθηκαν αμέσως μετά το διαχωρισμό και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο για τη μέτρηση των PCDDs /PCDFs. Τα δείγματα ορού αίματος παρέμειναν κατεψυγμένα μέχρις ότου αναλύθηκαν σε θερμοκρασία -80°C .

Όλοι οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν για ανάλυση υπολειμμάτων της τάξης των picograde και αγοράστηκαν από την Promochem (Γερμανία). Τα ισομερή για την παρασκευή των διαλυμάτων εσωτερικού προτύπου 13C12 αγοράστηκαν από Wellington Laboratories (Canada). Το καρβοσφαιρίδιο 80-100 mesh αγοράστηκε από την Alltech (καθαρίστηκε με έκλυση με μεθανόλη και κατά συνέπεια με τολουόλιο για αρκετές εβδομάδες πριν από τη χρήση). Η αλουμίνα ήταν η Basic activity Super 1 για ανάλυση διοξινών, MP Biochemicals GmbH. Το θειικό οξύ εμποτισμένο με γέλη πυριτίου (silica gel) παρασκευάστηκε ως εξής: Silica gel (100 g, 60-200 mesh, Merck) ενεργοποιήθηκε σε κλίβανο στους 200°C για τουλάχιστον 2 ημέρες και κατόπιν αναμίχθηκε με πυκνό θειικό οξύ (44 ml).

Τα δείγματα ορού αίματος υποβλήθηκαν σε διαδικασία εκχύλισης υγρού-υγρού αποτελούμενη από ανάμιξη με οξαλικό νάτριο και μεθανόλη, ακολουθούμενα από στάδια εκχύλισης με συνδυασμό διαιθυλαιθέρα-πετρελαϊκού αιθέρα. Η οργανική στιβάδα αυτής της εκχύλισης εξατμίστηκε και το



Task Technical Report

υπόλειμμα λιπιδίου ξηράθηκε και ζυγίστηκε για να υπολογιστούν τα επίπεδα των λιπιδίων στον ορό και το μητρικό γάλα.

Τα επισημασμένα πρότυπα ποσοτικού προσδιορισμού προστέθηκαν σε κάθε δείγμα πριν από την εκχύλιση. Πρόκειται για διαλύματα τολουολίου που περιέχουν ένα μείγμα των 13C12 ισομερών όλων των 17 ομοειδών PCDDs /PCDFs, εκτός από το OCDF.

Η ποσοτικοποίηση των PCDDs / PCDFs πραγματοποιήθηκε με HRGC-HRMS (EI) σε λειτουργία MID σε αέριο χρωματογράφο Trace GC (ThermoFinnigan) συζευγμένο με ένα φασματόμετρο μάζας MAT-95 XP (ThermoFinnigan) εξοπλισμένο με αυτόματο δειγματολήπτη CTC A 200S στις 10.000 διαχωριστική ικανότητα (10% ορισμός κοιλιάδας). Οι συνθήκες οργάνου και τα κριτήρια ελέγχου της καθαρότητας ήταν σύμφωνα με τις μεθόδους EPA 1613B και EPA 1668A. Η ποσοτικοποίηση της συγκέντρωσης και της ανάκτησης πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της ισοτοπικής αραιώσης. Το όριο ανίχνευσης (LOD) για κάθε ομοειδές προσδιορίστηκε ως η συγκέντρωση στο εκχύλισμα που παρήγαγε μια απόκριση του οργάνου σε δύο διαφορετικά ιόντα που παρακολουθούνται με λόγο σήματος προς θόρυβο ίσο με 3:1 για το λιγότερο ευαίσθητο σήμα. Για τους υπολογισμούς TEQ χρησιμοποιήθηκαν οι ισοδύναμοι παράγοντες τοξικότητας (TEF) WHO-98 (Van den Berg et al., 1994).

Θεσσαλονίκη – PM-PAHs

Περιβαλλοντικά δεδομένα

Λαμβάνοντας υπόψη ότι, υπάρχουν πολλά δεδομένα σχετικά με τη μέση ημερήσια έκθεση σε PM και PAHs στην περιοχή της Θεσσαλονίκης, είναι ιδιαίτερο ενδιαφέρον να προσδιοριστεί η ημερήσια μεταβλητότητα του ατμοσφαιρικού αέρα και του αέρα εσωτερικού χώρου στους PM και να συνδεθεί με συγκεκριμένες δραστηριότητες. Αυτό θα μας επιτρέψει να βελτιώσουμε περαιτέρω τις εκτιμήσεις έκθεσης για τις διάφορες ομάδες και ενδεχομένως, τις εκτιμήσεις κινδύνου καρκίνου του πνεύμονα που σχετίζονται με την έκθεση σε PAHs.

Για το λόγο αυτό, η δυναμική των μετρήσεων στο χρόνο των PM (παράλληλα με τον υπάρχοντα εξοπλισμό για τη βαρυμετρική δειγματοληψία των PM και τη χημική ανάλυση) παρακολουθούνταν συνεχώς κατά τη διάρκεια της ψυχρής περιόδου των ετών 2014-2015 και 2015-2016 χρησιμοποιώντας το Μίνι Laser Αεροζόλ Φασματοφωτόμετρο (Mini-LAS). Όσον αφορά τις υπαίθριες μετρήσεις, οι δειγματολήπτες PM10 και PM2.5 εγκαταστάθηκαν σε ύψος 3,5μ. πάνω από το έδαφος, ο ένας σε σημείο κυκλοφοριακής συμφόρησης και ο άλλος σε ένα σημείο αστικού υπόβαθρου. Ο χώρος της κυκλοφορίας περιβάλλεται από διάφορους δρόμους με τυπικά επίπεδα αυξημένης κυκλοφορίας στην πόλη και η τοποθεσία του υπόβαθρου εντοπίζεται σε αστικό περιβάλλον χωρίς άμεσες εκπομπές ρύπων. Οι μετρήσεις διήρκεσαν για 2,5 μήνες, καλύπτοντας τη μετάβαση από τη θερμή στην ψυχρή περίοδο (μέσες ημερήσιες θερμοκρασίες 23 και 4°C αντίστοιχα).

Παράλληλες μετρήσεις της ποιότητας του αέρα εσωτερικού χώρου (για τα σωματίδια PM10 και PM2,5) διεξήχθησαν σε 30 κατοικίες που βρίσκονται κοντά στην κυκλοφορία και τον σταθμό αστικού υπόβαθρου αντίστοιχα για την επαλήθευση των εκτιμήσεων INTERA. Προκειμένου να προσδιοριστεί η συμβολή της καύσης βιομάζας στην ποιότητα του εσωτερικού αέρα, πραγματοποιήθηκαν στοχευμένες μετρήσεις για την επίδραση της λειτουργίας ανοικτών τζακιών σε συγκεντρώσεις PM σε επιλεγμένη εσωτερική θέση και υπό ελεγχόμενες συνθήκες εναλλαγής αέρα (AER). Συγκεκριμένα, σε ένα διαμέρισμα τρίτου ορόφου 140 m², εκτελέστηκαν εκτεταμένες μετρήσεις των σωματιδίων PM10 και PM2.5, ενώ για τη μέτρηση της χρονικής μεταβολής του αριθμού των σωματιδίων και της συγκέντρωσης μάζας χρησιμοποιήθηκε ένας μετρητής αριθμού σωματιδίων.

Μετεωρολογικά δεδομένα που απαιτούνται για τη μελέτη, παρήχθησαν από τον τοπικό μετεωρολογικό σταθμό από το σημείο της κυκλοφορίας.



Task Technical Report

Τα δείγματα PM_{2.5} και PM₁₀ συλλέχθηκαν χρησιμοποιώντας 6 δειγματολήπτες χαμηλής ροής αέρα (ENCO PM, TCR TECORA, Ιταλία). Οι δειγματολήπτες χρησιμοποιήσαν κεφαλές δειγματοληψίας σύμφωνα με τα πρότυπα EN 12341 (PM₁₀) και EN 14907 (PM_{2.5}) και λειτουργούσαν με ρυθμό ροής 38 L/min, με χρόνο συλλογής 24 ώρες ανά δείγμα. Τα δείγματα συλλέχθηκαν σε φίλτρα με μεμβράνες PTFE με δακτύλιο υποστήριξης PMP (PALL Life Sciences, Ø 47 mm, μέγεθος πόρου 2 μm, ΗΠΑ). Τα φίλτρα τεφλόν αναλύθηκαν σταθμικά για τις συγκεντρώσεις μάζας σωματιδίων χρησιμοποιώντας ηλεκτρονικό μικροζυγό με ευαισθησία ± 1 μg μετά από εξισορρόπηση 24 ωρών σε θερμοκρασία μεταξύ 20°C και 23°C και σχετική υγρασία (RH) μεταξύ 30 και 40%. Κάθε φίλτρο ζυγίστηκε τουλάχιστον τρεις φορές πριν και μετά τη δειγματοληψία και η καθαρή μάζα αποκτήθηκε αφαιρώντας το μέσο όρο των βαρών πριν από τη δειγματοληψία από το μέσο όρο των βαρών μετά τη δειγματοληψία. Οι διαφορές μεταξύ των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων ήταν <5 μg για τα τυφλά και τα δείγματα. Πριν από την έναρξη της εκστρατείας δειγματοληψίας, ο ρυθμός ροής των δειγματοληπτών PM_{2.5} και PM₁₀ βαθμονομήθηκε. Τα τυφλά φίλτρα πεδίου συλλέχθηκαν επίσης και χρησιμοποιήθηκαν για να διορθώσουν τις συγκεντρώσεις του υπόβαθρου ή τις επιδράσεις από το χειρισμό και τη μεταφορά.

Οι ίδιοι δειγματολήπτες 24 ωρών δειγματοληψίας των PM₁₀ και PM_{2.5}, τοποθετήθηκαν και εντός 30 εσωτερικών χώρων, με και χωρίς τη λειτουργία τζακιού. Πέρα από αυτά, τα σωματίδια παρακολουθούνταν επίσης με χειροκίνητο, φορητό μετρητή σωματιδίων (Lasair II, μοντέλο 525, Σύστημα Μέτρησης Σωματιδίων). Μια ενσωματωμένη αντλία αντλεί δείγμα αερολύματος μέσω του οργάνου με παροχή 0,01425 m³/min. Τα προκύπτοντα σταγονίδια μετριούνται από ένα λέιζερ διόδου, 780nm. Το Lasair II επιτρέπει μετρήσεις συγκέντρωσης αριθμού σωματιδίων των τάξεων μεγέθους 0.5-0.7μm, 0.7-1.0μm, 1.0-5.0μm, 5.0-10.0μm, 10-25μm και pm πάνω από 25.0μm. Το Lasair II έχει χρησιμοποιηθεί σε εσωτερικές μετρήσεις με ή χωρίς τζάκι. Οι συγκεντρώσεις αριθμού σωματιδίων μετασχηματίστηκαν σε συγκέντρωση μάζας χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο:

$$C_{(\mu\text{g}/\text{m}^3)} = \frac{\text{PNC} \cdot d \cdot (D_{\text{median}})^3 \cdot \pi}{6}$$

Όπου **PNC** είναι η συγκέντρωση του αριθμού σωματιδίων για το δεδομένο εύρος διαμέτρου σωματιδίων, το **d** είναι η πυκνότητα των σωματιδίων, που λαμβάνεται ίση με 1 g/cm³ και η D_{median} είναι η μέση διάμετρος για την επιλεγμένη κατηγορία σωματιδίων.

Ιταλία

Η δια-Μεσογειακή μελέτη CROME

Τεργέστη – Μέταλλα και νευροψυχολογική έκβαση σε παιδιά ηλικίας 7 ετών

Στο πλαίσιο της κοινής μελέτης CROME, η ομάδα ISS, σε συνεργασία με το Παιδιατρικό Νοσοκομείο Burlo Garofolo στην Τεργέστη, πραγματοποίησε μελέτη παρακολούθησης στην ηλικία των 7 ετών των 200 παιδιών που γεννήθηκαν στην αρχική κοορτή NAC II PHIME, με έδρα το Friuli Venezia Giulia της Ιταλίας το 2007. Τα δεδομένα σχετικά με την περι-γεννητική έκθεση σε μέταλλα και μεταλλοειδή, τον τρόπο ζωής και την υγεία της μητέρας, τους κοινωνικοοικονομικούς παράγοντες και τα νευροψυχολογικά μέτρα στους 18 και 40 μήνες είναι διαθέσιμα για αυτή την ομάδα. Σε ηλικία 7 ετών, τα μαλλιά του παιδιού, τα ούρα του παιδιού και το δείγμα σάλιου τόσο της μητέρας όσο και του παιδιού (Oragene kit αυτο-συλλογής DNA) συλλέχθηκαν τη στιγμή της συνάντησης. Οι μητέρες ολοκλήρωσαν ένα νέο ερωτηματολόγιο για την ενημέρωση των πληροφοριών σχετικά με τους παράγοντες του τρόπου ζωής. Τα παιδιά υποβλήθηκαν σε νευροψυχολογικές εξετάσεις από εκπαιδευμένους νευροψυχολόγους. Οι νευροψυχολογικές δοκιμασίες



Task Technical Report

που χρησιμοποιήθηκαν περιλάμβαναν Wisc-IV (Wechsler Intelligence Scale for Children), Nepsy-II για την αξιολόγηση της αισθητικοκινητικής, προσοχής, ικανότητες μάθησης, MT για την αξιολόγηση δεξιοτήτων ανάγνωσης, BVSCO2 για πλήρη αξιολόγηση των δεξιοτήτων γραφής, CBCL (Child Behaviour Check List) – για τον εντοπισμό συμπεριφορικών και συναισθηματικών προβλημάτων στα παιδιά.

Αναλυτικότερα, 201 μητέρες συμπλήρωσαν ερωτηματολόγια για να λάβουν πληροφορίες σχετικά με τις διατροφικές συνήθειες του παιδιού και της οικογένειας, τις κοινωνικοοικονομικές μεταβλητές, τον τρόπο ζωής, την επαγγελματική /οικιακή έκθεση και την κατανάλωση ψαριών. Οι μητέρες υποβλήθηκαν επίσης στο τεστ PSI (Parental Stress Index) για να αξιολογηθεί η αλληλεπίδραση της ψυχολογικής κατάστασης της μητέρας με άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Το PSI έχει σχεδιαστεί ειδικά για την έγκαιρη ανίχνευση εκείνων των χαρακτηριστικών που μπορεί να επηρεάσουν την κανονική ανάπτυξη και λειτουργία του παιδιού και επιτρέπει τον εντοπισμό των παιδιών με συναισθηματικές και συμπεριφορικές διαταραχές και των γονιών που διατρέχουν κίνδυνο να ζουν σε δυσλειτουργικό γονικό ρόλο (Guarino, Blasio κ.ά., 2008).

Κάθε παιδί υποβλήθηκε σε νευροψυχολογική εξέταση από εμπειρογνώμονες νευροψυχολόγους στις εγκαταστάσεις του Παιδιατρικού Νοσοκομείου Burlo Garofolo στην Τεργέστη. Η αξιολόγηση διήρκεσε περίπου τέσσερις ώρες για κάθε παιδί και συμπεριλάμβανε τις ακόλουθες εξετάσεις:

- A. Wisc-IV (Κλίμακα Ευφυΐας για τα Παιδιά κατά Wechsler) παράγει ένα σκορ IQ που αντιπροσωπεύει τη γενική γνωστική ικανότητα του παιδιού.
- B. Το Nepsy-II είναι ειδικό για την αξιολόγηση του αισθητικοκινητικής, της προσοχής, των δυνατοτήτων μάθησης
- C. MT για την αξιολόγηση δεξιοτήτων ανάγνωσης
- D. BVSCO2 για πλήρη αξιολόγηση των δεξιοτήτων γραφής
- E. CBCL – Λίστα Ελέγχου Συμπεριφοράς των Παιδιών – εντοπίζει συμπεριφορικά και συναισθηματικά προβλήματα στα παιδιά (έλλειψη προσοχής, υπερκινητική διαταραχή, αντιδραστική διαταραχή, διαταραχή της συμπεριφοράς, κατάθλιψη κατά την παιδική ηλικία, αγχώδης διαταραχή, παιδική φοβία κλπ.).

Μια αβεβαιότητα αυτής της μελέτης ήταν η απουσία μιας επικυρωμένης αναλυτικής μεθόδου που θα χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του αρσενικού (As) σε μόνο μία κατάσταση σθένους, εκτός του συνολικού As. Για να καλυφθεί αυτό το κενό, χρησιμοποιήσαμε μια ανάλυση συσχετισμού βασισμένη στην Ιοντική Χρωματογραφία σε συνδυασμό με την ICP-MS για τον προσδιορισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό έξι διαφορετικών ειδών As στα 200 παιδιά: τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η υψηλή σχετική συγκέντρωση του οργανικού As (κυρίως ως AsBet) φανέρωνε ότι η κύρια οδός έκθεσης στα παιδιά ήταν τα θαλασσινά. Επομένως, υψηλές συγκεντρώσεις του συνολικού As (που περιλαμβάνει επίσης οργανικό As) δεν δείχνουν απαραίτητα αυξημένη έκθεση σε iAs, η οποία είναι η τοξική μορφή.

Πρόσθετη πηγή αβεβαιότητας είναι τα δεδομένα συμπεριφοράς και διατροφής που βασίζονται στο ερωτηματολόγιο. Οι αβεβαιότητες που προκύπτουν από εξωτερική έκθεση δεδομένων επιτρέπουν μόνο προσεγγιστικές εκτιμήσεις των προτύπων έκθεσης, αλλά αποτελούν σημαντική ένδειξη για περαιτέρω έρευνες.

Ένας περιορισμός της κοινής μελέτης CROME, πρέπει να σημειωθεί ότι η παρακολούθηση έχει προκαλέσει μεροληπτική επιλογή, καθώς είναι γνωστό ότι η πιθανότητα απώλειας παρακολούθησης σχετίζεται με την κατάσταση του αποτελέσματος και την κατάσταση έκθεσης. Οι οικογένειες με χαμηλότερη κοινωνικοοικονομική κατάσταση είναι πιο πιθανό να βγουν από μια διαχρονική μελέτη. Έτσι, το δείγμα μας είναι αντιπροσωπευτικό των πιο μορφωμένων και υγιών οικογενειών, γεγονός που μπορεί να τροποποιήσει την ποιότητα και την ποσότητα των περιβαλλοντικών παραγόντων που εκτίθενται ένα παιδί.

Χημικές αναλύσεις



Task Technical Report

Οι χημικές αναλύσεις βιολογικών δειγμάτων που συλλέχθηκαν μετά από νευροψυχολογική αξιολόγηση βασίζονταν σε μετρήσεις της συγκέντρωσης των πέντε μετάλλων που αναφέρθηκαν ως αναπτυξιακά νευροτοξικά (υδράργυρος, μόλυβδος, μαγγάνιο, κάδμιο, αρσενικό) είτε στα μαλλιά ή τα ούρα.

Μαλλιά: Μαγγάνιο (Mn) και υδράργυρος (Hg) αναλύθηκαν σε 200 δείγματα ανθρώπινων τριχών, συλλέχθηκαν σε πλαστικές σακούλες και αποθηκεύτηκαν σε ξηραντήριο μέχρι την ανάλυση. Πριν από την ανάλυση, τα δείγματα μαλλιών, που τοποθετήθηκαν σε φούρνους υάλου, απολυμάνθηκαν εύκολα σε HNO₃, επεξεργάστηκαν ως εξής: (i) τρεις κύκλοι εκπλύσεων υπό συνεχή ανάδευση για 30 λεπτά το καθένα σε μίγμα 3:1 (ο/ο) αιθυλαιθέρα-ακετόνη (Sigma-Aldrich, St.Louis, MS, USA) για την απομάκρυνση της σμηγματογόνου μεμβράνης από τα μαλλιά, μετά από κάθε κύκλο τα δείγματα τριχών πλύθηκαν με απιονισμένο νερό υψηλής καθαρότητας (EASY-pure UV, PBI, Milan, Italy) (ii) πλύση υπό ανάδευση για 1 ώρα σε 5% αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ νατρίου (EDTA) (Sigma-Aldrich, USA) για τη δέσμευση των χημικών στοιχείων που υπάρχουν στην επιφάνεια της τρίχας και (iii) επαναλαμβανόμενου ξεπλύματος με απιονισμένο νερό υψηλής καθαρότητας (EASY-pure UV, PBI, Μιλάνο, Ιταλία). Μετά από ξήρανση σε φούρνο επί 16 ώρες στους 85°C, ζυγίστηκαν περίπου 0,25g μαλλιών από κάθε δείγμα. Ένας κύκλος ανοργανοποίησης σε πλάκα ModBlock (ModBlock CPI International, Santa Rosa, CA, ΗΠΑ) με 4 κ.εκ. HNO₃ στους 60-70°C και 1 κ.εκ. H₂O₂ προστέθηκε σε περίπου μισή ώρα από το τέλος. Οι ποσοτικοποιήσεις Mn και Hg πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας φασματομετρία μάζας επαγωγικώς συζευγμένου πλάσματος (iCAP Qs ICP-MS, Thermo-Fisher, Bremen, Germany). Η παραμετροποίηση του οργάνου και οι παράμετροι λειτουργίας παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Το iCAP Qs ICP-MS που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή τη μελέτη εξοπλίστηκε με έναν εκνεφωτή PFA ST MicroFlow (ESI, Omaha, NB, USA), ένα θάλαμο ψεκασμού ψυχρού χαλαζία Peltier (λειτουργίας στους 3°C), έναν ID εγχυτήρα ζαφειριού 2.0 mm και έναν φακό χαλαζία με δειγματολήπτη Ni και κώνους skimmer.

Πίνακας 1. Διαμόρφωση οργάνου

Ισχύς RF	1550 w
Ροή αερίου Αργού (L/min)	Πλάσμα 14, Βοηθητικό 0.8, Νεφελοποιητής 1.08
Αέριο σύγκρουσης κυττάρων	He στα 4.2 mL/min
Φράγμα KED	2 V
Αναλυτικές παράμετροι	Χρόνος παραμονής 80ms ανά κορυφή, 50 σαρώσεις, 3 επαναλήψεις
Αναλυτικές μάζες	55Mn, 202Hg
Εσωτερικό πρότυπο	115In

Ούρα: Συλλέχθηκαν δείγματα ούρων (περίπου 100mL) σε δοχεία πολυαιθυλενίου και αποθηκεύτηκαν στους -20°C μέχρι την ανάλυση. Τα δοχεία προηγουμένως απομονώθηκαν με αραιωμένο (10% ο/ο) απόλυτης καθαρότητας HNO₃ (Normatom, Leuven, Βέλγιο) και ξεπλύθηκαν με απιονισμένο νερό υψηλής καθαρότητας (Barnstead EASY-Pure II, Dubuque, IA, USA). Τα ούρα αναλύθηκαν με εσωτερικά – επικυρωμένη (in-house validated) μέθοδο, η οποία είχε προηγουμένως διαπιστευθεί από τον Ιταλικό φορέα διαπίστευσης (ACCREDIA). Τα δείγματα ούρων αραιώθηκαν 1:5 (ο/ο) με απιονισμένο νερό υψηλής καθαρότητας πριν από τον ποσοτικό προσδιορισμό του μετάλλου. Τα μέταλλα μετρήθηκαν με φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος πεδίου (SF-ICP-MS, Element 2, Thermo Fischer, Βρέμη, Γερμανία) που λειτουργεί σε κατάσταση χαμηλής ανάλυσης (LR, m/Δm = 300) για μη παρεμβαλλόμενα μέταλλα: 114Cd, 202Hg, 208Pb, σε κατάσταση μέσης ανάλυσης (MR, m/Δm = 4000) για παρεμβαλλόμενο μέταλλο: 55Mn, σε λειτουργία υψηλής ανάλυσης (HR, m/Δm = 10.000) για τα βαριά



Task Technical Report

παρεμβαλλόμενα μέταλλα: 75As και 82Se. Το όργανο ήταν εξοπλισμένο με δειγματολήπτη Ni και κώνους skimmer, έναν εκνεφωτή Meinhard, έναν ψύκτη ψεκασμού κρούου νερού (τύπου Scott) και μια συσκευή ηλεκτροδίου προστασίας. Η βαθμονόμηση αντιστοιχούσα σε μήτρα σε συνδυασμό με την εσωτερική τυποποίηση με 115In και 69Ga (1 ng/mL στα αναλυτικά διαλύματα) παρέχει μια ικανοποιητική μέθοδο για την αντιστάθμιση οποιονδήποτε αποτελεσμάτων υπολειμματικής μήτρας και για την ελαχιστοποίηση των ολισθήσεων των οργάνων. Για τη δοκιμή της ακρίβειας της αναλυτικής διαδικασίας χρησιμοποιήθηκαν δύο πιστοποιημένα υλικά αναφοράς λυοφιλοποιημένων ανθρώπινων ούρων: Seronorm (Sero AS, Billingstad, Νορβηγία) και ClinCheck (Recipe, Μόναχο, Γερμανία).

Στατιστική

Οι κύριες εκθέσεις ενδιαφέροντος ήταν τα επίπεδα μετάλλων στο αίμα (Hg, Mn, Pb, Cd, As) και τα μαλλιά (Hg, Mn) παιδιών ηλικίας 7 ετών. Όπως και στην αρχική μελέτη PHIME, η πρόσληψη ψαριών από τη μητέρα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης θεωρήθηκε ως η πηγή έκθεσης σε Hg, η πρόσληψη διαφορετικού είδους ψαριών από το παιδί εκτιμήθηκε από το ίδιο λεπτομερές στοιχείο 138.

Το FFQ ολοκληρώθηκε από τις μητέρες σύντομα μετά τον τοκετό. Το ερωτηματολόγιο περιλάμβανε 7 ποσοτικά ερωτήματα σχετικά με τα ψάρια, τα οποία αφορούσαν τη συχνότητα κατανάλωσης 150 γραμμαρίων ψαριών, μαλακοστράκων και μαλακίων (μαγειρεμένα σύμφωνα με διαφορετικές συνταγές) και ψαριών σε λάδι. Η κατανομή συχνότητας αυτών των μεταβλητών περιγράφηκε χρησιμοποιώντας απόλυτους αριθμούς και ποσοστά ατόμων σε κάθε κατηγορία. Για κάθε είδος ψαριού, η μετατροπή από τις κατηγορίες κατανάλωσης σε συνεχή κατανάλωση των μερίδων ψαριών έγινε με την ανάθεση σε κάθε κατηγορία μιας κατανάλωσης ίσης με τη διάμεση τιμή για την κατηγορία αυτή (π.χ. 2-4 φορές/εβδομάδα έγινε 3 φορές την εβδομάδα). Η συνολική πρόσληψη ψαριών υπολογίστηκε αθροίζοντας την εκτιμώμενη εβδομαδιαία πρόσληψη όλων των τύπων ψαριών.

Οι κατανομές της πρόσληψης ιχθύων και της συγκέντρωσης των μετάλλων απεικονίστηκαν με αριθμητικά μέσα και SDs, τεταρτημόρια και ελάχιστα-μέγιστα εύρη. Επίσης, υπολογίστηκαν γεωμετρικά μέσα για τη συγκέντρωση Hg. Η κανονικότητα της κατανομής αξιολογήθηκε με τη δοκιμή Shapiro-Wilk. Η συγκέντρωση MeHg σε βιολογικά δείγματα, η οποία ήταν γνωστή σε ένα υποσύνολο της κοόρτης, συγκρίθηκε με τη συγκέντρωση του THg μεταξύ των αντίστοιχων ατόμων.

Τα κύρια αποτελέσματα ενδιαφέροντος ήταν σύνθετα γνωστικά, κοινωνικά – συναισθηματικά και προσαρμοστικά αποτελέσματα συμπεριφοράς. Οι κατανομές των νευροψυχολογικών βαθμολογιών απεικονίστηκαν με αριθμητικά μέσα και SDs, τεταρτημόρια και ελάχιστα μέγιστα όρια. Οι διαφορές μεταξύ των ομάδων αξιολογήθηκαν με τη δοκιμή αθροίσματος κατάταξης Wilcoxon (για συνεχείς μεταβλητές) και τη δοκιμή χ^2 (για μεταβλητές κατηγορίας). Οι μη επεξεργασμένες συσχετίσεις μεταξύ συγκεντρώσεων μετάλλων και κάθε νευροψυχολογικής βαθμολογίας αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας αναλύσεις γραμμικής παλινδρόμησης.

Χρησιμοποιήθηκε πολυπαραγοντική γραμμική παλινδρόμηση για να εκτιμηθεί η συσχέτιση μεταξύ Hg και νευροανάπτυξης, μετά από προσαρμογή για πιθανές μεταβλητές συγχύσεως. Οι ακόλουθες μεταβολές υποτίθεται ότι επηρεάζουν τη νευρολογική ανάπτυξη του παιδιού και γι' αυτό συμπεριλήφθηκαν στις αναλύσεις: πρόσληψη φρέσκου, κατεψυγμένου και κονσερβοποιημένου ψαριού από το παιδί και τη μητέρα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, το φύλο του παιδιού, το βάρος γέννησης, την ηλικία κύησης, ο δείκτης νοημοσύνης της μητέρας (IQ), η ηλικία της μητέρας κατά τον τοκετό, ο ΔΜΣ πριν από την εγκυμοσύνη, η αύξηση του σωματικού βάρους, η οικογενειακή κατάσταση κατά τον τοκετό, ο δείκτης κοινωνικοοικονομικής κατάστασης (SES) (προσαρμοσμένος από τους Bennett et al), το μέγεθος του σπιτιού, ο αριθμός των ενηλίκων και των παιδιών που ζουν στο σπίτι, το κάπνισμα τσιγάρων και την πρόσληψη αλκοόλ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Τα μοντέλα που αναλύουν αίμα ομφάλιου λώρου περιλάμβαναν επίσης συγκεντρώσεις Cu, Zn και Se.

Επειδή τα δεδομένα για τις περισσότερες συνδιαμορφώσεις προέρχονται από ερωτηματολόγια, τα οποία μπορεί να είναι ελλιπή και για να αποφευχθεί η απώλεια της στατιστικής ισχύς σε πολυμεταβλητές



Task Technical Report

αναλύσεις λόγω ελλείψεων τιμών, έγινε καταλογισμός (imputation) για ορισμένες μεταβλητές, υποθέτοντας ότι ήταν εντελώς τυχαίο. Μεταξύ των ομοειδών που θεωρήθηκαν ως δυνητικές μεταβλητές σύγχυσης, συμπεριλήφθηκαν μόνο όσες σχετίζονται με τουλάχιστον 1 νευροψυχολογική έκβαση ($P < 0,10$) στα τελικά μοντέλα.

Χρησιμοποιήσαμε αναλύσεις διαστρωματωμένες κατά το φύλο του παιδιού για να αξιολογήσουμε αν η επίδραση του Hg στη νευροανάπτυξη διέφερε στα αγόρια και τα κορίτσια.

Τα δεδομένα αναλύθηκαν με συσχετισμούς Pearson μεταξύ ζευγών μεταβλητών έκθεσης και έκβασης και πολλαπλών αναλύσεων παλινδρόμησης χρησιμοποιώντας το λογισμικό SPSS.

Περιοχή Λάτιου (Latium) – Επίπεδα μετάλλων σε εφήβους

Στο πλαίσιο του προγράμματος PROBE (PROgramme for Biomonitoring of the Exposure), ξεκίνησε το 2008 μια εκστρατεία βιοπαρακολούθησης του ιταλικού πληθυσμού για την ανίχνευση αρκετών μετάλλων στο αίμα, μια ειδική έρευνα απευθυνόταν στους εφήβους και διεξήχθη σε συνεργασία με την Εθνική Ένωση κατά της Μικροκυττάρωσης (National Association against Microcytemia – ANMI) κατά τη διάρκεια του ετήσιου διαγνωστικού ελέγχου για θαλασαιμία μεταξύ του σχολικού πληθυσμού. Στο πλαίσιο της εθνικής περιπτώσιολογικής μελέτης στην Ιταλία, το πρωτόκολλο συνίστατο στη διεύρυνση της πρώτης κούρτης PROBE σε σύνολο 453 εφήβων και στην επανεξέταση ολόκληρου του συνόλου δεδομένων βιοπαρακολούθησης, λαμβάνοντας υπόψη:

- i) Αξιολόγηση ερωτηματολογίων για τη σύνδεση των επιπέδων μετάλλων στο αίμα και τον τρόπο ζωής των εφήβων και δημογραφικά χαρακτηριστικά κάθε ατόμου όπως: φύλο, κατοικία, ένταση κυκλοφορίας, κοινωνικοοικονομική κατάσταση (Socio Economic Status – SES), παρουσία οδοντικών σφραγισμάτων και σιδερακιών, παρουσία τρυπημάτων (piercings) και τατουάζ, παθητικό κάπνισμα, κατανάλωση ψαριών και γάλακτος.
- ii) Τη συλλογή δεδομένων ποιότητας αέρα (βενζίνη, CO, NO₂, NO_x, O₃, PM₁₀, PM_{2.5}) από τους σταθμούς παρακολούθησης της ποιότητας του αέρα που βρίσκονται πλησιέστερα στις διευθύνσεις κατοικίας κάθε υποκείμενου, τα οποία προσδιορίζονται από το GIS και παρέχονται από την Περιφερειακή Αρχή Περιβάλλοντος (Regional Environment Authority – ARPA, περιοχή Latium) για να συνδέσει τα επίπεδα μετάλλων στο αίμα των εφήβων και τα επίπεδα επιλεγμένων δεικτών ποιότητας του αέρα.
- iii) Η συλλογή δεδομένων σχετικά με την περιεκτικότητα σε As του πόσιμου νερού από την περιοχή Viterbo για τη σύνδεση των επιπέδων μετάλλων στο αίμα των εφήβων και την έκθεση στο As μέσω του νερού.

Πληθυσμός

Ένας εφηβικός πληθυσμός 453 ατόμων, ηλικίας 13-15 ετών, που ζούσαν σε αστικές και αγροτικές περιοχές της περιοχής του Λάτιου, εγγράφηκε για την έκθεση τους σε μέταλλα. Η διανομή των εφήβων στις τέσσερις περιοχές δειγματοληψίας ήταν: 160 από Viterbo (μικρή πόλη), 131 από Fontenuova και 72 από Monterotondo (αγροτικές ημι-αγροτικές περιοχές) και 89 από τη Ρώμη (μεγάλη πόλη). Τα δείγματα αίματος χωρίς νηστεία ελήφθησαν από την ANMI κατά τη διάρκεια της ετήσιας ανίχνευσης μικροκυττάρων στα σχολεία (2009). Στο δείγμα αίματος, διερευνήθηκαν 19 μέταλλα: As, Cd, Co, Cr, Hg, Ir, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Sb, Sn, Tl, U, V και W.

Ανάλυση

Τα δείγματα αίματος αποθηκεύτηκαν στους -20°C και στο εργαστήριο, 1 mL δείγματος αίματος, από περίπου 1.5 mL που συλλέχθηκαν, υπέστη πέψη μέσω μικροκυμάτων (Milestone ETHOS MEGA II, FKV, Μπέργκαμο, Ιταλία) με εξαιρετικά καθαρό HNO₃ (Romil Ltd., Cambridge, UK) και ακολούθως,



Task Technical Report

αραιώθηκε με απιονισμένο νερό υψηλής καθαρότητας (EASY Pure system, Barnstead, Dubuque, USA). Πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε μέταλλα με φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (SF-ICP-MS, Element 2, Thermo Scientific, Bremen, Germany).

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση αίματος επαληθεύτηκε εσωτερικά (in-house) και διαπιστεύθηκε από την ACCREDIA (Ιταλικό Φορέα Διαπίστευσης) και αξιολογήθηκαν οι ακόλουθες επιδόσεις επαλήθευσης: γραμμικότητα, όριο ανίχνευσης (LoD) και όριο ποσοτικού προσδιορισμού (LoQ), εξειδίκευση, ακρίβεια (AOAC, 1998 · απόφαση 2002/657/EK της Επιτροπής · LGC, 2003 · NATA, 2009 · Thompson et al., 2002).

Για κάθε δωρητή συμπληρώθηκε επίσης ένα ερωτηματολόγιο για τη συλλογή πληροφοριών σχετικά με:

- Γενικά δεδομένα όπως φύλο, τρυπήματα, κοσμήματα junk, διατροφικές συνήθειες, πόσιμο νερό, παράγοντες για τον τρόπο ζωής (π.χ. έκθεση στον καπνό του περιβάλλοντος, κατανάλωση αλκοόλ, χρήση καλλυντικών κλπ.), Η κοινωνικοοικονομική κατάσταση (SES) της οικογένειας προήλθε από τη συγχώνευση του εκπαιδευτικού επιπέδου και του επαγγελματικού καθεστώτος των γονέων. Η διεθνής τυποποιημένη ταξινόμηση των επαγγελματιών (Διεθνής Τυποποιημένη Ταξινόμηση Επαγγελματιών, 2008) υιοθετήθηκε για να περιγράψει τα γονικά επαγγέλματα. Από τα ερωτηματολόγια που δόθηκαν, έλαβαν αρκετές πληροφορίες: 138 έφηβοι είχαν σιδεράκια και/ή σφραγίσματα ενώ 49 είχαν πέρσιγκ (piercing) και 93 έφηβοι είχαν γονείς που κάπνιζαν στο σπίτι. Όσον αφορά τις διατροφικές συνήθειες, 265 έφηβοι κατανάλωναν ψάρι 1 φορά εβδομαδιαίως (1/εβδομάδα) και 81 δύο (2) φορές την εβδομάδα ή περισσότερο ($\geq 2/w$), ενώ 241 είχαν γάλα καθημερινά (7/β), 63 από 4 έως 6 φορές την εβδομάδα (4-6/w) και 99 από 1 έως 3 φορές την εβδομάδα (1-3/w).

Η αξιολόγηση της έκθεσης ολοκληρώθηκε με τη γεωγραφική αναφορά όλων των υποκειμένων ως προς την τοποθεσία της διεύθυνσης κατοικίας τους με εργαλεία GIS και λαμβάνοντας επίσης, υπόψη, τον τρόπο ζωής των εφήβων και των οικογενειών τους.

Ο κύριος περιορισμός της εφηβικής μελέτης PROBE ήταν η έλλειψη πληροφόρησης σχετικά με την κατάσταση υγείας των ατόμων που παρακολούθηθηκαν και η αδυναμία επαναληπτικής επικοινωνίας με τα ίδια άτομα. Ελλιπίεως αυτών των πληροφοριών, κατέστη αδύνατο να συνδέσουμε το περιεχόμενο μετάλλων στο αίμα των εφήβων και τις πιθανές επιπτώσεις στην υγεία των εφήβων.

Περιβαλλοντικά δεδομένα

Για να έχει μια άποψη της έκθεσης κατά την exposure έννοια, οι συγκεντρώσεις μετάλλων σχετίζονται με τα περιβαλλοντικά δεδομένα της ποιότητας του αέρα και των υδάτων που παρέχονται από την Περιφερειακή Περιβαλλοντική Αρχή (Περιφέρεια Latium). Χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές κρησφύγετο για την παραγωγή χωριστά χωριστά συγκεντρωμένων χημικών ουσιών στον εξωτερικό αέρα ξεκινώντας από δεδομένα που συλλέχθηκαν από σταθμούς παρακολούθησης αέρα. Οι χημικές ουσίες που θεωρήθηκαν ήταν NO_x, PM₁₀, PM 2.5, βενζόλιο, CO, NO₂, O₃.

Στατιστική ανάλυση

Τα βασικά στατιστικά στοιχεία των 453 εφήβων περιλάμβαναν εκατοστημόρια, γεωμετρικό μέσο όρο (GM) και 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τον γεωμετρικό μέσο όρο (CI, GM). Ο γεωμετρικός μέσος όρος αντιπροσωπεύει καλύτερα την κεντρική τάση των δεδομένων εάν η κατανομή είναι ασύμμετρη αντί για το διάμεσο δείκτη. Στις στατιστικές τιμές αξιολόγησης κάτω από το LoD ελήφθησαν υπόψη ως LoD/2 και αποκλείστηκαν ακραίες τιμές. Αυτή η διαδικασία χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή τιμών αναφοράς (RV)



Task Technical Report

όπου το 95ο εκατοστημόριο περιγράφει την ανώτερη τιμή χρήσιμη στον τομέα της υγειονομικής περιθάλψης και της περιβαλλοντικής πολιτικής. Επίσης, πραγματοποιήθηκε διαστρωμάτωση της κοόρτης των εφήβων από ορισμένα χαρακτηριστικά, όπως το φύλο, την περιοχή κατοικίας που με τη σειρά της σχετίζεται με την ένταση της κυκλοφορίας, την παρουσία οδοντικών σφραγισμάτων και/ή σιδεράκια, piercings και τατουάζ, παθητικό κάπνισμα, κατανάλωση ψαριών και γάλακτος, SES. Κάθε μεταβλητή κωδικοποιήθηκε σύμφωνα με τα επίπεδα που εφαρμόστηκαν στα ερωτηματολόγια: αριθμός οδοντικών σφραγισμάτων και/ή σιδεράκια, piercings και τατουάζ (0: όχι, 1: ναι), παθητικό κάπνισμα (0: όχι · 1: (0: ποτέ · 1: 1 ώρα/εβδομάδα · 2:> = 2 φορές/εβδομάδα) και κατανάλωση γάλακτος (0: ποτέ · 1: 1-3 φορές / εβδομάδα · 2:> 3 φορές/εβδομάδα, 3: 7 φορές/εβδομάδα), SES της οικογένειας (0: χαμηλό, 1: μέτριο, 2: υψηλό). Για όλες τις συγκριτικές και άλλες στατιστικές αναλύσεις, εξετάστηκε η βάση δεδομένων, συμπεριλαμβανομένων των ακραίων τιμών. Οι διαφορές για κάθε συγκέντρωση μετάλλων μεταξύ των υποομάδων με βάση τις διάφορες μεταβλητές ελέγχθηκαν με δοκιμή Mann-Whitney U ή δοκιμή Kruskal-Wallis ή Wilcoxon (ανάλογα με τον αριθμό των επιπέδων για κάθε μεταβλητή ομαδοποίησης). Η δοκιμή Mann-Whitney U με τη διόρθωση του Bonferroni χρησιμοποιήθηκε για πολλαπλές συγκρίσεις, όταν ενδείκνυται. Το επίπεδο σημασίας ρυθμίστηκε σε $p < 0,05$. Οι στατιστικοί υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν από το στατιστικό λογισμικό STATA Release 8.1 (STATA Corporation, TX). Για τη διεξαγωγή γεωστατικής ανάλυσης, όλα τα 453 άτομα υποβλήθηκαν σε γεωγραφική αναφορά βάσει της διεύθυνσης διαμονής τους σε ένα σύστημα GIS και αποθηκεύτηκαν σε μία Γεω-βάση δεδομένων (Geodatabase) μαζί με δεδομένα ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης, συνήθειες διατροφής, περιβαλλοντικά δεδομένα και κάλυψη γης. Το Γενικευμένο Γραμμικό Μοντέλο (GLM) και η σχετική διευρυμένη περιβαλλοντική μελέτη (EWAS) χρησιμοποιήθηκαν για να διερευνήσουν τις συσχετίσεις μεταξύ δεδομένων ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης, τρόπου ζωής, διατροφικών μοτίβων (ψάρια και γάλα) και κάλυψης γης. Έγινε χρήση της βάσης δεδομένων κάλυψης εδάφους EEA 2006 (<http://www.eea.europa.eu/data-and-maps/data/corine-land-cover-2006-raster-3>) υψηλής χωρικής ανάλυσης (100 m) για την ανάλυση πιθανών χωρικών σχέσεων μεταξύ του τύπου χρήσης γης όπου ζούσαν οι έφηβοι και της συγκέντρωσης μετάλλων στο αίμα.

Σλοβενία

Εθνικά δεδομένα ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM) και προσδιορισμός πηγών έκθεσης

Το εθνικό πρόγραμμα HBM διεξήχθη για πρώτη φορά στη Σλοβενία την περίοδο μεταξύ 2007 και 2015 και η εκτέλεσή του βασίστηκε στη νομοθεσία για την εφαρμογή του προγράμματος HBM στη Σλοβενία (όπως ορίζεται στο άρθρο 49 του νόμου περί χημικών ουσιών του κεφαλαίου IX). Το πρόγραμμα περιλάμβανε τη συλλογή βιολογικών δειγμάτων για την παρακολούθηση της εσωτερικής έκθεσης των κατοίκων διαφορετικών περιοχών της χώρας, αλλά δεν περιλάμβανε παρακολούθηση της εξωτερικής έκθεσης. Στο πλαίσιο του CROME, διάφορες περιβαλλοντικές καμπάνιες μαζί με τη συλλογή των βοηθητικών δεδομένων σχεδιάστηκαν και εκτέθηκαν για να καλύψουν τα κενά δεδομένων σχετικά με την εξωτερική έκθεση. Δεδομένου ότι, τα πρόσθετα δεδομένα συλλέχθηκαν και συνδέθηκαν με τα υπάρχοντα δεδομένα HBM, η CROME συνέβαλε σημαντικά στους μακροπρόθεσμους στόχους και τις πολιτικές απαιτήσεις του προγράμματος HBM στη Σλοβενία.

Οι στοχοθετημένες περιβαλλοντικές εκστρατείες περιλάμβαναν τη συλλογή δειγμάτων ύδατος βρύσης από το 108 σε όλη τη Σλοβενία και τη δειγματοληψία βρύων από 102 τοποθεσίες στη Σλοβενία ως βιο-δείκτη της ποιότητας του αέρα και της εναπόθεσης. Τα δεδομένα ποιότητας του αέρα (AQ) συμπληρώθηκαν με δεδομένα από το δίκτυο παρακολούθησης AQ (O₃, PM_{2.5} και PM₁₀) σε ευρωπαϊκή κλίμακα και δεδομένα σχετικά με τις εκπομπές και τις εκλύσεις από σημειακές και διάχυτες πηγές (NO_x, SO_x, CO, αμμωνία NH₃, διοξείδιο του άνθρακα CO₂ και PM₁₀). Η χημική σύνθεση του εδάφους ελήφθη από παρεμβαλλόμενο γεωχημικό χάρτη της Σλοβενίας. Επιπλέον, συλλέξαμε πληροφορίες σχετικά με το τεχνητό περιβάλλον από το Κτηματολόγιο δημόσιων υποδομών. Ως υποκατάστατο για τη χρήση



Task Technical Report

λιπασμάτων, τα μοντέλα πλεονάσματος αζώτου και φωσφόρου αποκτήθηκαν από τη Γεωλογική Έρευνα (Geological Survey) της Σλοβενίας.

Οι συγκεκριμένες αβεβαιότητες που σχετίζονται με μεμονωμένα πληρεξούσια είναι οι ακόλουθες. Στην περίπτωση της γεωχημικής σύνθεσης του εδάφους, τα στρώματα που χρησιμοποιούνται είναι αποτέλεσμα της χωρικής παρεμβολής που βασίζεται σε δεδομένα σημείου. Τα πλεονάσματα αζώτου και φωσφόρου είναι εκτιμήσεις που βασίζονται μόνο στην επικρατούσα χρήση της γης στην περιοχή. Στην περίπτωση των δεδομένων AQ σε κλίμακα ευρωπαϊκής κλίμακας, αυτά έχουν πολύ μεγάλη ανάλυση και ως εκ τούτου δεν παρέχουν αρκετή λεπτομέρεια για την έκθεση του ατόμου και τις διαφορές μεταξύ των διαφόρων ομάδων πληθυσμού, αντίστοιχα. Παρόμοια, ελλείπει πραγματικών δεδομένων σχετικά με την πυκνότητα της κυκλοφορίας, χρησιμοποιήθηκε ο τύπος οδικής υποδομής κοντά στα άτομα που εγκαταλείπουν το περιβάλλον.

Τα συλλεχθέντα περιβαλλοντικά δεδομένα μαζί με τις έρευνες που βασίζονται σε ερωτηματολόγια σχετικά με τις συμπεριφορές και τις διατροφικές συνήθειες του πληθυσμού που συμμετέχει στις HBM μελέτες, υποστήριξαν την παραγωγή γενικών προτύπων έκθεσης του πληθυσμού σε ολόκληρη τη χώρα. Οι κυριότερες δυσκολίες που αντιμετωπίστηκαν ήταν οι διαφορές στη χωρική ανάλυση μεταξύ διαφορετικών βάσεων δεδομένων περιβάλλοντος και ορισμένων παραμέτρων που χρησιμοποιούνται ως υποκατάστατα (π.χ. πλεόνισμα αζώτου ως υποκατάστατο για τη χρήση τεχνητών λιπασμάτων), γεγονός που αυξάνει την αβεβαιότητα των περιβαλλοντικών δεδομένων σε σύγκριση με τα ακριβή δεδομένα για την εσωτερική έκθεση. Οι συγκεκριμένες αβεβαιότητες που σχετίζονται με μεμονωμένα πληρεξούσια είναι οι ακόλουθες. Στην περίπτωση της γεωχημικής σύνθεσης του εδάφους, τα στρώματα που χρησιμοποιούνται είναι αποτέλεσμα της χωρικής παρεμβολής που βασίζεται σε δεδομένα σημείου. Τα πλεονάσματα αζώτου και φωσφόρου είναι εκτιμήσεις που βασίζονται μόνο στην επικρατούσα χρήση της γης στην περιοχή. Στην περίπτωση των δεδομένων AQ σε κλίμακα ευρωπαϊκής κλίμακας, αυτά έχουν πολύ μεγάλη ανάλυση και ως εκ τούτου δεν παρέχουν αρκετή λεπτομέρεια για την έκθεση του ατόμου και τις διαφορές μεταξύ των διαφόρων ομάδων πληθυσμού, αντίστοιχα. Παρόμοια, ελλείπει πραγματικών δεδομένων σχετικά με την πυκνότητα της κυκλοφορίας, χρησιμοποιήθηκε ο τύπος οδικής υποδομής κοντά στα άτομα που εγκαταλείπουν το περιβάλλον.

Πρόσθετη πηγή αβεβαιότητας είναι τα δεδομένα συμπεριφοράς και διατροφής που βασίζονται στο ερωτηματολόγιο. Οι αβεβαιότητες που προκύπτουν από εξωτερική έκθεση δεδομένων επιτρέπουν μόνο προσεγγιστικές εκτιμήσεις των προτύπων έκθεσης, αλλά αποτελούν σημαντική ένδειξη για περαιτέρω έρευνες.

Δια – Μεσογειακή μελέτη (Cross-Mediterranean study)

Στο πλαίσιο της διασταυρούμενης μεσογειακής μελέτης, παρακολούθηθηκε ο πληθυσμός των Σλοβένων παιδιών που προσλήφθηκαν κατά τη γέννηση στο πλαίσιο του έργου PHIME. Με στόχο την αξιολόγηση της σχέσης μεταξύ της προγεννητικής έκθεσης στον υδράργυρο (Hg) και της νευροαναπτυξιακής/νευροσυμπεριφορικής, τα παιδιά επαναξιολογήθηκαν νευροψυχολογικά με τη χρήση της κλίμακας Weschler Intelligence Scale for Children (WISC) σε ηλικία 7-8 ετών. Όπως είναι ευρέως γνωστό ότι, αρκετοί παράγοντες μπορούν να διαμορφώσουν το νευροψυχολογικό αποτέλεσμα, μεταξύ των οποίων η ταυτόχρονη έκθεση σε άλλα μέταλλα/στοιχεία και γενετικούς παράγοντες, το πρωτόκολλο περιλάμβανε εκτός από τη δοκιμή WISC επίσης, τον προσδιορισμό του Hg και άλλων σχετικών στοιχείων (Pb, Mn, Cd, As, Se, Zn, Su) σε βιολογικά δείγματα και ανάλυση πολυμορφισμών γονιδίων, βάσει των οποίων ορισμένα άτομα μπορεί να έχουν προδιάθεση για πιο δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία από εκείνες που αναφέρθηκαν στο γενικό πληθυσμό.

Οι πολυμορφισμοί που επιλέχθηκαν για το πρωτόκολλο CROME Cross-Mediterranean, είναι σε γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα που εμπλέκονται στην απορρόφηση, τη διανομή, το μεταβολισμό ή την απομάκρυνση των μετάλλων και μερικά, επίσης, απευθείας στις διεργασίες ανάπτυξης του εγκεφάλου



Task Technical Report

(π.χ. συναπτογένεση). Μέχρι σήμερα, η ανάλυση γονότυπου μαζί με την εσωτερική έκθεση και τη νευροψυχολογική αξιολόγηση ολοκληρώθηκαν σε περιορισμένο μέγεθος δείγματος, όπως είναι διαθέσιμη για πληθυσμό Σλοβενικών μελετών (n=179). Αυτός ο μικρός αριθμός δείγματος δεν επιτρέπει τη διαστρωμάτωση των συλλεχθέντων δεδομένων βάσει γονότυπου. Η συσχέτιση μεταξύ της βαθμολογίας της προγεννητικής/παιδικής έκθεσης και της νοημοσύνης (WISC) θα αξιολογηθεί περαιτέρω, δεδομένου ότι, η βάση δεδομένων ολοκληρώνεται με δεδομένα από άλλους πληθυσμούς μελετών (Κροατία, Ιταλία).

Τα επίπεδα BPA στα παιδιά, τις μητέρες και τους πατέρες τους

Τα ποσοστά δισφαινόλης Α (BPA) στα ούρα των παιδιών ηλικίας 6-11 ετών, των μητέρων και των πατέρων τους που ελήφθησαν για τον πληθυσμό της Σλοβενίας στο πλαίσιο ενός έργου επίδειξης DEMOCOPHES, αξιολογούνται για πρώτη φορά στο πλαίσιο του CROME, όσον αφορά την αξιολόγηση κινδύνου. Με βάση τα δεδομένα του ουροποιητικού συστήματος, η ημερήσια πρόσληψη στα άτομα υπολογίστηκε εκ των υστέρων χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο βιοκινητικής βασισμένο στη φυσιολογία (PBBK) κατάλληλα παραμετροποιημένο για τη BPA, σε συνδυασμό με έναν αλγόριθμο αναδόμησης της έκθεσης. Η επανεκκίνηση του μοντέλου PBBK σε κατάσταση εμπρόσθιας φάσης επέτρεψε την εκτίμηση της βιολογικής αποτελεσματικής δόσης (ελεύθερη πλάσματος BPA) και της αντίστοιχης ημερήσιας περιοχής κάτω από την καμπύλη (AUC). Τέλος, ο λόγος χαρακτηρισμού του κινδύνου προέκυψε χρησιμοποιώντας τόσο εξωτερικές όσο και εσωτερικές μετρήσεις δόσης.

Ισπανία

Δια – Μεσογειακή μελέτη – Sabadell – Έκθεση μετάλλου σε έγκυες γυναίκες

Στο πλαίσιο του ερευνητικού δικτύου INMA (Childhood and Environment) (Guxens, Ballester et al., 2012), 657 έγκυες γυναίκες προσλήφθηκαν στην 12η εβδομάδα ιατρικής επίσκεψή τους στο Κέντρο Πρωτοβάθμιας Φροντίδας του Sant Felix II (Sabadell), μεταξύ 2004 και 2006. Η πρόσληψη αφορούσε μόνο εκείνες τις γυναίκες που ζούσαν στο Sabadell, είχαν ηλικία μεγαλύτερη των 16 ετών, είχαν μονήρη κύηση, προσφέρθηκαν εθελοντικά για το πρόγραμμα και ήθελαν να γεννήσουν στα νοσοκομεία του Sabadell ή της Terrassa (μια κοντινή πόλη). Οι γυναίκες που πάσχουν από χρόνιες ασθένειες, έχουν μειωμένη επικοινωνία ή έμειναν έγκυες με υποβοηθούμενη αναπαραγωγή αποκλείστηκαν. Αφού έλαβαν τη συγκατάθεση των εισαγόμενων γυναικών, τα ερωτηματολόγια διαχειρίστηκαν εκπαιδευμένοι ερευνητές τη 12η και την 32η εβδομάδα της κύησης. Ο πληθυσμός αυτός αποτελεί ένα αντιπροσωπευτικό παράδειγμα των αστικών πληθυσμών στις Ισπανικές περιοχές της Μεσογείου.

Τα δείγματα ούρων συλλέχθηκαν σε δοχεία πολυπροπυλενίου των 100 mL κατά το πρώτο και το τρίτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης από 489 έγκυες γυναίκες αυτής της κοόρτης. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε σωλήνες πολυαιθυλενίου στους -20°C μέχρι την περαιτέρω επεξεργασία. Αυτό το ερευνητικό πρόγραμμα εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας της Έρευνας του CREAL. Για να διατηρηθεί η εμπιστευτικότητα, κωδικοποιήθηκαν οι πληροφορίες των συμμετεχόντων.

Ανάλυση των δειγμάτων ούρων

Πριν από την ανάλυση Q-ICP-MS, τα δείγματα υποβλήθηκαν σε πέψη και αραιώθηκαν για την οξείδωση και απομάκρυνση της οργανικής ύλης και της ελαχιστοποίηση των συγκεντρώσεων των ανόργανων στερεών (Krachler, Radner et al., 1996, Castillo, Martinez et al., 2008). Τρία mL από κάθε δείγμα ούρων, 3 mL Instra-Analyzed 65% HNO₃ (J.T. Baker, Germany) και 1,5 mL Instra-Analyzed 30% H₂O₂ (Baker) εισήχθησαν σε δοχεία Teflon. Τα μίγματα τοποθετήθηκαν σε φούρνο στους 90°C όλη τη νύχτα. Μετά από ψύξη, τα δοχεία ανοίχθηκαν και κατόπιν τοποθετήθηκαν σε πλάκα θέρμανσης στους 250°C για να εξατμιστεί το νιτρικό οξύ. Αφού ξηρανθούν, τα προκύπτοντα στερεά δείγματα διαλύθηκαν σε 3 mL 4% HNO₃, τοποθετήθηκαν σε γυάλινες φιάλες των 7 mL και στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν σε ψυγείο μέχρι την ανάλυσή τους. Πριν από την ανάλυση, εισήχθη ένα εσωτερικό πρότυπο 10 ppb Ινδίου (In) και ανάλογα με



Task Technical Report

την πυκνότητα του δείγματος αραιώθηκαν σε 30 mL ή 60 mL με MilliQ νερό για να αποφευχθεί η μη φασματική παρεμβολή.

Η ανάλυση Q-ICP-MS διεξήχθη με όργανο X-SERIES II (Thermo Fisher Scientific). Συγκεκριμένα, ιόντα ισοτόπων για Co και Ni επιλέχθηκαν για να αποφευχθούν τυχόν παρεμβολές ασβεστίου από τη μήτρα δείγματος. Τα άτομα Cl μπορούν επίσης να παρεμβαίνουν ενδεχομένως στον προσδιορισμό των As και Se. Σε αυτές τις περιπτώσεις η τεχνική των κυττάρων σύγκρουσης/αντίδρασης θα πρέπει να προστεθεί στις ενόργανες μεθόδους αλλά δεν παρατηρήθηκαν παρεμβολές στα παρόντα δείγματα και αυτά τα κύτταρα δεν χρησιμοποιήθηκαν. Το όριο ανίχνευσης (LOD) του οργάνου για όλα τα μέταλλα ήταν 0,2 ng/mL εστιάζοντας στο πιο αξιόπιστο χαμηλότερο σημείο βαθμονόμησης. Τα δύο δείγματα που αντιστοιχούν στο πρώτο και στο τρίτο τρίμηνο κάθε υποκειμένου αφομοιώθηκαν και αναλύθηκαν ταυτόχρονα. Ένα τυφλό δείγμα νερού MilliQ υποβλήθηκε σε επεξεργασία σε κάθε παρτίδα δειγμάτων για έλεγχο για πιθανή επιμόλυνση. Σε περίπτωση οποιασδήποτε επιμόλυνσης, πραγματοποιούνταν διεξοδικός καθαρισμός όλων των υλικών και η πέψη επαναλαμβανόταν. Δείγματα πεδίου ελήφθησαν επίσης με ανάλυση νερού Milli Q που προηγουμένως αποθηκεύτηκε στα δοχεία που χρησιμοποιήθηκαν για μπουκάλια μητρικών ούρων και μεταφέρθηκε μαζί με τα δείγματα.

Για την αξιολόγηση της αναπτυχθείσας μεθοδολογίας χρησιμοποιήθηκε εκτενώς μια αναφορά Bio-Rad Level 1 (Lyfhocek Urine Metals Control 1-69131, Marnes-la-Coquette, Γαλλία) καθώς περιέχει συγκεντρώσεις μετάλλων κοντά σε εκείνες στα δείγματα ούρων από την κοόρτη μελέτης. Αυτό το υλικό αναφοράς παρείχε πιστοποιημένες τιμές για τα As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sb, Tl, Zn και Se. Πριν από την πέψη, τα λυοφιλοποιημένα δείγματα των ούρων αναφοράς ανασυστάθηκαν με 25 mL νερού MilliQ όπως συνιστάται από τον κατασκευαστή.

Όλα τα γυάλινα σκεύη και το υλικό πολυπροπυλενίου καθαρίστηκαν πλήρως με διαβροχή σε 10% νιτρικό οξύ για 24 ώρες, ακολουθούμενα από έκπλυση τρεις φορές με νερό MilliQ. Τα δοχεία Teflon καθαρίστηκαν μετά από κάθε χρήση με έκπλυση με 10% νιτρικό οξύ τρεις φορές και, μετά το τελευταίο ξέβγαλμα, τοποθετήθηκαν στο φούρνο στους 90 °C όλη τη νύχτα. Τέλος, τα δοχεία ξεπλύθηκαν με μεγάλο όγκο νερού MilliQ.

Η κρεατινίνη προσδιορίστηκε στο εργαστήριο Echevarne της Βαρκελώνης με τη μέθοδο Jaffé (κινητική με μέτρηση στόχου, αντισταθμισμένη μέθοδος) με Beckman Coulter © αντιδραστήριο σε AU5400 (IZASA®).

Στατιστικές αναλύσεις

Αρχικά, υπολογίστηκαν οι περιγραφικές στατιστικές παράμετροι. Οι τιμές για μέση τιμή, τυπική απόκλιση (SD), διάμεση τιμή και P91, υπολογίστηκαν για τις συγκεντρώσεις μετάλλων. Η κανονικότητα ελέγχθηκε με τη δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov. Οι συγκεντρώσεις μετάλλων μεταξύ του πρώτου και του τρίτου τριμήνου συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας συσχετίσεις Spearman και ζευγαρωμένες δοκιμασίες υποθέσεων Mann-Whitney. Ακόμη, υπολογίστηκαν οι μεμονωμένες αναλογίες μεταξύ των συγκεντρώσεων μετάλλων κατά τη διάρκεια του τρίτου και του πρώτου τριμήνου. Υπολογίστηκαν η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση και οι διάμεσες τιμές για αυτές τις αναλογίες. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας λογισμικό Stata 12.0 (Stata Corporation, College Station, Texas).

Αστούρια - Έκθεση σε οργανοαλογονικές ενώσεις

Η ομάδα μελέτης ιδρύθηκε στην Αστούριας από το Τμήμα Προληπτικών Ερευνών του Πανεπιστημίου του Οβιέδο, στο πλαίσιο του Έργου INMA -Infancia y Medio Ambiente (Περιβάλλον και παιδική ηλικία) (Guxens, Ballester et al., 2012). Προσλήφθηκαν 494 έγκυες γυναίκες μεταξύ Μαΐου 2004 και Ιουνίου 2007. Οι παραδόσεις πραγματοποιήθηκαν μεταξύ Οκτωβρίου 2004 και Φεβρουαρίου 2008 στο νοσοκομείο αναφοράς San Agustin, στο Avilés (Asturias, Ισπανία). Συλλέχθηκαν, επιτυχώς, 326 δείγματα αίματος ομφάλιου λώρου από την βοήθεια σε 485 τοκετούς στον πληθυσμό της κοόρτης. Τελικά, ήταν διαθέσιμα



Task Technical Report

308 ζεύγη δειγμάτων αίματος μητέρας-ομφάλιου λώρου, ως συνέπεια αυτού του προγράμματος. Ιστοί πλακούντα συλλέχθηκαν από ένα υποσύνολο 50 γυναικών. Παρουσιάζουμε δεδομένα συγκέντρωσης POP για τα 308 διαθέσιμα ζεύγη δειγμάτων και 50 δείγματα πλακούντα. Τα χαρακτηριστικά των μητέρων από αυτή την ομάδα των 308 ζεύγη δειγμάτων δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές από το σύνολο της προσληφθείσας ομάδας. Το πρωτόκολλο μελέτης εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας του νοσοκομείου αναφοράς και ελήφθη ενημερωμένη συγκατάθεση για κάθε συμμετέχοντα.

Δεδομένα και συλλογή δειγμάτων

Δείγματα μητρικού αίματος συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης (διάμεσος = 12 εβδομάδες, εύρος = 10-13 εβδομάδες). Δείγματα ολικού αίματος ομφάλιου λώρου συλλέχθηκαν χρησιμοποιώντας φλεβοκέντηση των αγγείων του ομφάλιου λώρου προτού εξέλθει ο πλακούντας. Ο μητρικός και ο ομφάλιος ορός συλλέχθηκαν μετά από φυγοκέντρηση για 10 λεπτά, διαχωρίστηκαν σε υποπολλαπλάσια του 1 ml και φυλάχθηκαν στους -80°C μέχρι τις αναλύσεις. Ολόκληρος ο πλακούντας συλλέχθηκε αμέσως μετά τον τοκετό. Το μισό του πλακούντα, συμπεριλαμβανομένων των μητρικών και εμβρυϊκών πλευρών και των κεντρικών και περιφερειακών τμημάτων, τοποθετήθηκε σε γυάλινο περιέκτη ενός μείκτη (Büchi Mixer B-400 Büchi Laboratories AG, Flawil, Switzerland) για την ομογενοποίησή του. Μετά την ομογενοποίηση, δείγματα των 25g αποθηκεύτηκαν και καταψύχθηκαν στους -80°C. Οι έγκυες γυναίκες ολοκλήρωσαν δύο λεπτομερή ερωτηματολόγια (εβδομάδες 10-13 και 28-32) σχετικά με τα ανθρωπομετρικά και κοινωνικοδημογραφικά χαρακτηριστικά και τις μεταβλητές του τρόπου ζωής.

Εργαστηριακές αναλύσεις

Οι εργαστηριακές αναλυτικές μέθοδοι και οι διαδικασίες ελέγχου ποιότητας για την ανάλυση των POPs έχουν περιγραφεί αλλού (Vizcaino, Arellano et al., 2009, Grimalt, Howsam et al., 2010). Συγκεντρώσεις 7 ομοειδών PCB (PCB28, PCB52, PCB101, PCB118, PCB153, PCB138 και PCB180), α-HOH, β-HOH, γ-HOH, δ-HCH, HCB, PeCB, 2,4'-DDT, 4,4'-DDT, 2,4'-DDE, 4,4'-DDE, 2,4'-DDD, 4,4'-DDD και 14 ομοειδή PBDE (BDE17, BDE28, BDE47, BDE66, BDE71, BDE85, BDE99, BDE 100, BDE153, BDE154 BDE138 BDE 183 και BDE 190 και BDE 209) αναλύθηκαν σε δείγματα ορού πλακούντα, μητρικού και ομφάλιου λώρου.

Εν συντομία, 1 mL ορού ή 1 gr ιστού πλακούντα ενοφθαλμίστηκαν με τα υποκατάστατα πρότυπα τετραβρωμοβενζολίου (TBB) και δεκαχλωροδιφαινυλίου (CB 209) και αναδεύτηκαν (vortex) για 30 δευτερόλεπτα στις 2.000 rpm. Προστέθηκε η-εξάνιο (3 mL), ακολουθούμενο από πυκνό θειικό οξύ (2 mL). Μετά την αντίδραση, το μίγμα αναδεύτηκε για 30 δευτερόλεπτα και η φάση υπερκείμενου η-εξανίου διαχωρίστηκε με φυγοκέντρηση. Το υπόλοιπο διάλυμα θειικού οξέος εκχυλίστηκε εκ νέου δύο φορές με 2 mL η-εξανίου (καθένα ανά 30 δευτερόλεπτα ανάδευσης και φυγοκέντρηση). Τα συνδυασμένα εκχυλίσματα η-εξανίου (7 mL) καθαρίστηκαν επιπροσθέτως με θειικό οξύ (2 mL, ανάδευση 30 s). Στη συνέχεια, η φάση η-εξανίου διαχωρίστηκε με φυγοκέντρηση και μειώθηκε σε μικρό όγκο υπό ένα ήπιο ρεύμα αζώτου. Το εκχύλισμα μεταφέρθηκε σε φιαλίδια αερίου χρωματογραφίας (GC) χρησιμοποιώντας τέσσερα 25μl ξηπλύματος ισοοκτανίου. Τα CB 142, BDE 118 (20 μl) και [13C]-BDE 209 (10 μl) προστέθηκαν ως εσωτερικά πρότυπα πριν από την έγχυση. Οι οργανοχλωρικές ενώσεις (OCs) προσδιορίστηκαν με GC με ανίχνευση δέσμησης ηλεκτρονίων (GC-ECD). Οι ομοειδείς BDE αναλύθηκαν με GC συζευγμένο με φασματομετρία μάζας για τον προσδιορισμό αρνητικών ιόντων.

Η ολική χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια προσδιορίστηκαν σε δείγματα ορού μητρικού και ομφάλιου λώρου χρησιμοποιώντας χρωματομετρικές ενζυματικές μεθόδους στο Γενικό Βιοχημικό Εργαστήριο του Νοσοκομείου San Agustín. Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με Roche Diagnostics COBAS C711. Οι συνολικές συγκεντρώσεις λιπιδίων ορού υπολογίστηκαν όπως περιγράφεται από τους Phillips et al (1989) χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο:

$$TL = (2,27 * TC) + TG + 62,3 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$$



Task Technical Report

Τα λιπίδια του πλακούντα προσδιορίστηκαν σταθμικά. 1 gr ιστού πλακούντα ομογενοποιήθηκε σε 5 ml χλωροφορμίου:μεθανόλης:υδροχλωρικού οξέος (20:10:0,1) (o/o/o). Μετά την επανάληψη της διαδικασίας, προστέθηκαν 10 ml 0,1 N HCl και φυγοκεντρήθηκαν στις 3000 rpm για 10 λεπτά. Κατόπιν, συλλέχθηκε η οργανική φάση ενώ, η μη οργανική φάση επανεκχυλίστηκε και προστέθηκε στο πρώτο προϊόν εκχύλισης. Η συνολική περιεκτικότητα σε λιπίδια προσδιορίστηκε μετά από ξήρανση των οργανικών εκχυλισμάτων υπό ρεύμα αζώτου σε σταθερό βάρος και τα συνολικά λιπίδια εκφράστηκαν σε γραμμάρια λιπιδίου ανά γραμμάριο πλακούντα (Lopez-Espinosa, Lopez-Navarrete et al., 2008).

Η επαλήθευση των αναλυτικών αποτελεσμάτων (συμπεριλαμβανομένων των POPs και των συνολικών συγκεντρώσεων λιπιδίων) έγινε με ανάλυση του υλικού αναφοράς που αποκτήθηκε από το πρόγραμμα παρακολούθησης και αξιολόγησης άρθρων (Artic Monitoring and Assessment Program – AMAP). Συμμετέχουμε τακτικά στο πρόγραμμα AMAP Ring Test Proficiency για τους POPs στον ανθρώπινο ορό (Centre de Toxicologie Institut National de Santé Publique du Québec, Québec, Canada) και τα εργαστηριακά αποτελέσματα κυμαίνονται συνήθως στο 20% των τιμών συναίνεσης, συμπεριλαμβανομένων των συγκεντρώσεων λιπιδίων.

Ανάλυση δεδομένων

Τα επίπεδα POP εκφράστηκαν σε ng/mL. Επίσης, προσαρμόστηκαν σε ολικές συγκεντρώσεις λιπιδίων ορού (ng/g λιπιδίου). Οι τιμές του ημίσειου ορίου ανίχνευσης καθορίστηκαν όταν δεν βρέθηκαν μετρήσιμες συγκεντρώσεις αναλύτη. Τα διαγράμματα συσχέτισης και διάσπασης του Spearman χρησιμοποιήθηκαν για να εξεταστούν οι συσχετισμοί μεταξύ των επιπέδων POP στον ορό του πλακούντα, της μητέρας και του ομφάλιου λώρου. Η μεταφορά πλακούντα αξιολογήθηκε με υπολογισμό των αναλογιών συγκεντρώσεων μεταξύ ζευγών δειγμάτων για κάθε ένωση σε ng/mL και ng/g λιπιδίου:

$$R_{cm} = C_{uc}/C_m; \quad R_{pm} = C_p/C_m$$

όπου C_{uc} είναι η συγκέντρωση του ομφάλιου λώρου, C_m είναι η μητρική συγκέντρωση και C_p είναι η συγκέντρωση του πλακούντα. Οι συσχετίσεις και οι λόγοι συγκέντρωσης υπολογίστηκαν εξαιρουμένων των μη ανιχνευμένων τιμών. Οι τιμές που ξεπερνούν το τριπλάσιο της τυπικής απόκλισης του μέσου όρου θεωρήθηκαν ως υπερβατικές τιμές και συνεπώς αποκλείστηκαν από τους υπολογισμούς της αναλογίας. Οι αναλογίες κάθε ένωσης υπολογίστηκαν μόνο εάν υπήρχαν τουλάχιστον 10 ζεύγη δειγμάτων πάνω από το όριο ανίχνευσης (Needham, Grandjean et al., 2011). Οι αναλύσεις παλινδρόμησης με αναγκαστική παλινδρόμηση στο 0 υπολογίστηκαν επίσης. Δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτών των επιλογών (τα δεδομένα δεν παρουσιάζονται). Συνεπώς, αναφέρονται μόνο οι λόγοι των διάμεσων τιμών των συγκεντρώσεων.

Αύξηση βάρους κατά την εγκυμοσύνη

Η αύξηση βάρους κατά την εγκυμοσύνη (GWG) ορίστηκε ως η διαφορά μεταξύ του τελευταίου καταγεγραμμένου βάρους κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και του αυτοαναφερόμενου βάρους πριν από την εγκυμοσύνη. Για να αποφευχθούν οι πιθανές επιδράσεις ετερότητας και μη γραμμικότητας, η αύξηση βάρους υπολογίστηκε από τους εβδομαδιαίους ρυθμούς αύξησης βάρους (wGWG) κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, οι οποίοι υπολογίστηκαν για κάθε εβδομάδα με βάση τις διαφορές μεταξύ των μετρήσεων βάρους από τις εγγραφές προγεννητικών επισκέψεων και το αυτοαναφερόμενο βάρος πριν από την εγκυμοσύνη από την ηλικία κύησης σε κάθε μέτρηση. Ο μέσος αριθμός (\pm SD) μετρήσεων βάρους ανά μητέρα ήταν $6,5 \pm 2,7$. Το αυτοαναφερόμενο σωματικό βάρος πριν από την εγκυμοσύνη αντικαταστάθηκε με το πρώτο κλινικό ιστορικό σωματικού βάρους εάν αυτό μετρήθηκε πριν από 8 εβδομάδες κύησης και το δεύτερο μέτρο δεν καταγράφηκε πριν από 15 εβδομάδες ($n = 1$) (Nielsen et al., 2006). Το έλλειμμα ή το μη αξιόπιστο αυτοαναφερόμενο βάρος πριν από την εγκυμοσύνη (όταν wGWG ήταν $> 1,5$ kg/εβδομάδα ή < -1 kg/εβδομάδα) υπολογίστηκε με γραμμική παρεμβολή όταν καταγράφηκαν δύο GWG πριν από 15 εβδομάδες κύησης ($n = 4$).



Task Technical Report

Ο συνολικός ρυθμός εβδομαδιαίας GWG (twGWG) υπολογίστηκε ως η διαφορά μεταξύ του τελευταίου βάρους στο τέλος της εγκυμοσύνης και του αυτοαναφερόμενου βάρους πριν την εγκυμοσύνη διαιρούμενο με την ηλικία κύησης. Για τις γυναίκες των οποίων η τελευταία μέτρηση βάρους καταγράφηκε κατά τη διάρκεια των 37,5-42 εβδομάδων κύησης, χρησιμοποιήσαμε τη μέτρηση που λήφθηκε πλησιέστερα στις 39 εβδομάδες (wGWG39). Αυτή η μέτρηση δεν ήταν αναγκαστικά η τελευταία, αφού οι GWG σταματούν στο τέλος της εγκυμοσύνης.

Για 194 γυναίκες για τις οποίες δεν είχε καταγραφεί μέτρηση σωματικού βάρους κατά τη διάρκεια των 37,5-42 εβδομάδων κύησης, υπολογίσαμε το twGWG39 από το τελευταίο μετρούμενο βάρος τους. Συγκεκριμένα, για την γυναίκα i και την εβδομάδα k:

$$twGWGi39 = \text{mean}(wGWG39) + \{[twGWGik - \text{mean}(wGWGk)] [sd(wGWG39)/sd(wGWGk)]\} \quad [1]$$

Οι μέσες (wGWG39), μέσες (wGWGk), sd (wGWG39) και sd (wGWGk) τιμές ελήφθησαν από την κατανομή wGWG μιας ομάδας INMA που περιλάμβανε έγκυες γυναίκες από τις περιοχές Αστούριες, Γκιπούθκοα, Σαβαδέλ και Βαλένθια (n= 2,413). Οι κατανομές wGWG στις Αστούριες και οι ομάδες INMA αναφοράς ήταν παρόμοιες με υψηλότερο wGWG και χαμηλότερη ετεροσκεδαστικότητα (SD) σε υψηλότερη ηλικία κύησης γεγονός που είναι σύμφωνο με προηγούμενες μελέτες (Dietz, Callaghan et al. 2006, Kleinman, Oken et al. 2007, Nohr, Timpson et al. 2009).

Τέλος, το συνολικό GWG υπολογίστηκε ως την ηλικία κύηση σε εβδομάδες και την τιμή twGWG39. Η μεταβλητή αυτή μοντελοποιήθηκε ως συνεχής μεταβλητή (kg) και ως κατηγορική μεταβλητή (συνιστώμενη, ανεπαρκής ή υπερβολική) όπως ορίζεται από το Ινστιτούτο Ιατρικής (Rasmussen, Stene et al. 2009) σύμφωνα με το ΔΜΣ πριν από την εγκυμοσύνη. Συγκεκριμένα, η συνιστώμενη τιμή GWG είναι 11.25-15.75 kg για τις γυναίκες που έχουν ταξινομηθεί σε φυσιολογικό ΔΜΣ πριν από την εγκυμοσύνη (όπως ορίζεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας) και 12.60-18.00 kg, 6.75-11.25 kg και 4.95-9.00 kg για τις γυναίκες που ταξινομούνται ως αδύνατες, υπέρβαρες και παχύσαρκες, αντίστοιχα.

Άλλες μεταβλητές

Η ηλικία κύησης υπολογίστηκε από την ημερομηνία της τελευταίας εμμηνορροϊκής περιόδου που αναφέρθηκε κατά την επιστράτευση και επιβεβαιώθηκε χρησιμοποιώντας υπερηχογραφική εξέταση την 12η εβδομάδα της κύησης. Εάν η ηλικία κύησης και η προσδιοριζόμενη τιμή από την εξέταση διέφεραν κατά περισσότερο από 6 ημέρες (12.9% των συμμετεχόντων), υπολογίστηκε και πάλι από το μήκος της στεφανιαίας κοιλίας χρησιμοποιώντας μια μέτρηση υπερήχων (Westerway, Davison et al. 2000).

Η ηλικία, ο ΔΜΣ πριν την εγκυμοσύνη, το επίπεδο εκπαίδευσης, η κοινωνική τάξη, η κατανάλωση ψαριών και το ιστορικό θηλασμού θεωρήθηκαν σημαντικοί παράγοντες συσχέτισης του GWG και των συγκεντρώσεων έμμοων οργανικών ρύπων στο αίμα (Sarcinelli, Pereira et al. 2003, Vizcaino, Grimalt et al. 2011, Glynn, Miller et al. 2012).

Οι εγκυμονούσες ολοκλήρωσαν δύο λεπτομερή ερωτηματολόγια (εβδομάδες 10-13 και 28-32) και παρέιχαν πληροφορίες σχετικά με την ηλικία, την κοινωνική τάξη (που καθορίζεται από μια ευρέως χρησιμοποιούμενη ισπανική προσαρμογή του διεθνούς συστήματος κωδικοποίησης ISCO88) (Vrijheid, Casas et al. 2012), το επίπεδο εκπαίδευσης, το ΔΜΣ πριν την εγκυμοσύνη και το ιστορικό θηλασμού. Πληροφορίες για τη διατροφή συλλέχθηκαν από ένα επικυρωμένο ερωτηματολόγιο με 101 είδη φαγητού, (Vioque, Navarrete-Munoz et al. 2013) κυρίως γαλακτοκομικών, κρέατος, λαχανικών, φρούτων και ψαριών.

Η συνολική κατανάλωση ψαριών περιλάμβανε άπαχα ψάρια, λιπαρά ψάρια, κονσέρβες τόνου, θαλασσινά καθώς και μεταποιημένα ψάρια, μίγμα τηγανητών ψαριών και αποξηραμένα ή καπνιστά ψάρια.



Task Technical Report

Υπάρχουσες πληροφορίες και κενά που καλύφθηκαν

Ελλάδα

Οινόφυτα – Cr(VI)

Σύμφωνα με τα όσα γνωρίζουμε, δεν υπάρχουν συστηματικές μετρήσεις Cr(VI) πριν το 2007. Μέχρι το 2007, τρεις ανεξάρτητες μετρήσεις για εξασθενές χρώμιο είναι διαθέσιμες για την περιοχή των Οινόφυτων. Αυτές περιλαμβάνουν:

- Μία μελέτη του Ινστιτούτου Γεωλογικών και Μεταλλευτικών Ερευνών (IGME 2008) κατά την περίοδο Νοεμβρίου 2007 - Φεβρουαρίου 2008, όπου εντοπίστηκαν 35 δείγματα (από τα 87) που λήφθηκαν από διαφορετικά πηγάδια στην ίδια περιοχή, όπου τα επίπεδα ήταν άνω των 10 µg/l με μέγιστη τιμή τα 156 µg/l.
- Μία μελέτη της Σχολής Γεωλογίας και Γεωπεριβάλλοντος (Ch. Vasilatos, I. Megremi et al. 2008) κατά την περίοδο Σεπτεμβρίου 2008 – Δεκεμβρίου 2008, στην οποία τα επίπεδα Cr(VI) κυμάνθηκαν από 41 έως 53 µg/l σε τρία δείγματα πόσιμου νερού στα Οινόφυτα και
- Μία επαναλαμβανόμενη μέτρηση από το δήμο Οινόφυτων σε πόσιμο νερό κατά την περίοδο Ιουλίου 2007 – Ιουλίου 2010, στην οποία βρέθηκαν 13 μετρήσεις με τιμές μεγαλύτερες των 10 µg/l και με μεγαλύτερη αυτή των 51 µg/l.

Σύμφωνα με τις επίσημες αρχές του Δήμου Οινόφυτων, στις αρχές του 2009 η κύρια παροχή πόσιμου νερού των Οινόφυτων άρχισε να δέχεται νερό από τη λίμνη Μόρνου (δεξαμενή) που αποτελεί μέρος του δικτύου παροχής πόσιμου νερού της πόλης των Αθηνών. Ως εκ τούτου, οι πιο πρόσφατες μετρήσεις του δήμου Οινόφυτων (Ιούνιος 200-Ιούλιος 2010) καταγράφουν σχετικά χαμηλότερα επίπεδα Cr(VI) (<0,01-1,53 µg/l).

Επιπλέον, στη μελέτη που πραγματοποίησαν οι Οικονόμου-Ηλιόπουλος et al. (2011), δείγματα υπογείων υδάτων από τον υδροφόρο ορίζοντα του Ασωπού έδειξαν ευρεία χωρική μεταβλητότητα, που κυμαίνεται από <2 έως 180 ppb Cr [σχεδόν ίδιο με τις τιμές Cr (VI)] παρά τη χωρική τους συσχέτιση. Η παρουσία υπόγειων υδάτων που έχουν υποστεί ρύπανση με Cr (VI) σε βάθη >200m αποδίδεται περισσότερο στην άμεση έγχυση βιομηχανικών αποβλήτων πλούσια σε Cr (VI) παρά στο Cr (VI) που προέρχεται από τον Ασωπό ή από την αλληλεπίδραση μεταξύ υδάτων και πετρωμάτων που φέρουν Cr.

Τα δεδομένα ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης είναι τα κρίσιμα στοιχεία που λείπουν για την εφαρμογή της μεθοδολογίας CROME στη λεκάνη του Ασωπού. Δεδομένου ότι οι συγκεντρώσεις στο περιβάλλον και η πραγματική έκθεση έχουν μειωθεί μετά το 2007, πρέπει να προσδιορίσουμε τα επίπεδα της πρόσφατης καθώς και της προηγούμενης έκθεσης. Για το σκοπό αυτό, θα εφαρμοστεί ένας συνδυασμός δεδομένων βιοπαρακολούθησης, συμπεριλαμβανομένων δειγμάτων ούρων (για την αξιολόγηση των σημερινών επιπέδων έκθεσης), καθώς και δείγματα μαλλιών για την εκτίμηση της επιβάρυνσης από το παρελθόν. Για τους σκοπούς της ανάλυσης, θα συλλεχθούν δείγματα από 20 κατοίκους της περιοχής.

Ασπρόπυργος – PCDDs/PCDFs

Προκειμένου να εκτιμηθεί ο κίνδυνος που σχετίζεται με τις χημικές ουσίες που ανήκουν στην κατηγορία PCDDs/PCDFs και εκπέμπονται κατά τη διάρκεια πυρκαγιάς, ήταν κρίσιμο να εκτιμηθεί η μακροπρόθεσμη εσωτερική έκθεση που σχετίζεται με αυτό το συμβάν. Η ανάγκη αντιμετώπισης της μακροπρόθεσμης έκθεσης συνδέεται με το γεγονός ότι τα PCDDs/PCDFs είναι βιοσυσσωρεύσιμα, με χρόνο ημιζωής περίπου 7,5 ετών στους ανθρώπους. Ως εκ τούτου, είναι κρίσιμο να μεταφραστεί η πραγματική πρόσληψη κατά τη διάρκεια του ατυχήματος (που διήρκεσε για μερικές ημέρες) σε μακροπρόθεσμη (διαρκείας για πολλά χρόνια) εσωτερική έκθεση. Ο μόνος επιστημονικώς ορθός τρόπος για τη μετάφραση αυτών των εξωτερικών δόσεων σε εσωτερική έκθεση στους ιστούς-στόχους διεξήχθη με βιοκινητικά βασισμένα στη



Task Technical Report

φυσιολογία μοντέλα (PBBK). Για να μπορέσει να εκτελεστεί αυτός ο τύπος υπολογισμού, ήταν κρίσιμο να προσδιοριστούν (α) τα επίπεδα έκθεσης στα PCDDs/PCDFs στο υπόβαθρο και (β) η επιπλέον έκθεση λόγω αυτού του τυχαίου συμβάντος.

Για να εκτιμηθεί ο πρόσθετος κίνδυνος που συνεπάγεται η έκθεση στο τυχαίο συμβάν χρησιμοποιώντας την πλατφόρμα INTEGRA χρειάστηκαν τα ακόλουθα δεδομένα:

- Δεδομένα για τη συγκέντρωση των PCDDs/PCDFs στον αέρα κατά τη διάρκεια του τυχαίου συμβάντος, τα οποία ελήφθησαν με διάφορες μετρήσεις PM και ανάλυση των PCDDs/PCDFs σε σωματιδιακή και αέρια φάση.

- Δεδομένα HBM για την εκτίμηση της έκθεσης υποβάθρου στον εκτεθειμένο πληθυσμό. Στην πράξη, τα δεδομένα HBM του τοπικού πληθυσμού που συλλέχθηκαν από μια προηγούμενη μελέτη (πριν από το ατύχημα) χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της ισοδύναμης έκθεσης στο υπόβαθρο που οδηγεί στα αντίστοιχα δεδομένα HBM; η πρόσθετη έκθεση στα μετρούμενα PCDDs/PCDFs προστέθηκε στα επίπεδα υποβάθρου για διάρκεια 6 ημερών.

Θεσσαλονίκη – PM-PAHs

Υπάρχουν πολλά λεπτομερή περιβαλλοντικά δεδομένα που σχετίζονται με τις συγκεντρώσεις PM και τη χημική συσσώρευση. Αυτά τα δεδομένα που ενσωματώθηκαν στα μοντέλα που περιγράφηκαν παραπάνω θα επιτρέψουν την ακριβή εκτίμηση της εξωτερικής και εσωτερικής έκθεσης σε PM. Η έκθεση σε PAHs και, κατά συνέπεια, σε PM, θα επαληθευθεί με μετρήσεις των μεταβολιτών των PAHs στα ούρα. Ιατρικό ιστορικό για τις προαναφερόμενες επιπτώσεις στην υγεία θα ανακτηθεί από την Ελληνική Στατιστική Αρχή και τα νοσοκομεία της ευρύτερης Μητροπολιτικής περιοχής της Θεσσαλονίκης.

Προκειμένου να καλυφθούν τα κενά σε δεδομένα βιοπαρακολούθησης, πραγματοποιήθηκε εκστρατεία δειγματοληψίας το χειμώνα του 2014-2015 στη Θεσσαλονίκη, με στόχο την καταγραφή της επίδρασης της καύσης βιομάζας στην έκθεση σε PM και PAHs. Δείγματα από συνολικά 50 μη καπνιστές ηλικίας 8 έως 64 ετών θα ληφθούν, αντιπροσωπεύοντας μια μεγάλη κατανομή της πόλης. Αυτό καθίσταται απαραίτητο, καθώς οι διαφορές στην έκθεση αναμένεται να βρεθούν με βάση τα επίπεδα των εκτελούμενων δραστηριοτήτων, τις συνθήκες αερισμού, καθώς και την αντίστοιχη κατανομή των επιπέδων PM και PAHs στην πόλη.

Ιταλία

Τεργέστη – Δια-Μεσογειακή μελέτη

Τα υπάρχοντα δεδομένα που προέρχονται από την παρακολούθηση της ιταλικής κοορτής και υποδεικνύουν ότι η εσωτερική συγκέντρωση μετάλλων και μεταλλοειδών σχετίζεται με την νευροψυχολογική ωρίμανση παιδιών ηλικίας 7 ετών, υπογραμμίζουν τη σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ πολλαπλών περιβαλλοντικών εκθέσεων, διαιτητικών παραγόντων και του τρόπου ζωής. Ένα σημαντικό ερώτημα που τίθεται είναι σχετικά με το ιστορικό έκθεσης των παιδιών που εγγράφονται στην παρακολούθηση: Ποιος είναι ο ρόλος της προηγούμενης έκθεσης στα ίδια μέταλλα/μεταλλοειδή στις νευροψυχολογικές εκδηλώσεις σε 7 χρόνια; Ο σχεδιασμός της αρχικής μελέτης RHIME συνίστατο στη συλλογή βιοδειγμάτων από τις μητέρες και τα νεογέννητά τους κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (φλεβικό αίμα και μαλλιά), κατά τη γέννηση (αίμα ομφάλιου λώρου) και 1 μήνα μετά τον τοκετό (μητρικό γάλα). Γενικά, η υπάρχουσα βάση δεδομένων περιείχε αρκετές πληροφορίες προκειμένου να εφαρμοστεί ένα πολυπαραγοντικό μοντέλο λαμβάνοντας υπόψη τους διάφορους παράγοντες που θα μπορούσαν να έχουν επηρεάσει τη νευροψυχολογική λειτουργία στη σχολική ηλικία. Σε αυτές τις βάσεις, για κάθε ένα από τα 200 παιδιά μπορούσαμε να χρησιμοποιήσουμε επίσης διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με τα επίπεδα μετάλλων και στοιχείων σε όλα αυτά τα υποστρώματα. Συνολικά, ελήφθη τελικά μια εικόνα όπου και τα



Task Technical Report

δύο επίπεδα μετάλλων, όπως ο υδράργυρος και ο μόλυβδος, και στοιχεία, όπως ο ψευδάργυρος, το σελήνιο και το αρσενικό σε εμβρυϊκό και νεογνικό στάδιο επηρεάζουν τις νευροψυχολογικές επιδόσεις, όπως αυτές μετρήθηκαν στα 7 χρόνια. Η έκταση καθώς και η κατεύθυνση των επιπτώσεων εξαρτώνται από το είδος του βιολογικού υποστρώματος που αναλύεται και από τον χρόνο μέτρησης (βλ. παραδοτέο 5.2 για λεπτομέρειες).

Ένα πρώτο σημαντικό κενό στη γνώση αφορούσε στο ρόλο των διατροφικών συνηθειών, εκτός από την κατανάλωση ψαριών: ποια άλλα είδη τροφίμων μπορεί να σχετίζονται με την έκθεση των παιδιών σε μέταλλα; Δεν υπάρχουν πρόσφατες ενδείξεις σχετικά με τα επίπεδα μετάλλων στα τρόφιμα στις περιοχές όπου είναι διαθέσιμος ο υπό μελέτη πληθυσμός. Μια μελέτη σχετικά με τα επίπεδα ορισμένων μετάλλων σε ψάρια και θαλασσινά στην Ιταλία δημοσιεύθηκε το 2012 (Pastorelli, Baldini et al. 2012). Ορισμένες πληροφορίες χρήσιμες για την αξιολόγηση αυτού του συγκεκριμένου ζητήματος ενδέχεται να μπορούν να διατεθούν από συνεργάτες στη Σλοβενία και την Κροατία. Ένα ημερολόγιο 3 ημερών για την αξιολόγηση της ποιότητας και της ποσότητας των ειδών διατροφής που καταναλώνονται από τα παιδιά 3 ημέρες πριν από τη νευροψυχολογική εξέταση έχει καταγραφεί κατά την παρακολούθηση, αλλά τα δεδομένα δεν έχουν διατεθεί μέχρι και το τέλος του έργου CROME. Θα έχουμε ενδεχομένως αναλύσει αυτά τα στοιχεία εντός του Ιουνίου 2017. Αυτή η πτυχή είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς ορισμένα παιδιά παρουσίασαν πολύ υψηλή συγκέντρωση αρσενικού (As) στα ούρα. Η συγκέντρωση του As μπορεί να ερμηνευτεί διαφορετικά σε ένα πλαίσιο εκτίμησης κινδύνου εάν προκύψει από έκθεση σε iAs (As (III) και As (V)), μεθυλιωμένο As (MMA και DMA) ή οργανικό As (AsBet και AsChol). Έτσι, η μέτρηση της ολικής συγκέντρωσης As (η οποία περιέχει ανόργανο και οργανικό As) δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά για να εξηγήσει τις βιολογικές και τοξικές επιδράσεις του As.

Ωστόσο, οι συγκεντρώσεις του συνόλου των ειδών As [iAs + DMA + MMA] ξεπέρασαν τα επίπεδα που είναι συμβατά με τα επίπεδα μη εκδήλωσης καρκίνου σε ορισμένα παιδιά (21%). Αυτό το τμήμα του πληθυσμού θα απαιτήσει την κύρια προσοχή. Επιπλέον, πληροφορίες σχετικά με άλλες πηγές τροφίμων, κυρίως την κατανάλωση ρυζιού και νερού, εξακολουθούν να είναι απαραίτητες για να κατανοήσουμε καλύτερα εάν άλλες πηγές ενδέχεται να συμβάλλουν στη συγκέντρωση ανόργανου αρσενικού στα ούρα των παιδιών.

Ένα δεύτερο κενό αφορά την έλλειψη πληροφοριών σχετικά με τις περιβαλλοντικές πηγές έκθεσης σε μέταλλα/μεταλλοειδή, εκτός από τη διατροφή. Ο Περιφερειακός Οργανισμός Προστασίας του Περιβάλλοντος (ARPA) της περιφέρειας Friuli Venezia Giulia εξασφαλίζει συνεχή παρακολούθηση του αέρα και του νερού. Πληροφορίες που αφορούν τα χημικά και μικροβιολογικά χαρακτηριστικά του πόσιμου νερού καθώς και την ατμοσφαιρική ρύπανση, ιδίως όσον αφορά στη συγκέντρωση πτητικών οργανικών ενώσεων, PM10, NO₂ και βενζολίου σε διάφορες περιοχές του δήμου Τεργέστης, είναι διαθέσιμες, αλλά μέχρι στιγμής δεν έχουν συμπεριληφθεί στην ανάλυση δεδομένων. Καθώς είναι διαθέσιμος ο γεωγραφικός εντοπισμός των παιδιών που είναι εγγεγραμμένα στη μελέτη, έχουμε ανακατασκευάσει την έκθεση με αντίστροφη δοσιμετρία έτσι ώστε να υπολογίσουμε την πιθανή συμβολή των περιβαλλοντικών πηγών στα επίπεδα μετάλλων/μεταλλοειδών που μετρήθηκαν στα παιδιά κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης. Η έλλειψη παρακολούθησης της ατμοσφαιρικής ρύπανσης στον δήμο της Τεργέστης δεν μας επέτρεψε να διαφοροποιήσουμε τα επίπεδα έκθεσης των παιδιών μεταξύ των διαφόρων ατμοσφαιρικών ρύπων. Επιπλέον, δεν έχουμε πληροφορίες σχετικά με την εσωτερική ρύπανση.

Ένα τρίτο κενό στη γνώση αφορά στο ζήτημα της γονιδιακής ευαισθησίας: έχει προταθεί ότι σχετικά κοινές γονιδιακές παραλλαγές μπορεί να προκληθούν ακόμη και σε χαμηλή δόση Hg. Το ενδεχόμενο αυτό να είναι ένας παράγοντας που αυξάνει τον κίνδυνο για ένα υποσύνολο παιδιών είναι ένα θέμα που αξίζει να διερευνηθεί περαιτέρω. Καθώς σάλιο έχει συλλεχθεί από κάθε παιδί κατά την αξιολόγηση, σχεδιάζουμε να εκτελέσουμε γονιδιακή ανάλυση αυτού του δείγματος, υπό την προϋπόθεση ότι θα λάβουμε χρηματοδότηση από αιτήσεις επιδότησης.



Task Technical Report

Τέλος, δεδομένου ότι τα παιδιά έχουν αξιολογηθεί σε διαφορετικά στάδια ζωής, υπάρχει η ανάγκη να εντοπιστούν νέα μεθοδολογικά εργαλεία για τον εντοπισμό των αναπτυξιακών τροχιών ώστε να διερευνηθεί η πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ διαφορετικών μετάλλων και μικροθρεπτικών συστατικών και των επιπτώσεων τους στη νευροψυχολογική ανάπτυξη.

Ιταλία

Περιοχή Λάτιο – Επίπεδα μετάλλων σε εφήβους

Ένα πρώτο κενό στη γνώση αναφέρεται στο γεγονός ότι στη μελέτη εφήβων του PROBE ήταν διαθέσιμα μόνο δεδομένα σχετικά με τα αιματολογικά χαρακτηριστικά κάθε ατόμου μαζί με πληροφορίες που προέκυψαν από ερωτηματολόγιο (βλ. παρακάτω). Για το συγκεκριμένο σκοπό της εκστρατείας που προωθήθηκε αρχικά από την AMNI, δε συλλέχθηκαν πληροφορίες σχετικά με την κατάσταση της υγείας των εφήβων.

Ένα άλλο κενό γνώσης ήταν η πιθανή συσχέτιση μεταξύ των πληροφοριών που ελήφθησαν μέσω του ερωτηματολογίου σχετικά με τον τρόπο ζωής και/ή τα δημογραφικά χαρακτηριστικά κάθε εφήβου και της συγκέντρωσης μετάλλων στο αίμα τους. Προκειμένου να καλυφθεί αυτό το κενό, εφαρμόσαμε στατιστικούς υπολογισμούς για να διακρίνουμε τις διαφορές στα επίπεδα μετάλλων, υποδιαιρώντας την ομάδα εφήβων της μελέτης PROBE σύμφωνα με μεταβλητές όπως το φύλο, τον τόπο διαμονής, την κυκλοφοριακή κίνηση, την κοινωνικοοικονομική κατάσταση (SES), την παρουσία οδοντικών σφραγισμάτων και ορθοδοντικής θεραπείας, το παθητικό κάπνισμα, την κατανάλωση ψαριών και γάλακτος.

Μια άλλη έλλειψη πληροφοριών αφορούσε στην πιθανή συσχέτιση μεταξύ των δεδομένων ποιότητας του αέρα στην περιοχή Λάτιο και της περιεκτικότητας του αίματος των εφήβων σε μέταλλα. Για να καλυφθεί αυτό το κενό, ζητήσαμε από την Περιφερειακή Αρχή Περιβάλλοντος (ARPA) της περιφέρειας του Λάτιο τα επίπεδα ορισμένων δεικτών ποιότητας του αέρα, όπως βενζόλιο, CO, NO₂, NO_x, O₃, PM₁₀, PM_{2.5}, που συλλέχθηκαν κατά την ίδια περίοδο δειγματοληψίας βιολογικών δειγμάτων από σταθμούς κοντά, όσο το δυνατόν περισσότερο, στον τόπο διαμονής κάθε εφήβου.

Επίσης, η συσχέτιση μεταξύ της περιεκτικότητας του νερού και του αίματος των εφήβων σε μέταλλα είναι ελλιπής. Για να καλυφθεί το κενό αυτό, ζητήσαμε από την Περιφερειακή Αρχή Περιβάλλοντος (ARPA) της Περιφέρειας Λάτιο τα επίπεδο συγκέντρωσης As στο πόσιμο νερό της περιοχής όπου ζούσαν οι έφηβοι. Μόλις συλλέχθηκαν αυτά τα δεδομένα, εφαρμόσαμε μοντέλα που περιλάμβαναν τα επίπεδα μετάλλων στο αίμα των εφήβων, τον τρόπο ζωής των εφήβων, περιβαλλοντικά δεδομένα (νερό, κυκλοφοριακή κίνηση, έδαφος, αέρα) και δεδομένα τοποθεσίας.

Σλοβενία

Δεδομένα βιοπαρακολούθησης σε εθνικό επίπεδο

Υπάρχοντα δεδομένα από το εθνικό πρόγραμμα ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης περιλαμβάνουν μετρήσεις συγκεκριμένων στοιχείων και οργανικών ρύπων σε βιολογικά δείγματα:

- Αίμα (γυναίκες): Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Se (επιπλέον στοιχεία: αιματογράφημα, κρεατινίνη, TSH)
- Αίμα (άνδρες): Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Se, οργανοχλωρικά φυτοφάρμακα, PCBs (28, 52, 101, 138, 153, 180) (επιπλέον στοιχεία: αιματογράφημα, τριγλυκερίδια, χοληστερόλη, κρεατινίνη, TSH)
- Μητρικό γάλα: Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Se, οργανοχλωρικά φυτοφάρμακα, PCBs (28, 52, 101, 138, 153, 180) (επιπλέον στοιχεία: τριγλυκερίδια, χοληστερόλη)
- Ούρα: Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Se (επιπλέον στοιχεία: δείκτες νεφρικής λειτουργίας, κρεατινίνη)
- Μαλλιά: Ολικός Hg



Task Technical Report

Τα ακόλουθα δεδομένα συλλέχθηκαν με τη χρήση ερωτηματολόγιων:

- Ηλικία, σωματικό βάρος και ύψος, εκπαίδευση, απασχόληση
- Βασικά χαρακτηριστικά της κατοικίας: τύπος κτιρίου, έτος κατασκευής της κατοικίας, τύπος θέρμανσης, τύπος παροχής νερού, κυκλοφοριακή πυκνότητα,
- Κατάσταση υγείας: ενδεχόμενη ασθένεια, φάρμακα, αριθμός γεμισμάτων αμαλγάματος,
- Τρόπος ζωής και διατροφικές συνήθειες: κάπνισμα, παθητικό κάπνισμα, χρήση ηλεκτρονικών υπολογιστών, χόμπι, κατανάλωση λαχανικών, φρούτων, ξηρών καρπών, γάλακτος, τυριών, αυγών, πουλερικών, κρέατος, ψαριών και θαλασσινών, τσάι, καφέ, αλκοόλ, τύπος μαγειρικού ελαίου, ημερήσια κατανάλωση νερού, κατανάλωση συμπληρωμάτων
- Ερωτήσεις σχετικά με την εγκυμοσύνη και την περίοδο γαλουχίας: τυχόν προβλήματα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, κάπνισμα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, πρόσληψη αλκοόλ, θηλασμός, φύλο του μωρού, βάρος κατά τη γέννηση, τρέχον βάρος.

Περιβαλλοντικά και βοηθητικά δεδομένα που λαμβάνονται στα πλαίσια του CROME:

Τρεις κύριες ομάδες βοηθητικών δεδομένων αναγνωρίστηκαν και συλλέχθηκαν: 1) πληροφορίες που περιγράφουν την περιβαλλοντική κατάσταση, 2) πληροφορίες σχετικά με την έκλυση ρύπων από διάφορες πηγές, και 3) στοιχεία που αφορούν στα δομικά υλικά της κατοικίας των συμμετεχόντων στην εκστρατεία ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης.

- Ποιότητα του πόσιμου νερού σε 10 τοποθεσίες σε ολόκληρη τη Σλοβενία (Sb, As, Cu, Ba, Cd, Cr, Ni, V, Pb, Co, Al, Mn, Mo, Fe,
- Ποιότητα του αέρα: βιοδείκτες (As, Cd, Cu, Hg, Pb, Zn, Mn και Se σε βρύα *Hypnum cupressiforme* σε 102 σημεία σε όλη τη Σλοβενία), δεδομένα αέριας ρύπανσης από το δίκτυο παρακολούθησης (O₃, PM_{2.5} και PM₁₀)
- Γεωχημική σύνθεση του εδάφους (Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, P, Ti, Ba, Cd, Cr, Cu, La, Zr, και Hg)
- Εκλύσεις αζώτου και φωσφόρου
- Δομικά υλικά: αποστάσεις σε τρεις τύπους οδών σύμφωνα με την ταξινόμηση στη Σλοβενία (λεωφόρος/αυτοκινητόδρομος, κύριοι και περιφερειακοί δρόμοι) και μήκος όλων των οδών (σε μέτρα) σε τρεις ζώνες προστασίας (50, 100 και 500m); περιοχή (σε τετραγωνικά μέτρα) τριών χαρακτηριστικών χρήσεων γης σε απόσταση 500μ. από τη διεύθυνση κατοικίας κάθε συμμετέχοντα: CLC_3xx (κλάσεις κάλυψης γης Corine 3.1 + 3.2 + 3.3), CLC_Urban_green (κλάσεις κάλυψης γης Corine 2.1 + 2.2) και Fields_gardens

Η εσωτερική έκθεση σε επιλεγμένα στοιχεία που εντοπίστηκαν στον πληθυσμό της Σλοβενίας, όπως προσδιορίστηκε από την αναφερθείσα ανάλυση δεδομένων, ήταν αποτέλεσμα των καθοριστικών παραγόντων του τρόπου ζωής, ιδιαίτερα για το Cd (κάπνισμα και δίαιτα) και το Hg (κατανάλωση ψαριών και σφραγίσματα αμαλγάματος), και της περιβαλλοντικής έκθεσης, η οποία ανησυχεί ιδιαίτερα την περιοχή της κοιλάδας Mezica (Pb) και την πόλη Idrija με τα πρώην ορυχεία εξόρυξης υδραργύρου (Hg). Η σύνδεση των δεδομένων ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης και των περιβαλλοντικών βάσεων δεδομένων επιβεβαίωσε τη γεωπεριβαλλοντική φύση της έκθεσης σε Pb και Hg στις δύο περιπτώσεις, ενώ η αγροτική περιοχή που σχετίζεται με το Cd δεν συνδέεται με δραστηριότητες που σχετίζονται με τα τεχνητά λιπάσματα. Εκτός από την έκθεση σε Pb που σχετίζεται με τη διάβρωση, η δημόσια παροχή νερού φαίνεται να αποτελεί σημαντική πηγή Pb (και επίσης Mn). Ως πιθανή πηγή έκθεσης σε Pb στο αστικό περιβάλλον, αποκαλύφθηκε η εκπομπή σωματιδίων από τις οικιακές πηγές και τους δρόμους.

Δια – Μεσογειακή μελέτη

Η εσωτερική έκθεση της κοόρτης στην περιοχή της Μεσογείου περιλάμβανε επίπεδα Hg, Cd, Pb, As, Se, Cu, Zn και Mn και παρουσίασε χαμηλή έως μέτρια εσωτερική έκθεση στα παιδιά και γενικά επαρκή



Task Technical Report

κατάσταση στοιχείων. Κύρια πηγή έκθεσης σε Hg ήταν η κατανάλωση ψαριών, ωστόσο στους πληθυσμούς της Σλοβενίας τα σφραγίσματα αμαλγαμάτων ήταν επίσης σημαντική πηγή. Η αξιολόγηση Bayley-III σε ηλικία 18 μηνών δεν αποκάλυψε δυσμενείς επιδράσεις στη γνωσιακή και κινητική ανάπτυξη, ωστόσο παρατηρήθηκε κάποια μείωση της κινητικής ανάπτυξης με την αύξηση της έκθεσης σε Hg κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης.

Ακολουθώντας τη μεθοδολογία CROME, έγινε ανάλυση της αλληλουχίας σχετικών γονιδιακών πολυμορφισμών και μεταξύ των πολυμορφισμών που αναλύθηκαν, η απολιποπρωτεΐνη E έδειξε κάποιες διαφορές στην εξεταζόμενη σχέση μεταξύ της εσωτερικής έκθεσης και της νευροαναπτυξιακής έκβασης: βρήκαμε αρνητική συσχέτιση μεταξύ των γνωσιακών βαθμολογιών και της έκθεσης σε Hg στους μεταφορείς της απολιποπρωτεΐνης E4 αλλά όχι σε άλλους πολυμορφισμούς (στοιχεία για τη σλοβενική και την κροατική κοορτή).

Επαναξιολογώντας τα παιδιά ηλικίας 7-8 ετών, διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης Hg στα μαλλιά ή το αίμα και των γνωσιακών βαθμολογιών, όπως εκτιμήθηκαν από την αξιολόγηση WISC (στοιχεία από τη σλοβενική και ιταλική ομάδα), αλλά και χειρότερη συμπεριφορά (περισσότερο άγχος) με υψηλότερα επίπεδα Hg (στοιχεία ιταλικής ομάδας). Οι ενώσεις θα επανεξεταστούν περαιτέρω μόλις ολοκληρωθεί η παρακολούθηση και της κροατικής ομάδας. Έχοντας επαρκές μέγεθος δειγμάτων, αυτό θα επιτρέψει τη μοντελοποίηση παλινδρόμησης χρησιμοποιώντας διαφορετικούς γονότυπους προερχόμενοι από διαφορετικά φύλα.

Εκτός από την απολιποπρωτεΐνη, η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων Hg και των βαθμολογιών WISC θα χρησιμοποιηθούν διαφορετικές παραλλαγές στα ακόλουθα γονίδια που έχουν μέχρι τώρα αναλυθεί για τον πληθυσμό μελέτης στη Σλοβενία: μεταλλοθειονίνες, αρσενομεθυλοτρανσφεράσες, αφυδατάση δέλτα-αμινολεβουλικού οξέος, υποδοχέας βιταμίνης D, σεληνοπρωτεΐνη P και ρεδοκτάση θειορεδοξίνης.

Λόγω της καλής συμφωνίας μεταξύ της εσωτερικής δόσης Hg και της συχνότητας κατανάλωσης ψαριών, τεκμαίρεται ότι η πηγή έκθεσης σε Hg στον πληθυσμό της μελέτης είναι κυρίως τα ψάρια, αλλά δεν είναι απολύτως σαφές ποια είναι η συμβολή της έκθεσης σε ανόργανο Hg στη νευροανάπτυξη. Η ανάλυση ειδών σε βιολογικά δείγματα που βρίσκονται σε εξέλιξη θα βοηθήσει να αποκαλυφθεί αυτή η επίδραση.

Ισπανία

Μελέτη Σαμπαδέλ (Sabadell) – Έκθεση σε μέταλλα

Η μέση ηλικία των μητέρων κατά την τελευταία εμμηνορροϊκή περίοδο ήταν τα 31 έτη, με εύρος μεταξύ 20 και 40 ετών. Ο μέσος δείκτης μάζας σώματος πριν από την εγκυμοσύνη ήταν 23,77 kg/m² (τυπική απόκλιση 4,53 kg/m², διάμεσος 22,44 kg/m², εύρος 16,69-40,77 kg/m²). Οι υπέρβαρες και οι παχύσαρκες γυναίκες ανήλθαν σε 18,1% και 8,4% αντίστοιχα. Το ποσοστό των μητέρων με ένα βρέφος ήταν 49%, ενώ το 41% είχε 2 βρέφη και το 10,2% είχε περισσότερα από δύο βρέφη (Fort, Cosin-Tomas et al. 2014).

Τα Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cd, Cs και Pb ανιχνεύθηκαν σε περισσότερο από 90% των δειγμάτων, ενώ τα Co και Sb ανιχνεύθηκαν σε περισσότερα από 65% στο πρώτο και στο τρίτο τρίμηνο (Fort, Cosin-Tomas et al. 2014). Το Tl ήταν το μόνο στοιχείο που ανιχνεύθηκε σε λιγότερο από 20% των δειγμάτων. Οι διαφορές στις συγκεντρώσεις μετάλλων μεταξύ των δειγμάτων ούρων που συλλέχθηκαν και στις δύο περιόδους ήταν στατιστικά σημαντικές για όλα τα μέταλλα εκτός από τα Ni, As, Tl και Pb (διάμεσες τιμές: 32 (1η) /35 (3η) μg/g κρεατινίνης για As, 3,9 /3,9 για το Ni, 0,14 /0,13 για Tl, 3,8 /3,9 για Pb). Οι συγκεντρώσεις Co, Cu και Zn ήταν υψηλότερες κατά τη διάρκεια του τρίτου τριμήνου (μέσες τιμές: 0,45 (1η) /1,3 (3η) μg/g κρεατινίνης για Co, 12 /15 για Cu, 256/290 για Zn). Το αντίθετο βρέθηκε για τις συγκεντρώσεις Mo, Se, Cd, Sb και Cs (μέσες τιμές: 55 (1η) /44 (3η) μg/g κρεατινίνης για Mo, 10 /8,7 για Se, 0,61 /0,54 για Cd 0,36 /0,28 για Sb και 8,0 /6,8 για Cs).



Task Technical Report

Σύμφωνα με αυτές τις διαφορές, η σύγκριση των μεμονωμένων συγκεντρώσεων έδειξε ότι περισσότερες μητέρες είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις Se, Mo, Cd, Sb, Cs και Tl στο πρώτο από ότι στο τρίτο τρίμηνο (53-64%) (Fort, Cosin-Tomas et al. 2014). Από την άλλη πλευρά, περισσότερες μητέρες εμφάνισαν υψηλότερες συγκεντρώσεις Co, Ni, Cu και Zn στο τρίτο σε σχέση με το πρώτο τρίμηνο (55-82%). Οι λόγοι συγκέντρωσης μεταξύ του τρίτου και του πρώτου τριμήνου ήταν σύμφωνοι με αυτές τις παρατηρούμενες διαφορές. Τα Co, Cu και Zn έδειξαν υψηλότερες αναλογίες μέσης συγκέντρωσης τρίτου-πρώτου τριμήνου ενώ τα Mo, Se, Cd και Sb είχαν χαμηλότερες.

Οι συγκεντρώσεις του πρώτου και του τρίτου τριμήνου όλων των μετάλλων είχαν σημαντική συσχέτιση. Οι συντελεστές Spearman κυμάνθηκαν μεταξύ 0,16 (Mo) και 0,60 (Zn). Ο βαθμός σπουδαιότητας αυτών των συσχετίσεων ήταν $p < 0,001$ στις περισσότερες περιπτώσεις (Co, Ni, Zn, Se, As, Cd, Sb, Cs και Pb) και $p < 0,01$ σε άλλες (Cu, Mo) (Fort, Cosin-Tomas et al. 2014).

Έκθεση σε αλογονωμένες ενώσεις

Οι συγκεντρώσεις των οργανοχλωρικών ρύπων στα δείγματα πλάσματος του ομφάλιου λώρου σε νεογνά ήταν τουλάχιστον μία τάξη μεγέθους υψηλότερη από εκείνη των PBDEs (Vizcaino, Grimalt et al. 2014). Το 4,4'-DDE ήταν το παρασιτοκτόνο που βρέθηκε σε υψηλότερη συγκέντρωση (διάμεσος = 180 ng/g λιπιδίου) και παρατηρήθηκε στο 99,7% των δειγμάτων, ακολουθούμενο από το HCB (διάμεση συγκέντρωση 50 ng/g λιπιδίου) στο 97,6% των δειγμάτων. Το β-HCH ήταν το κυρίαρχο ισομερές HCH (διάμεσος = 17 ng/g λιπίδιο, 90,5% των δειγμάτων), ενώ το PCB153 ήταν το κυρίαρχο συζυγές PCB (διάμεσος = 47 ng/g λιπιδίου) ακολουθούμενο από το PCB138 (διάμεσος = 31 ng/g λιπιδίου) και το PCB180 (διάμεσος = 27 ng/g λιπιδίου). Τα συνολικά BDEs στο πλάσμα του ομφάλιου λώρου κυμάνθηκαν από <LOD έως 816 ng/g λιπιδίου με διάμεση τιμή 3,9 ng/g λιπιδίου. Το BDE153 ήταν το συχνότερο συζυγές (43%) ακολουθούμενο από το BDE47 (36,5%). Το BDE209 ανιχνεύθηκε μόνο στο 14,9% των δειγμάτων, αλλά εκείνο που βρέθηκε σε υψηλότερη συγκέντρωση κατά την ανίχνευση (μέση τιμή = 4,1 ng/g λιπιδίου).

Η μέση ηλικία των μητέρων ήταν $31,4 \pm 4,2$ έτη. Το 40,2% των μητέρων είχαν πανεπιστημιακό πτυχίο, ποσοστό παρόμοιο (43,3%) με όσες είχαν ολοκληρώσει μόνο τη δευτεροβάθμια εκπαίδευση. Το 55% των μητέρων ανήκε στις χαμηλότερες κοινωνικές ομάδες. Οι μητέρες με ένα βρέφος αποτέλεσαν τη μεγαλύτερη ομάδα (63,1%) και η μέση ηλικία κύησης ήταν $39,6 \pm 1,4$ εβδομάδες. Οι κατηγορίες ΔΜΣ έδειξαν ότι το 21,9% των μητέρων ήταν υπέρβαρες και το 6,5% ήταν παχύσαρκες πριν από την εγκυμοσύνη. Κατά μέσο όρο, το βάρος κύησης ήταν $14,1 \pm 5,2$ kg (εύρος: -2,9 kg - 34 kg). Υπήρξε μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ του βάρους κύησης και του ΔΜΣ πριν από την εγκυμοσύνη (Spearman $r = -0,16$ $p < 0,01$). Οι περισσότερες μητέρες δεν συμμορφώθηκαν με τις κατευθυντήριες γραμμές του IOM. Το 55% των υπέρβαρων και παχύσαρκων γυναικών υπερέβη το συνιστώμενο βάρος κύησης σε σύγκριση με το 37% των γυναικών με κανονικό ή χαμηλό βάρος. Οι αναλογίες των γυναικών που πήραν λιγότερο βάρος κύησης από το συνιστώμενο εύρος τιμών ήταν 9%, 30%, 14% και 20% για τις γυναίκες με χαμηλό βάρος, κανονικό βάρος, τις υπέρβαρες και τις παχύσαρκες, αντίστοιχα.

Διπαραγοντική ανάλυση

Έχουν παρατηρηθεί σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ μητρικών καθοριστικών παραγόντων και ορισμένων αλλά όχι όλων των μετρούμενων έμμονων οργανικών ρύπων (POPs) (Vizcaino, Grimalt et al. 2014). Βρέθηκαν αρνητικές συσχετίσεις μεταξύ όλων των POPs που αναλύθηκαν και του βάρους κύησης. Κατά τη χρήση των κατηγοριών βάρους του IOM, οι μητέρες με ανεπαρκές βάρος κύησης είχαν παιδιά με υψηλότερες συγκεντρώσεις POPs στο πλάσμα του ομφάλιου λώρου από ό,τι οι μητέρες με συνιστώμενο ή μεγαλύτερο βάρος κύησης. Παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ του ΔΜΣ πριν από την εγκυμοσύνη και των συγκεντρώσεων HCB και β-HCH. Όλες οι συγκεντρώσεις οργανοχλωρικών ρύπων στο πλάσμα του ομφάλιου λώρου, αλλά όχι των PBDEs, είχαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την ηλικία της μητέρας. Η κατανάλωση ψαριών από τις μητέρες ήταν το μόνο διατροφικό στοιχείο που συνδέεται με τα POPs, συμπεριλαμβανομένων των υψηλότερων συγκεντρώσεων PCBs, συνολικών BDEs, HCB και β-HCH στα



Task Technical Report

νεογνά με την κατανάλωση ψαριών από τις μητέρες πάνω από το διάμεσο. Τα συνολικά επίπεδα των PCBs και HCB ήταν υψηλότερα στα νεογνά μητέρων με υψηλό επίπεδο εκπαίδευσης (πανεπιστημιακού βαθμού) από ότι σε αυτά μητέρων με δευτεροβάθμια ή πρωτοβάθμια εκπαίδευση, ενώ τα επίπεδα 4,4'-DDE ήταν υψηλότερα στα νεογνά μητέρων με πρωτοβάθμια εκπαίδευση. Όσον αφορά στην κοινωνική τάξη, τα υψηλότερα επίπεδα PCBs και HCB βρέθηκαν σε παιδιά μητέρων της υψηλότερης κοινωνικής τάξης (ομάδες στις οποίες δεν παρατηρήθηκε συγκεκριμένη τάση για τους άλλους ρυπαντές που αναλύθηκαν). Σημαντικές συσχετίσεις με το ιστορικό διατροφής των μητέρων παρατηρήθηκαν μόνο για τα συνολικά PCBs.

Πολυπαραγοντική ανάλυση

Η συσχέτιση μεταξύ του βάρους κύησης και των συγκεντρώσεων POPs στο πλάσμα του ομφάλιου λώρου βρέθηκε επίσης αντίστροφη στα πολυπαραγοντικά μοντέλα (Vizcaino, Grimalt et al. 2014). Συγκεκριμένα, το βάρος κύησης είχε αντιστρόφως ανάλογη σχέση με PCBs, το 4,4'-DDE, το β-HCH και το HCB, ενώ δε βρέθηκε σχέση με τα BDEs και το 4,4'-DDT. Όσον αφορά τον ΔΜΣ πριν από την εγκυμοσύνη, μόνο οι συγκεντρώσεις HCB στο πλάσμα του ομφάλιου λώρου σε μητέρες με χαμηλό βάρος έδειξαν σημαντική αρνητική συσχέτιση, ενώ όλες οι συγκεντρώσεις οργανοχλωρικών ρύπων ήταν χαμηλότερες. Άλλοι στατιστικώς σημαντικοί προγνωστικοί δείκτες των συγκεντρώσεων POPs στο πλάσμα ομφάλιου λώρου ήταν η ηλικία (PCBs, 4,4'-DDT, HCB και β-HCH), το επίπεδο εκπαίδευσης (4,4'-DDE) και η κατανάλωση ψαριών (PCBs, BDEs, HCB και β-HCH). Η κοινωνική τάξη και ο θηλασμός δεν αποτέλεσαν σημαντικούς παράγοντες πρόβλεψης στα πολυπαραγοντικά μοντέλα.

Όταν οι κατηγορίες ΔΜΣ πριν από την εγκυμοσύνη για τις μητέρες ενσωματώθηκαν στα μοντέλα, οι συσχετίσεις μεταξύ βάρους κύησης και συγκέντρωσης POPs εμφανίστηκαν να διαφέρουν μεταξύ των κατηγοριών ΔΜΣ. Τα νεογνά των μητέρων με χαμηλό βάρος τείνουν να εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα οργανοχλωρικών ενώσεων με αυξανόμενο βάρος κύησης. Αυτό ήταν αντίθετο με τα ευρήματα στα νεογνά από μητέρες με κανονικό βάρος, υπέρβαρες ή παχύσαρκες, όπου εμφανίζονται χαμηλότερα επίπεδα οργανοχλωρικών ρύπων με αυξανόμενο βάρος κύησης. Τα νεογνά των μητέρων με χαμηλό βάρος τείνουν να έχουν χαμηλότερα επίπεδα PBDEs με αυξανόμενο βάρος κύησης. Η ομαδοποίηση με βάση την κατηγορική μεταβλητή του ΙΟΜ έδειξε ότι οι προσαρμοσμένες γεωμετρικές μέσες συγκεντρώσεις POPs του πλάσματος του ομφάλιου λώρου των νεογνών από μητέρες με ανεπαρκές βάρος κύησης ήταν υψηλότερες από εκείνες στα νεογνά των οποίων οι μητέρες είχαν το συνιστώμενο βάρος κύησης. Δεν διαπιστώθηκαν διαφορές μεταξύ των μητέρων με συνιστώμενο ή υπερβολικό βάρος κύησης. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι οι αρνητικές συσχετίσεις μεταξύ POPs και βάρους κύησης, που έχει μοντελοποιηθεί ως συνεχής μεταβλητή, μπορεί να οφείλονται στη θετική συσχέτιση μεταξύ των POPs και της ανεπαρκούς αύξησης βάρους κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης.

Ανάλυση Ευαισθησίας

Η μέθοδος υπολογισμού του βάρους κύησης twGWG39 έδειξε καλή συμφωνία μεταξύ των προβλεπόμενων και των πειραματικών τιμών twGWG39 όταν υπήρχε κάποιο μέτρο διαθέσιμο για το τρίτο τρίμηνο (Vizcaino et al., 2014). Τα εκτιμώμενα σφάλματα στους υπολογισμούς του twGWG39 παρουσίαζαν μείωση καθώς η εβδομάδα κύησης της τελευταίας μέτρησης βάρους αυξανόταν, με διάμεσες σχετικές εκατοστιαίες διαφορές στις προβλεπόμενες σε σχέση με τις πειραματικές τιμές να είναι ίσες με 6% για το twGWG36 (n = 123), 7,9% για το twGWG33 (n = 52), 9,5% για το twGWG30 (n = 12) και 12,3% για το twGWG27 (n = 7). Δε βρέθηκαν σημαντικές αλλαγές στα αποτελέσματα με αποκλεισμό των πρόωρων γεννήσεων (n = 9) ή με εξαίρεση των μητέρων που δεν έκαναν μετρήσεις βάρους μετά από 28,5 εβδομάδες κύησης (n = 7). Οι συσχετισμοί μεταξύ του βάρους κύησης και των συγκεντρώσεων POPs βρέθηκαν συγκρίσιμοι στην περίπτωση που εξαιρέθηκε ο ΔΜΣ πριν από την εγκυμοσύνη της μητέρας ή η συγκέντρωση των POPs στις μητέρες από τις μεταβλητές του μοντέλου ή υπολογίστηκε η διαφορά στις συγκεντρώσεις POPs στα νεογνά σε σχέση με αυτές στις μητέρες. Συνολικά, η συσχέτιση του βάρους



Task Technical Report

κύησης με τις μεμονωμένες ενώσεις των χημικών ομάδων PCBs και PBDEs βρέθηκε να είναι συνεπής με τη συσχέτιση του βάρους κύησης με τα συνολικά PCBs και BDEs.

Ανάλυση των αποτελεσμάτων και των συστάσεων για τις απαντήσεις χάραξης πολιτικής

Συστάσεις ειδικές ανά χώρα

Ελλάδα

Οινόφυτα – Cr(VI)

Τα επίπεδα ούρων κυμαίνονται μεταξύ 0,1 και 1,7 (μέση τιμή 0,7) $\mu\text{g/L}$, ενώ τα επίπεδα των τριχών κυμαίνονται μεταξύ 0,1 και 4,2 (μέση τιμή 1,3) $\mu\text{g/g}$. Ελαφρώς υψηλότερες τιμές παρατηρήθηκαν σε ενήλικες, ενδεχομένως, σχετιζόμενες με υψηλότερες ποσότητες κατανάλωσης νερού βρύσης. Τα επίπεδα Cr στα μαλλιά έδειξαν μεγαλύτερη μεταβλητότητα από ότι τα αντίστοιχα επίπεδα ούρων, ωστόσο, αυτό είναι κάπως αναμενόμενο. Η έλλειψη πολύ ευαίσθητων μεθόδων και το περιορισμένο βάρος του χρησιμοποιούμενου υλικού (50-200 mg αντί για 2-5 ml για βιολογικά υγρά όπως ούρα και αίμα ή ακόμη και 10 ml, όπως συμβαίνει με το μητρικό γάλα) δρουν ως περιοριστικοί παράγοντες για την ευρεία χρήση αυτής της μέτρησης. Επιπλέον, οι παράμετροι όπως, η εξωτερική εναπόθεση χημικών ουσιών ή η βαφή μαλλιών, έχουν τροποποιηθεί ως πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες.

Η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων Cr στα ούρα και τα μαλλιά είναι αρκετά καλή υποδεικνύοντας ότι αμφότερα τα δείγματα φαίνονται ικανά να συλλάβουν τη μακροχρόνια έκθεση που σχετίζεται με την έκθεση σε πολλαπλές πηγές Cr.

Συνολικά, η έκθεση στο Cr (VI) στη λεκάνη του Ασωπού φαίνεται να είναι χαμηλότερη από τα προηγούμενα χρόνια, ως αποτέλεσμα των αντίμετρων που σχετίζονται με το νερό της βρύσης. Αυτό επιβεβαιώθηκε, επίσης, από τα χαμηλά επίπεδα Cr που εντοπίστηκαν στα διάφορα βιολογικά δείγματα του σχετικού πληθυσμού.

Κύριες συστάσεις:

- Αυστηρή ρύθμιση σχετικά με τη διάθεση των αποβλήτων
- Αλλάζοντας την τοπική παροχή νερού
- Περιοδικός έλεγχος της ποιότητας του πόσιμου νερού
- Απαγόρευση της άρδευσης και κατανάλωσης πόσιμου νερού από υπόγεια πηγάδια
- Χρήση ούρων και τριχών ως βιολογικά δείγματα για την εκτίμηση της μακροχρόνιας έκθεσης στο Cr
- Εφαρμογή ενός εθνικού προγράμματος HBM για την εκτίμηση της εσωτερικής έκθεσης για βασικούς ρύπους που καλύπτουν γεωγραφικά το μεγαλύτερο μέρος της Ελλάδας

Ασπρόπυργος – PCDDs/PCDFs

Οι ανώτερες οριακές τιμές TEQ υπολογίστηκαν για κάθε κατηγορία ομοειδών παραγόντων, υποθέτοντας ότι, οι μη ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις των μεμονωμένων ομοειδών ουσιών είναι ίσες προς το αντίστοιχο όριο ανίχνευσης. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης των 60 δειγμάτων έδειξαν ότι, η έκθεση σε αναθυμιάσεις από PCDDs / PCDFs είχε ως αποτέλεσμα επίπεδα έκθεσης υψηλότερα από εκείνα που εντοπίστηκαν σε προηγούμενες μελέτες, υποδεικνύοντας έτσι ότι, η πρόσληψη του πληθυσμού ήταν σημαντική. Αυτά τα αποτελέσματα θα μπορούσαν να αποτελέσουν τη βάση για περαιτέρω ανάλυση της τοξικοκινητικής συμπεριφοράς, καθώς και για την εκτίμηση του κινδύνου για τον καρκίνο.



Task Technical Report

Η ανάλυση της κατανομής των επιπέδων των PCDDs/PCDFs στο αίμα μεταξύ παιδιών και ενηλίκων, καθώς και μεταξύ εκτεθειμένου και μη εκτεθειμένου πληθυσμού έδειξε ότι το τυχαίο συμβάν είχε ως αποτέλεσμα σημαντική έκθεση στον πληθυσμό, αυξάνοντας τις συγκεντρώσεις αίματος των ενηλίκων σε σχεδόν διπλάσια επίπεδα. Αν και η αντίστοιχη αλλαγή δεν μπόρεσε να εντοπιστεί στα παιδιά λόγω έλλειψης προηγούμενων μετρήσεων, αναμένεται ότι το τυχαίο συμβάν θα έχει υψηλότερη συμβολή στα παιδιά, καθώς οι νεότερες γενιές έχουν πάντοτε χαμηλότερα εσωτερικά επίπεδα σε PCDDs/PCDFs. Ωστόσο, αυτή η υπόθεση θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω μέσω της τοξικοκινητικής ανάλυσης αυτών των δεδομένων και της ανάπτυξης ενός παράγοντα κλίσης εσωτερικής δοσμετρίας σχετιζόμενου με τον κίνδυνο καρκίνου.

Βασικές συστάσεις:

- Κατανομή των εγκαταστάσεων ανακύκλωσης εκτός κατοικημένων περιοχών
- Περιορισμός της ποσότητας του υλικού προς ανακύκλωση σύμφωνα με τη νομοθεσία
- Εφαρμογή ενός εθνικού προγράμματος ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM) για την αξιολόγηση της εσωτερικής έκθεσης σε βασικούς ρύπους που καλύπτουν γεωγραφικά το μεγαλύτερο μέρος της Ελλάδας

Θεσσαλονίκη PM-PAHs

Από τα αποτελέσματα της ανάλυσης των δειγμάτων ούρων διαπιστώθηκε ότι, τα επίπεδα 1-OH πυρενίου ούρων κυμαίνονταν από 0,05 έως 0,80. Βέβαια, αξίζει να σημειωθεί ότι, τα υψηλότερα επίπεδα 1-OH πυρενίου εντοπίστηκαν στα παιδιά. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι, η πραγματική πρόσληψη (ομαλοποιημένο σωματικό βάρος) σε PAHs είναι υψηλότερη στα παιδιά. Οι διαφορές των κατανομών και των δύο ηλικιακών ομάδων εξηγούνται από το υψηλότερο ποσοστό εισπνοής (κανονικοποιημένο σωματικό βάρος) των παιδιών, ως αποτέλεσμα του υψηλότερου μεταβολισμού, καθώς και των πιο εντατικών δραστηριοτήτων που εκτελούνται καθημερινά από τα παιδιά. Επιπλέον, τα παιδιά μετακινούνται συχνότερα από τους ενήλικες, επομένως ξοδεύουν περισσότερο χρόνο σε εξωτερικούς χώρους, όπου τα επίπεδα των σωματιδίων είναι συνήθως υψηλότερα.

Αξίζει, ακόμη, να επισημανθεί ότι, τα υψηλότερα επίπεδα 1-OH πυρενίου εντοπίστηκαν στη δυτική περιοχή της πόλης σε σχέση με την περιοχή του ανατολικού κέντρου. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν επίσης τα ευρήματα της προηγούμενης ανάλυσης του ατμοσφαιρικού αέρα για PAHs στη μητροπολιτική περιοχή της Θεσσαλονίκης, όπου η έκθεση σε PAHs TEQ ήταν υψηλότερη στη δυτική πλευρά. Ακόμη, πρέπει να σημειωθεί ότι, υψηλότερη διαφορά (σχεδόν 3 φορές) από το πραγματικό TEQ έχει ταυτοποιηθεί στις δύο περιοχές, ενώ η διαφορά στα επίπεδα 1-OH πυρενίου είναι χαμηλότερη (σχεδόν δύο φορές). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το TEQ υπολογίζεται λαμβάνοντας υπόψη της τοξικότητας των επιμέρους PAHs που εντοπίζονται στα σωματίδια του αέρα του περιβάλλοντος, επομένως, κάθε ένωση συνεισφέρει στο συνολικό TEQ μέσω ενός κλάσματος που ορίζεται από το TEF. Αντιθέτως, το 1-OH πυρένιο είναι ένας μεταβολίτης που υποδεικνύει το συνολικό βάρος της έκθεσης σε PAHs, ανεξαρτήτως της τοξικότητάς τους.

Τα πρόσθετα δεδομένα σχετικά με το περιβάλλον και την βιοπαρακολούθηση που ελήφθησαν στο πλαίσιο του CROME-LIFE, παρείχαν πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με τη σχέση μεταξύ έκθεσης και επιδράσεων, για πληθυσμό έντονα εκτεθειμένο σε σωματίδια από την καύση βιομάζας για θέρμανση χώρου και στις κύριες καρκινογόνες ενώσεις που προσροφούνται, δηλαδή τους PAHs.

Οι επιπρόσθετες μετρήσεις της ημερήσιας μεταβλητότητας των PM του ατμοσφαιρικού αέρα, μας παρείχαν το περιθώριο για τη βελτίωση των εκτιμήσεων της έκθεσης, αντλώντας δεδομένα σχετικά με τις κορυφές έκθεσης και τον τρόπο με τον οποίο αυτές οι κορυφές αντιστοιχούν στις διάφορες δραστηριότητες και ρυθμούς εισπνοής σε δεδομένη χρονική στιγμή. Με αυτόν τον τρόπο, οι εκτιμήσεις έκθεσης είναι αρκετά εκλεπτυσμένες, αφού έχει διαπιστωθεί ότι, οι κορυφές του ατμοσφαιρικού αέρα δεν συμβάλλουν όπως αναμενόταν στη συνολική ημερήσια έκθεση, καθώς οι άνθρωποι τείνουν να



Task Technical Report

χαλαρώνουν ή να κοιμούνται εκείνη την ώρα, συνεπώς το πραγματικό ποσοστό απορρόφησης είναι χαμηλό. Επιπρόσθετα, ένα εργαλείο που παρέχει δεδομένα δυναμικά στο χρόνο, επιτρέπει τον προσδιορισμό της συνεισφοράς συγκεκριμένων πηγών έκθεσης, όπως η λειτουργία ενός ανοιχτού τζακιού.

Από την άλλη πλευρά, τα δεδομένα βιοϊατρικής παρακολούθησης παρείχαν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με την επαλήθευση των εσωτερικών εκτιμήσεων της δόσης των PAHs, υπολογίστηκαν με βάση τα δεδομένα έκθεσης του ατμοσφαιρικού αέρα και κατέγραφαν την κατανομή μεγέθους των σωματιδίων και την πραγματική πρόσληψη των PAHs εκφρασμένα σε TEQ. Τα αποτελέσματα της βιο-παρακολούθησης επιβεβαίωσαν ότι, τόσο (α) τα παιδιά εκτίθενται σε υψηλότερα επίπεδα PAHs σε σχέση με τους ενήλικες όσο (β) και οι άνθρωποι που ζουν στη δυτική πλευρά της Θεσσαλονίκης εκτίθενται σε υψηλότερη ποσότητα PAHs, υπογραμμίζοντας την κοινωνικοοικονομική συνιστώσα της έκθεσης σε τοξικές ουσίες που εκπέμπονται κατά την καύση βιομάζας για τη θέρμανση του χώρου.

Κύριες συστάσεις:

- Μείωση της φορολογίας του πετρελαίου για τη θέρμανση του χώρου
- Εισαγωγή σύγχρονων λεβήτων για πέλετ
- Κίνητρα για τη βελτίωση της θερμικής συμπεριφοράς των νοικοκυριών
- Ενίσχυση του συστήματος παρακολούθησης της ατμοσφαιρικής ρύπανσης
- Εφαρμογή ενός εθνικού προγράμματος βιοπαρακολούθησης (HBM) για την εκτίμηση της εσωτερικής έκθεσης σε βασικούς ρύπους που καλύπτουν γεωγραφικά το μεγαλύτερο μέρος της Ελλάδας

Ιταλία

Δια – Μεσογειακή Μελέτη

Στην ηλικία των 7 χρονών, κάποια παιδιά παρουσίασαν πολύ υψηλά επίπεδα As. Τα επίπεδα Hg, Cd και Pb σχετιζόνταν, επίσης, με την κατανάλωση ορισμένων τύπων ψαριών ή με άλλους διατροφικούς παράγοντες (κατανάλωση κονσερβοποιημένων ψαριών, τηγανητών ψαριών). Βρήκαμε ελαφρώς θετική επίδραση της συγκέντρωσης Hg στα μαλλιά του παιδιού σε κάποιο νευροψυχολογικό τεστ στην ηλικία των 7 χρόνων. Τα επίπεδα Hg στα μαλλιά παρουσίαζαν θετική σχέση με υψηλότερες τιμές σε CBCL, υποδεικνύοντας ότι, τόσο οι συμπεριφορές εξωστρέφειας (άγχος, νευρικότητα) όσο και εσωστρέφειας (κατάθλιψη) ήταν αυξημένες στα παιδιά. Τα επίπεδα μαγγανίου (που σχετιζόνταν και με την κατανάλωση ψαριών) στα μαλλιά των παιδιών συσχετίστηκαν σημαντικά με τα χαμηλότερα επίπεδα του γενικού IQ, ενώ της λεκτικής κατανόησης με τα υψηλότερα επίπεδα Hg. Οι παράγοντες του τρόπου ζωής επηρέασαν σημαντικά τις νευροψυχολογικές βαθμολογίες, οι οποίες επηρεάζονται θετικά από 1) την κατανάλωση ψαριών, 2) το επίπεδο IQ της μητέρας και το εκπαιδευτικό επίπεδο των γονέων.

Ένας σημαντικός ρόλος στη νευροψυχολογική λειτουργία οφείλεται επίσης στην περιγεννητική έκθεση. Η επανάλυση των δεδομένων σχετικά με τις συγκεντρώσεις των μετάλλων στα διάφορα δείγματα υπογραμμίζει τη σημασία όλων των εκθέσεων που συνέβησαν κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης μετά τη σύλληψη και υποδεικνύουν ότι μαζί με τα νευροτοξικά μέταλλα, βασικά στοιχεία όπως ο Zn, Cu και Se συμφωνούν για να τροποποιηθεί η νευρο-συμπεριφορική ανάπτυξη.

Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν την ανάγκη να επεκταθεί η βιοπαρακολούθηση και η αξιολόγηση του νευροψυχολογικού αποτελέσματος σε όλη την κοόρτη NAC II. Η περιοχή της Τεργέστης περιλαμβάνεται βάσει νόμου, από το 1998, μεταξύ των Εθνικά Μολυσμένων Περιοχών (National Contaminated Sites). Αυτό συνεπάγεται ότι, η ρύπανση σε αυτές τις περιοχές πρέπει να παρακολουθείται και να εφαρμόζονται παρεμβάσεις για την εξάλειψη των πηγών ρύπανσης ή τουλάχιστον τη μείωση των συγκεντρώσεων των κύριων ρύπων στον αέρα, το έδαφος και το νερό σε αποδεκτά επίπεδα. Οι κύριες πηγές ρύπανσης στην Τεργέστη προέρχονται από τις εκπομπές της βιομηχανίας σιδήρου, την κυκλοφορία και τις λιμενικές δραστηριότητες. Η απελευθέρωση βαρέων μετάλλων, σωματιδίων και βενζοπυρενίου έχει καταγραφεί επί χρόνια και η μελέτη SENTIERI (της οποίας υπεύθυνο είναι το ISS) έδειξε υψηλότερη εμφάνιση ορισμένων μορφών καρκίνου στον πληθυσμό που ζει κοντά σε βιομηχανική μονάδα. Ωστόσο, εξ όσων γνωρίζουμε,



Task Technical Report

μέχρι στιγμής δεν έχει τεθεί σε εφαρμογή κανένα πρόγραμμα βιοπαρακολούθησης για εκτεθειμένο πληθυσμό. Τα στοιχεία που συλλέχθηκαν από το 2007, από τη μελέτη PHIME στο Ιταλικό Ληξιαρχείο γεννήσεων της Βόρειας Αδριατικής (Italian Northern Adriatic birth cohort) και στη συνέχεια από την κοινή μελέτη CROME, αντιπροσωπεύουν ένα πολύτιμο σύνολο πληροφοριών σχετικά με τα επίπεδα έκθεσης των παιδιών του δήμου της Τεργέστης σε μέταλλα και μεταλλοειδή την τελευταία δεκαετία. Τα ευρήματα που περιγράφονται στο D5.2 αποδεικνύουν ότι η έκθεση σε νευροτοξικά μέταλλα αποτελεί μείζονα ανησυχία για την υγεία των παιδιών. Με βάση τα αποτελέσματα της κοινής μελέτης CROME, θα μπορούσαν να προταθούν οι ακόλουθες ειδικές συστάσεις σε τοπικό επίπεδο:

1. Θέσπιση ενός προγράμματος βιοπαρακολούθησης του πληθυσμού που ζει κοντά στις βιομηχανικές εγκαταστάσεις /δραστηριότητες, με ιδιαίτερη προσοχή στις ευάλωτες ομάδες (παιδιά, εφήβους, έγκυες γυναίκες). Η βιοπαρακολούθηση θα πρέπει να συμπίπτει με την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της υγείας που συνδέονται με την ανάπτυξη, την αχυσαρκία, τις μεταβολικές διαταραχές, το άσθμα /αλλεργίες και τις νευροαναπτυξιακές /νευροψυχιατρικές διαταραχές.
2. Ενδυνάμωση του συστήματος παρακολούθησης της ατμοσφαιρικής ρύπανσης.
3. Παρακολούθηση της εσωτερικής ρύπανσης στο σχολείο του δήμου της Τεργέστης.
4. Έλεγχος της ποιότητας του πόσιμου νερού. Ακόμη, έλεγχο της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων στο έδαφος και τη σκόνη, με ιδιαίτερη προσοχή στους κήπους και τις παιδικές χαρές
5. Αξιολόγηση της συγκέντρωσης των μετάλλων σε δείγματα τοπικών ψαριών και σε δείγματα λαχανικών που συλλέγονται στις τοπικές αγορές και καλλιεργούνται στην περιοχή της Τεργέστης.

Ιταλική μελέτη περίπτωσης

Η ιταλική έρευνα για την ανθρώπινη βιοπαρακολούθηση (PROBE - πρόγραμμα για τη βιοπαρακολούθηση του γενικού πληθυσμού) θεωρείται πληθυσμός αναφοράς εφήβων ηλικίας 13-15 ετών, που ζουν σε αστικές και αγροτικές περιοχές, για την έκθεση τους σε μέταλλα. Αυτή η μελέτη διερεύνησε 453 εφήβους που ζούσαν στην περιοχή Latium (Ιταλία), των οποίων δείγματα αίματος αναλύθηκαν για 19 μέταλλα (As, Be, Cd, Co, Cr, Hg, Ir, Sb, Sn, Tl, V, και W) με φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος. Η εκτίμηση της έκθεσης περιγράφηκε στο πλαίσιο μιας εκθεσιωμικής προσέγγισης λαμβάνοντας υπόψη αρκετούς καθοριστικούς παράγοντες που σχετίζονται με τα θέματα, τις διαθέσιμες περιβαλλοντικές παραμέτρους και τη γεωγραφική κωδικοποίηση της θέσης διεύθυνσης κατοικίας. Για να εκτιμηθεί η επίδραση των προσδιοριστών και των τροποποιητών έκθεσης στα επίπεδα βιοδεικτών των παιδιών χρησιμοποιήσαμε δύο ανεξάρτητες μεθοδολογίες. Η πρώτη χρησιμοποιεί τη μεθοδολογία EWAS, ενώ η δεύτερη βασίστηκε στην εφαρμογή ενός Γενικευμένου Γραμμικού Μοντέλου (GLM) που συλλαμβάνει τις συν-εκθέσεις σε ζεύγη σημαντικών καθοριστικών παραγόντων.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την «αρχική» μελέτη PROBE των εφήβων αντιπροσώπευαν τις τιμές αναφοράς (RVs) για 19 μέταλλα σε έναν ειδικό ευαίσθητο πληθυσμό, τους εφήβους. Οι παραγόμενες RVs είναι πολύ χρήσιμες ως όροι σύγκρισης για άλλα δεδομένα βιοπαρακολούθησης σε εφήβους που παράγονται παγκοσμίως και για την παρακολούθηση πιθανών υψηλότερων εκθέσεων ή μόλυνσεων.

Επιπλέον, τα αποτελέσματα της κοόρτης εφήβων του PROBE έδειξε ότι, το As και Hg βρέθηκαν συνδεδεμένα με την κατανάλωση ψαριών.

Όσον αφορά το As, η μόλυνση του πόσιμου νερού από As αποτελεί πρόβλημα δημόσιας υγείας σε αρκετές ιταλικές περιοχές λόγω της ηφαιστειακής προέλευσης στην επικράτεια. Συγκεκριμένα, η περιοχή της επαρχίας Viterbo χαρακτηρίζεται από την παρουσία ηφαιστειακού συστήματος όπου ένας συνεχής βασικός υδροφορέας ρέει μέσα σε ιζηματογενή πετρώματα Pliocene-Pleistocene με πολύ υψηλές συγκεντρώσεις As (έως 130-370 µg/L). Τα αποτελέσματα της έρευνας PROBE των εφήβων, δείχνουν ότι τα παιδιά που ζουν στην περιοχή Viterbo είχαν υψηλότερα επίπεδα As (και επίσης Hg και V).



Task Technical Report

Όσον αφορά τον Hg, η συγκέντρωση στο αίμα των εφήβων της PROBE ήταν ελαφρώς υψηλότερη από εκείνη που αναφέρθηκε στην εθνική συγχρονική αντιπροσωπευτική έρευνα (NHANES) του πληθυσμού των ΗΠΑ. Πιθανότατα, αυτό το αποτέλεσμα να οφείλεται σε μεγαλύτερη κατανάλωση ιχθύων από τους Ιταλούς εφήβους της περιοχής της Μεσογείου και στην ύπαρξη υποβρυχίων ηφαιστειών.

Όσον αφορά τις διαφορές φύλου, διαπιστώσαμε ότι ο Pb του αίματος είναι σημαντικά υψηλότερος στους άνδρες από ό, τι στις γυναίκες. Αυτό το αποτέλεσμα είναι σημαντικό, δεδομένου ότι, τα αυξημένα επίπεδα Pb του αίματος ενδέχεται να παρουσιάζουν επιβλαβείς γνωστικές νευροτοξικές επιδράσεις που μπορεί να είναι πιο έντονες στους άνδρες απ' ό, τι στις γυναίκες.

Ένα άλλο αξιοσημείωτο αποτέλεσμα ήταν οι υψηλότερες τιμές για μερικά μέταλλα όπως το Ir, Pt, Rh στο αίμα εφήβων που ζουν σε αστικές περιοχές σε σχέση με αυτούς που ζουν σε αγροτικές περιοχές. Αυτά τα μέταλλα συνδέονται συνήθως με την οδική κυκλοφορία, επομένως οι εφήβοι PROBE που ζουν σε αστικές περιοχές είναι πιο επιρρεπείς σε υψηλότερη έκθεση σε μέταλλα που προέρχονται από την κυκλοφορία.

Επίσης, μέσω των προσεγγίσεων GLM και EWAS, επιβεβαιώσαμε ότι τα Hg και As συνδέονται θετικά με τις διατροφικές οδούς (κυρίως με την κατανάλωση ψαριών και σε μικρότερο βαθμό με την κατανάλωση γάλακτος), ενώ το Cr παρουσιάζει μια πιο πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ της ταυτόχρονης έκθεσης σε διαφορετικά διατροφικές οδούς (γάλα και ψάρι) σε συνδυασμό με τη γεινίαση της κατοικίας με βιομηχανικές δραστηριότητες. Η κοινωνικοοικονομική κατάσταση (SES) της μητέρας αποκάλυψε ισχυρούς στατιστικούς συσχετισμούς με τα επίπεδα αίματος σε Cd και Ni στα αντίστοιχα παιδιά. Άλλες συσχετίσεις βρέθηκαν μεταξύ Cd και Pt και της χρήσης ψεύτικων κοσμημάτων (φομπιζού).

Προκειμένου να εξεταστούν τα δεδομένα ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης που παράγονται στο πλαίσιο της μελέτης PROBE υπό ένα πλαίσιο εκτίμησης της επικινδυνότητας για την υγεία, οι μετρούμενες συγκεντρώσεις συγκρίθηκαν με τις διαθέσιμες τιμές βιολογικού εκθεσιώματος σχετικές με την υγεία, όπως οι τιμές HumanBioMonitoring (HBM: HBM I και HBM II) που καθορίστηκαν από τη Γερμανική Επιτροπή Ανθρώπινης Βιοπαρακολούθησης και τα Ισοδύναμα Βιοπαρακολούθησης (BEs). Όσον αφορά τον κίνδυνο για την υγεία, τα επίπεδα μετάλλων που βρέθηκαν στο αίμα των εφήβων δεν έδειξαν κίνδυνο για την υγεία κατά την εξέταση των ορίων αναφοράς για την υγεία. Επομένως, μια επακόλουθη εκτίμηση επικινδυνότητας σε αυτή την κοόρτη εφήβων είναι χαμηλής προτεραιότητας.

Με βάση τα δεδομένα της μελέτης εφήβων του PROBE, οι πολιτικές σε τοπικό επίπεδο θα πρέπει να δίνουν ιδιαίτερη προσοχή στους ανθρώπους που ζουν σε ηφαιστειακές περιοχές (Viterbo) με:

- περιοδικό έλεγχο της ποιότητας του πόσιμου νερού και των συνδεδεμένων υδροφόρων,
- έλεγχο των τροφίμων και των καλλιεργειών φυτών στις ίδιες περιοχές, οι οποίες μπορεί να αντικατοπτρίζουν πότισμα με νερό με υψηλή συγκέντρωση σε As

Για τους ανθρώπους που ζουν σε αστικές περιοχές (Ρώμη):

- Παρακολούθηση της ατμοσφαιρικής ρύπανσης με ένα λεπτομερέστερο σχήμα σταθμών παρακολούθησης της ποιότητας του αέρα, παρακολούθηση του αέρα στις ζώνες κυκλοφορίας σε κάθε δήμο

Συνολικά, πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στις ευάλωτες ομάδες (παιδιά, έφηβοι, έγκυες γυναίκες).

Πρωθυμμένο από τις τοπικές αρχές, το πρόγραμμα βιοπαρακολούθησης πρέπει να εφαρμοστεί από τις εθνικές αρχές υγείας και περιβάλλοντος σε περιοχές με υψηλό βαθμό As.

Σλοβενία

Με βάση τα αποτελέσματα του προγράμματος CROME-LIFE, θα μπορούσαν να προταθούν οι ακόλουθες ειδικές συστάσεις σε τοπικό /εθνικό επίπεδο:



Task Technical Report

- Εφαρμογή του εθνικού πλαισίου ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM), τα δεδομένα που συλλέχθηκαν και η αξιολόγηση που πραγματοποιήθηκε παρείχαν ένα προφίλ έκθεσης για τον πληθυσμό της Σλοβενίας που κατοικεί σε 12 περιφέρειες σε ολόκληρη τη χώρα. Οι μελλοντικές έρευνες θα βασίζονται στα πορίσματα της τρέχουσας έρευνας, λαμβάνοντας, επίσης, υπόψη τα προβλήματα που αντιμετωπίστηκαν κατά τη διάρκεια της πρόσληψης αλλά και τα ελλιπή /ανεπαρκή δεδομένα.
- Έχοντας τα δεδομένα σχετικά με την εσωτερική έκθεση που καλύπτει γεωγραφικά το μεγαλύτερο μέρος της Σλοβενίας, μπορούμε να σχεδιάσουμε τη μελλοντική έρευνα πολύ καλύτερα. Χρησιμοποιώντας τα υπάρχοντα δεδομένα και τον υπολογισμό της στατιστικής ισχύος, μπορεί να προσδιοριστεί αποτελεσματικά το μέγεθος του δείγματος που μας επιτρέπει να εντοπίσουμε περιβαλλοντικές σημαντικές διαφορές στην έκθεση και τις τάσεις στο χρόνο, γεγονός που αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα στην εκτίμηση επικινδυνότητας.
- Η ανάλυση δεδομένων βάσει των αποτελεσμάτων της ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM) δείχνει ότι, η συλλογή μόνο διηθητικών πινάκων δεν αποτελεί επιλογή προκειμένου να εκτιμηθεί ρεαλιστικά η εσωτερική έκθεση. Δείξαμε ότι τα επίπεδα για ορισμένους περιβαλλοντικούς ρύπους που προσδιορίζονται μόνο στα ούρα δεν αντικατοπτρίζουν την πραγματική έκθεση. Αυτό συμβαίνει ιδιαίτερα για τα Cd και POPs.
- Για τη μακροπρόθεσμη εφαρμογή της ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM), η ενίσχυση των εθνικών υποδομών είναι ζωτικής σημασίας. Αυτό περιλαμβάνει τη δημιουργία εθνικής βιοτράπεζας για τη μακροπρόθεσμη αποθήκευση βιολογικών δειγμάτων, τη διαχείριση και αποθήκευση δεδομένων, τη δημιουργία μιας πλατφόρμας βάσης δεδομένων, στην οποία θα περιλαμβάνονται δεδομένα για την υγεία και το περιβάλλον και τη διαχείριση της.
- Για τη διεξαγωγή προγραμματίων ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM), το ποσοστό απόκρισης αποτελεί βασικό στοιχείο της επιτυχίας ενός προγράμματος και των δεδομένων που λαμβάνονται. Για το σκοπό αυτό, η επικοινωνιακή στρατηγική πρέπει να είναι σαφώς καθορισμένη και να εφαρμόζεται συνεχώς στα επίπεδα του γενικού κοινού, των υπεύθυνων χάραξης πολιτικής, των ρυθμιστικών οργανισμών και επίσης, σε κλινικό επίπεδο. Μακροπρόθεσμα, η διεπιστημονική συμμετοχή είναι πολύ σημαντική, συσπειρώνοντας υπουργεία για το περιβάλλον, την υγεία, τη γεωργία, την οικονομία και την επιστήμη.

Ισπανία

Έκθεση σε Μέταλλα

Η έκθεση σε μέταλλα σε έγκυες γυναίκες έχει εκτιμηθεί από τη σύνθεση των ούρων που συλλέχθηκαν κατά το πρώτο και τρίτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης χρησιμοποιώντας ένα πρόσφατα αναπτυγμένο πρωτόκολλο πέψης για την ανάλυση Q-ICP-MS (Fort et al., 2014a). Όλα τα μέταλλα εκτός από Ni, As, Th και Pb έδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές συγκέντρωσης μεταξύ αυτών των δύο περιόδων. Οι συγκεντρώσεις όλων των μετάλλων στο πρώτο και το τρίτο τρίμηνο έφεραν σημαντική συσχέτιση, που αντικατοπτρίζει την απουσία σημαντικών μεταβολών των εισροών μετάλλων στις γυναίκες που μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Οι σημαντικές διαφορές συγκέντρωσης μεταξύ αυτών των δύο περιόδων δειγματοληψίας μπορεί να ανταποκρίνονται στις μεταβολικές αλλαγές της εγκυμοσύνης. Συνεπώς, οι μετρήσεις των μελετών ιχνοστοιχείων που μελετήθηκαν στα ούρα παρέχουν αντιπροσωπευτικές εκτιμήσεις της έκθεσης κατά τη διάρκεια ολόκληρης της περιόδου εγκυμοσύνης.

Οι μεσογειακοί πληθυσμοί, όπως αυτός που αντιπροσωπεύει η κοόρτη του Sabadell, φέρουν υψηλότερες συνολικές συγκεντρώσεις αρσενικού στα ούρα από άλλους πληθυσμούς της Ευρώπης ή της Βόρειας Αμερικής (Fort, Grimalt et al., 2014). Κατά συνέπεια, οι έγκυες γυναίκες από την περιοχή της Μεσογείου που συμμετέχουν σε αυτή τη μελέτη έχουν υψηλά επίπεδα αρσενικού. Η υψηλή κατανάλωση θαλασσινών που είναι χαρακτηριστική αυτών των πληθυσμών είναι η κύρια αιτία για αυτές τις υψηλές συγκεντρώσεις



Task Technical Report

αρσενικού. Παρατηρείται μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των συνολικών επιπέδων αρσενικού στα ούρα και της συνολικής κατανάλωσης θαλασσινών στα δύο διαφορετικά στάδια της εγκυμοσύνης που εξετάστηκαν (πρώτο και τρίτο τρίμηνο). Συγκεκριμένα, η κατανάλωση άπαχου ιχθύος είναι η κύρια συνεισφορά στην πρόσληψη αυτού του μεταλλοειδούς. Δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στην απέκκριση του αρσενικού μεταξύ αυτών των δύο περιόδων και οι παρατηρούμενες μικρές διαφορές σχετίζονται κυρίως με τις αλλαγές στην κατανάλωση άπαχου ιχθύος μεταξύ του πρώτου και του τρίτου τριμήνου. Το αρσενικό των θαλασσινών έχει αποδειχθεί ότι αποτελείται κυρίως από οργανικά είδη που είναι αδρανή, όχι τοξικά και εκκρίνονται γρήγορα. Επομένως, αυτά τα υψηλά επίπεδα αρσενικού στα ούρα που απαντώνται στους μεσογειακούς πληθυσμούς δεν προκαλούν ανησυχία για την υγεία. Η αξιολόγηση της προέλευσης του αρσενικού στο γενικό πληθυσμό είναι σημαντική για την αξιολόγηση των πιθανών επιπτώσεων στην υγεία του εκτεθειμένου πληθυσμού. Η προσέγγιση που περιγράφεται στην παρούσα μελέτη παρέχει τις απαραίτητες πληροφορίες για την εκτίμηση των πιθανών τοξικών επιδράσεων που σχετίζονται με τη συσσώρευση αρσενικού.

Τα επίπεδα κοβαλτίου στα ούρα της μητέρας έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνονται σημαντικά από το πρώτο έως το τρίτο τρίμηνο, πιθανώς λόγω της μείωσης του σιδήρου κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (Fort, Grimalt et al., 2016). Έχει διαπιστωθεί σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης αιμοσφαιρίνης και κοβαλτίου στο τρίτο τρίμηνο, καθώς και μεταξύ των διαφορών ανάμεσα στα επίπεδα αιμοσφαιρίνης και συγκεντρώσεων κοβαλτίου ούρων μεταξύ αυτών των δύο τριμήνων. Αυτή η σχέση έχει αναφερθεί προηγουμένως σε εφήβους, γυναίκες και ασθενείς με αιμοχρωμάτωση, αλλά η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη στην οποία παρατηρείται αυτή η τάση κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Το κοβάλτιο ενισχύει τη μεταγραφή της ερυθροποιητίνης, οδηγώντας σε υψηλότερη παραγωγή ερυθροκυττάρων. Η υψηλότερη απορρόφηση αυτού του μετάλλου μπορεί να τείνει να εξισορροπεί τη μείωση του σιδήρου κατά τα τελευταία στάδια της εγκυμοσύνης, όταν ο βασικός μεταβολικός ρυθμός είναι υψηλός και υφίσταται το 90% της εμβρυϊκής ανάπτυξης και οι απαιτήσεις σιδήρου αυξάνονται. Αυτός ο μηχανισμός μπορεί να είναι χρήσιμος για να συμβάλει στην εκπλήρωση της ζήτησης οξυγόνου από αυτές τις διεργασίες που είναι κρίσιμες για την σωστή ανάπτυξη του εμβρύου. Ωστόσο, τα παρόντα αποτελέσματα συνιστούν την εφαρμογή προγραμμάτων παρακολούθησης συγκεντρώσεων κοβαλτίου σε έγκυες γυναίκες από πληθυσμούς που εκτίθενται επαγγελματικά ή περιβαλλοντικά σε αυτό το μέταλλο. Αυτή η στρατηγική θα μπορούσε να επιτρέψει την πρόβλεψη πιθανών επιβλαβών επιπτώσεων για τη μητέρα ή το έμβρυο ως συνέπεια της αυξημένης συσσώρευσης κοβαλτίου.

Οι ατμοσφαιρικές εισροές είναι πιθανόν υπεύθυνες για τις παρατηρούμενες διαφορές στις συγκεντρώσεις Sb στα ούρα από εγκύους που ζουν σε αστικές περιοχές (Fort, Grimalt et al., 2016). Η εμφάνιση αυτού του μετάλλου στην ατμόσφαιρα έχει αποδοθεί στην κυκλοφοριακή δραστηριότητα ως συνέπεια της χρήσης του σε επενδύσεις φρένων. Οι συσχετίσεις περιεχομένου Sb στα ούρα εγκύων γυναικών με εποχικότητα, σωματική δραστηριότητα και ένταση κυκλοφορίας κοντά στα σπίτια τους είναι συνεπείς με κάποια εξάρτηση από την πρόσληψη αυτού του μετάλλου από ατμοσφαιρικές πηγές. Αυτές οι ενώσεις υποδηλώνουν ότι παρ' ότι οι εκτιμώμενες διατροφικές εισροές αυτού του μετάλλου είναι κάπως υψηλότερες από την εκτιμώμενη πρόσληψη εισπνοής, οι ατμοσφαιρικές εισροές Sb μπορεί να είναι σημαντικές για τη συνολική ενσωμάτωση αυτού του μετάλλου σε πληθυσμούς σύγχρονων αστικών περιοχών, π.χ. σε έγκυες γυναίκες.

Ο Cu χρησιμοποιείται επίσης στις επενδύσεις πέδησης, αλλά η υψηλή υπεροχή των εισροών αυτού του βασικού μετάλλου από τα διατροφικά συστατικά καθιστά απίθανη τη σημαντικότητα των ατμοσφαιρικών αστικών εισροών στη συνολική ανθρώπινη πρόσληψη (Fort, Grimalt et al., 2016). Αυτό συμβαδίζει με την έλλειψη στατιστικής σημασίας των παρατηρούμενων διαφορών στις συγκεντρώσεις ούρων σε Cu όταν ομαδοποιούνται σύμφωνα με δείκτες ατμοσφαιρικής ρύπανσης.



Task Technical Report

Έκθεση σε αλογονωμένες ενώσεις

Οι κατανομές των περισσότερων OCs μεταξύ μητρικού ορού και του ορού του ομφάλιου λώρου και του μητρικού ορού και του πλακούντα συσχετίζονται σημαντικά (Vizcaino και Crawford 2015). Γενικά, οι υψηλότερες σχετικές συγκεντρώσεις εντοπίστηκαν στον μητρικό ορό και οι χαμηλότερες στον ορό του ομφάλιου λώρου. Αυτές οι κατανομές είναι σύμφωνες με μια επικρατούσα πηγή έκθεσης της μητέρας, που μεταφέρει τους ρύπους στον πλακούντα και το έμβρυο. Ωστόσο, αυτές οι κατανομές δεν αντιστοιχούν σε παθητική διάχυση ρύπων μεταξύ των τριών τύπων ιστών σύμφωνα με την περιεκτικότητά τους σε λιπίδια. Αντιστρόφως, απαιτούν μία ενεργή διαπλακούντια μεταφορά των ενώσεων, ενδεχομένως, σε συνδυασμό με τη μεταφορά των ενζύμων μέσω των μεμβρανών.

Οι ενώσεις που μπορούν να μετασχηματιστούν μεταβολικά, δηλαδή η 4,4'-DDT και αρκετές PBDEs, έχουν παρατηρηθεί ότι συσσωρεύονται επιλεκτικά στο αίμα του ομφάλιου λώρου (Vizcaino και Crawford 2015). Μόλις αυτές καταφέρουν να φτάσουν στο έμβρυο, διατηρούνται καλύτερα από ότι στους μητρικούς ιστούς. Η διαφορά αυτή αποδεικνύει χαμηλή ικανότητα εμβρυϊκού μεταβολισμού για την αποικοδόμηση των οργανικών ρύπων, η οποία μπορεί να οδηγήσει στη συσσώρευση ρύπων που συνήθως απαντώνται σε μικρές συγκεντρώσεις σε ενήλικες ή σε μητέρες. Οι μελέτες εκτίμησης της έκθεσης σε POP των νεογέννητων μπορεί να παραβλέπουν τις επιπτώσεις ορισμένων από αυτούς τους ρύπους, εάν λάβουν υπόψη μόνο τους μητρικούς προσδιορισμούς.

Η αύξηση βάρους κατά την εγκυμοσύνη (GWG) επηρεάζει τη συσσώρευση των POPs στα νεογέννητα (Vizcaino, Grimalt et al., 2014). Οι συγκεντρώσεις στα νεογνά όλων των POPs ήταν χαμηλότερες σε συνδυασμό με την αύξηση βάρους κατά την εγκυμοσύνη μετά από προσαρμογή για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες. Άλλοι παράγοντες πρόβλεψης όπως, η ηλικία της μητέρας, η κατανάλωση ψαριών κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και το εκπαιδευτικό επίπεδο μπορεί να είναι, επίσης, σημαντικές για τη συσσώρευση των POPs στη μήτρα. Κατά μέσο όρο, οι μητέρες των οποίων η αύξηση βάρους κατά τη διάρκεια της κύησης ήταν κάτω από τις συστάσεις της Εθνικής Ακαδημίας Ιατρικής (ex-Institute of Medicine /IOM), γέννησαν νεογνά με υψηλότερες συγκεντρώσεις σε POPs από ό, τι οι μητέρες που πληρούσαν ή υπερέβησαν τις συστάσεις αύξησης βάρους (μεταξύ 9% και 30% υψηλότερες από τη συνιστώμενη αύξηση). Συνεπώς, οι συστάσεις του IOM αύξησης βάρους κατά μπορεί να είναι επωφελείς για τη μείωση των εκθέσεων των νεογνών σε POPs. Αυτά τα ευρήματα και τα προηγούμενα αποτελέσματα σχετικά με τη δυνητική συσχέτιση ανάμεσα σε αύξηση βάρους κατά την εγκυμοσύνη και προβλημάτων κατά τη γέννα (Nohr, Rasmussen et al., 2009) υποστηρίζουν την ενσωμάτωση της αύξησης βάρους κατά την εγκυμοσύνη ως μεταβλητή σε επιδημιολογικές μελέτες των επιπτώσεων των POPs στην υγεία των παιδιών. Οι συστάσεις του IOM για την αύξηση βάρους κατά την εγκυμοσύνη έχουν επίσης κλινική αξία για την πρωτοβάθμια φροντίδα καθώς οι γυναίκες μπορούν να μειώσουν τις συγκεντρώσεις σε POPs στα νεογνά τους.

Γενικές μεθοδολογικές συστάσεις

Συστάσεις σχετικά με τον βέλτιστο τρόπο χρήσης των διαθέσιμων μετρήσεων

Τα δεδομένα βιοπαρακολούθησης που συλλέχθηκαν στις Μεσογειακές χώρες που συμμετέχουν στο CROME αντιπροσωπεύουν ένα πολύτιμο κομμάτι πληροφοριών για την κάλυψη του κενού γνώσης σχετικά με την εσωτερική έκθεση του γενικού πληθυσμού και των ευάλωτων πληθυσμιακών ομάδων (έγκυες γυναίκες, παιδιά και έφηβοι) σε διαφορετικές κατηγορίες περιβαλλοντικών ρύπων (μέταλλα, μεταλλοειδή, οργανοαλογόνα, PCDDs/PCDFs, PM- PAHs). Ενώ οι μέσες τιμές είναι γενικά εντός των τιμών αναφοράς που καθορίστηκαν από τις προηγούμενες μελέτες βιοπαρακολούθησης των ΗΠΑ και της ΕΕ στον γενικό πληθυσμό, τα ίδια στοιχεία δείχνουν ότι η έκθεση σε τοξικά μέταλλα, POPs και VOCs είναι ευρέως διαδεδομένη σε ευάλωτες πληθυσμιακές υποομάδες, όπως παιδιά στην περιοχή της Μεσογείου. Δεδομένης της αβεβαιότητας για τη θέσπιση ενός "ασφαλούς" επιπέδου για τα περισσότερα από αυτά τα χημικά προϊόντα σε σχέση με τις επιπτώσεις τους στις αναπτυξιακές κατά βάση ασθένειες όπως, το



Task Technical Report

άσθμα, οι αλλεργίες, η παχυσαρκία και οι νευροαναπτυξιακές διαταραχές, είναι υποχρεωτικό οι μετρήσεις που λαμβάνονται να χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη της συσχέτισης περιβάλλοντος /υγείας για μια ολοκληρωμένη προσέγγιση. Επομένως, τα δεδομένα βιοπαρακολούθησης θα πρέπει να ενσωματώνονται με πληρέστερη πληροφόρηση του πληθυσμού της μελέτης, συμπεριλαμβανομένων των εκθέσεων από τη διατροφή, τον τρόπο ζωής και τις συμπεριφορές. Ο αλλοστατικός ρόλος της κοινωνικοοικονομικής κατάστασης στη διαμόρφωση των επιπτώσεων της χημικής έκθεσης θα πρέπει επίσης να εξεταστεί προσεκτικά. Η πιθανή βελτίωση /τροποποίηση των δυσμενών επιπτώσεων των χημικών στην ανθρώπινη υγεία από τις κλιματικές αλλαγές είναι ένα άλλο ζήτημα που πρέπει να συμπεριληφθεί στην εκτίμηση επικινδυνότητας. Η εκθεσιωματική προσέγγιση θα συμβάλει στη βελτίωση των στρατηγικών με στόχο την πρόληψη και θεραπεία ασθενειών.

Συστάσεις για μετρήσεις που πρέπει να γίνονται όταν εντοίζονται ελλείψεις δεδομένων

Με βάση τα αποτελέσματα που έχουν μέχρι στιγμής ληφθεί από τις τέσσερις χώρες της κοινοπραξίας του CROME, τα βασικά κενά δεδομένων αφορούν i) τη μέτρηση με μεγαλύτερη ακρίβεια των πηγών των ρύπων της μελέτης για την πρόληψη της ανεπιθύμητης έκθεσης στους πληθυσμούς. ii) την εκτίμηση ή ποσοτικοποίηση του κινδύνου για τα αποτελέσματα στην υγεία (καρκίνος και νευροαναπτυξιακές διαταραχές).

Αυτά τα δύο κενά μπορούν να αντιμετωπιστούν με διάφορους τρόπους: για την εκτίμηση της εξωτερικής έκθεσης, οι τοπικές και εθνικές αρχές περιβάλλοντος και υγείας πρέπει να προβλέπουν, τουλάχιστον, για περιοχές /τοποθεσίες με σοβαρό κίνδυνο ρύπανσης του περιβάλλοντος, τα εξής:

1. Περιοδική παρακολούθηση επιλεγμένων ρύπων (ανάλογα με την περιβαλλοντική κρισιμότητα της περιοχής της μελέτης) σε δείγματα χώματος, σκόνης, θαλασσινού νερού, νερού που χρησιμοποιείται για πότισμα σε κήπους
2. Ενσωμάτωση της βάσης δεδομένων των μελετών βιοπαρακολούθησης με δεδομένα που προέρχονται από βάση δεδομένων περιφερειών σχετικά με την ποιότητα του αέρα και του πόσιμου νερού.
3. Περιοδική ανάλυση επιλεγμένων επιμολυντών στα τρόφιμα (συμπεριλαμβανομένων όχι μόνο των λαχανικών αλλά και του κρέατος, των ψαριών, των γαλακτοκομικών προϊόντων και του πόσιμου νερού). Η ανάλυση θα πρέπει να περιλαμβάνει αναλυτική προσέγγιση για τη διαφοροποίηση των οργανικών μορφών κάποιων μετάλλων (π.χ. της μη τοξικής μορφής του As) από τις ανόργανες (π.χ. την τοξική μορφή του As).
4. Χρήση προσωπικών αισθητήρων για ακριβέστερη εκτίμηση της έκθεσης που σχετίζεται με ένα μοντέλο τρόπου ζωής.

Για την εκτίμηση της εσωτερικής έκθεσης και των συναφών αποτελεσμάτων στην υγεία, θα πρέπει να εφαρμοστεί συλλογή δεδομένων βιοπαρακολούθησης συμπεριλαμβανομένων ευπαθών υποομάδων του πληθυσμού. Όπου υπάρχουν διαθέσιμα εθνικά ή τοπικά μητρώα για νευροαναπτυξιακές διαταραχές ή άλλες χρόνιες καταστάσεις του γενικού πληθυσμού, θα πρέπει να αξιολογείται η σχέση με τη νοσηρότητα ή /και τη θνησιμότητα, ώστε να υπολογίζεται πιθανή αύξηση κινδύνου της ασθένειας ή του κινδύνου θνησιμότητας. Χρηματοδοτική στήριξη από τις υγειονομικές ή περιβαλλοντικές αρχές σε εθνικό ή τοπικό επίπεδο για τον εντοπισμό των επιδράσεων στην υγεία σε βρέφη και παιδιά. Είναι επιθυμητό να εισαχθούν μελέτες προγνώσεων στις διάφορες χώρες, καθώς παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τις χαμηλές δόσεις και τις καθυστερημένες επιπτώσεις των περισσότερων ρύπων υπό αυστηρή παρακολούθηση σύμφωνα με το δίκτυο του CROME.

Εν τέλει, απαιτείται πλήρης ενημέρωση για τα συμπληρώματα που συνιστώνται για τις εγκύους, καθώς η μελέτη της Τεργέστης έδειξε ότι, μερικά βασικά στοιχεία (Zn, Cu ή Se) ενδέχεται να οδηγήσουν στην ανάπτυξη ανεπιθύμητων ενεργειών στη νευρική ανάπτυξη των παιδιών.



Task Technical Report

Προσδιορισμός των στατιστικών μεθόδων που συνιστώνται για τη βέλτιστη ερμηνεία των περιβαλλοντικών δεδομένων και των δεδομένων βιοδεικτών

Η εφαρμογή πολυμεταβλητών αναλύσεων συνιστάται, βεβαίως, για την ερμηνεία της σχέσης μεταξύ περιβαλλοντικών δεδομένων και δεδομένων βιοδεικτών. Ειδικότερα, η προσέγγιση που υποδεικνύεται από το EWAS μπορεί να είναι ειδικά κατάλληλη για την αξιολόγηση των υποθέσεων σχετικά με την ευρεία συμβολή του περιβάλλοντος στην ασθένεια (Patel, Bhattacharya et al., 2010). Οι εσωτερικές δόσεις συνδέονται με τις επιπτώσεις στην υγεία στον τοπικό πληθυσμό μέσω προηγμένων στατιστικών μεθόδων για την εξαγωγή των σχέσεων δόσης-απόκρισης που συνιστούν διαφορές στα πρότυπα έκθεσης, διαφορές ευαισθησίας και διακυμάνσεις μεταξύ ατόμων (λόγω του τρόπου ζωής, της ηλικίας, του φύλου ή της φυσιολογικής κατάστασης) ως ανταπόκριση στην υγεία (in health response). Η προσέγγιση χρησιμοποιεί ως σημείο εκκίνησης τις τιμές βιοδεικτών που μετρούνται σε διαφορετικά βιολογικά υποστρώματα (ούρα ή/και αίμα) για να εκτιμηθεί, μέσω της εφαρμογής του γενικευμένου μοντέλου PBTk κατά τη διάρκεια της ζωής, η βιολογικά αποτελεσματική δόση στον ιστό στόχο που είναι συνεπής με το επίπεδο βιοδείκτη που μετράται. Για την εκτίμηση των επιπτώσεων στην υγεία θα χρησιμοποιήσουμε μια στατιστική προσέγγιση βασισμένη σε πολυπαραμετρική παλινδρόμηση σταθμισμένη λογιστικά ως προς την έρευνα και προσαρμοσμένη για διαφορετικές συμμεταβλητές (ηλικία, φύλο, κοινωνικοοικονομική κατάσταση (SES) κλπ.), που συνδέει τις εσωτερικές δόσεις με την επίδραση στην υγεία, λαμβάνοντας υπόψη την αλληλεξάρτηση των συμμεταβλητών (χρησιμοποιώντας ως μέτρο μια αναλογία της μέτρησης "ανισορροπίας σύνδεσης" που χρησιμοποιείται σε μελέτες συσχέτισης σε όλο το γονιδίωμα). Παρόλο που η φόρμουλα έκθεσης-απόκρισης θα προκύψει από τα υπάρχοντα περιβαλλοντικά /βιοπαρακολούθησης και υγείας δεδομένα, αυτά θα χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση των αναμενόμενων επιπτώσεων στην υγεία για άλλες πληθυσμιακές ομάδες ξεκινώντας από τα ίδια τα δεδομένα βιοπαρακολούθησης.

Συστάσεις σχετικά με το επιχειρησιακό πλαίσιο ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM), συμπεριλαμβανομένου του ορισμού της στρατηγικής για την πρόσληψη, τον καθορισμό των εθνικών μεθόδων και των σχετικών απόψεων QC για δειγματοληψίες δειγμάτων, συμπεριλαμβανομένης της επιλογής των συλλεκτών, των συνθηκών χειρισμού, συντήρησης, αποστολής, αποθήκευσης και εθνικού σχεδίου επικοινωνίας για όλα τα στάδια του έργου (από την πρόσληψη ως τη διάδοση των αποτελεσμάτων σε ατομικό και συλλογικό επίπεδο).

Υπάρχουν πολλές μεθοδολογικές συστάσεις που μπορούν να αναβαθμιστούν προκειμένου να υλοποιηθούν αποτελεσματικές και χρήσιμες εκστρατείες ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM). Μία κρίσιμη πτυχή αφορά τους πίνακες που συλλέγονται για να εξασφαλιστεί αξιόπιστη εκτίμηση της έκθεσης:

Επεμβατικά υποστρώματα (Invasive matrices)

Το αίμα είναι το συχνότερο χρησιμοποιούμενο επεμβατικό δείγμα για τον προσδιορισμό των βιοδεικτών δεδομένου ότι, το αίμα αποτελεί έναν καθολικό σύνδεσμο μεταξύ όλων των ιστών του οργανισμού (Paustenbach και Galbraith 2006). Ο διεσδυτικός χαρακτήρας της δειγματοληψίας, ωστόσο, συχνά επηρεάζει αρνητικά τα ποσοστά συμμετοχής και εγείρονται ηθικά ζητήματα που σχετίζονται με τη χρήση του αίματος. Συχνά απαιτείται ειδική συγκατάθεση τόσο από τους συμμετέχοντες όσο και από τις τοπικές και εθνικές επιτροπές δεοντολογικής εποπτείας για τη χρήση του αίματος ως δείγμα ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης. Επιπλέον, ο όγκος αίματος που μπορεί να συλλεχθεί φυσιολογικά είναι περιορισμένος. Αυτό καθιστά τη χρήση του αίματος για βιοπαρακολούθηση σε παιδιά μη βέλτιστη λύση. Η ανάλυση αίματος πραγματοποιείται συχνά για ουσίες που απεκκρίνονται αργά από τον οργανισμό (Polkowska, Kozłowska et al., 2004).

Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της χρήσης του αίματος ως δείγμα είναι ότι ταυτόχρονα με τους δείκτες έκθεσης, μπορούν επίσης να προσδιοριστούν στο αίμα πολλοί σχετικοί βιοδείκτες επιπτώσεων. Ο συνδυασμός των δεικτών έκθεσης και επιδράσεων σε μια μπαταρία βιοδεικτών, καθιστά πολύ πιο σχετική τη σχέση έκθεσης, δόσης, επίδρασης και υγείας.



Task Technical Report

Μη επεμβατικά υποστρώματα (Non-invasive matrices)

Τα ούρα είναι πιθανώς το πιο χρησιμοποιημένο υπόστρωμα στο οποίο μετρούνται οι βιοδείκτες. Η συλλογή και η ανάλυση των ούρων δεν συνεπάγεται κινδύνους, οι όγκοι δειγμάτων μπορεί να είναι μεγάλοι και τα δείγματα να λαμβάνονται για διαφορετικές ηλικιακές κατηγορίες, συμπεριλαμβανομένων των μικρών παιδιών με ελάχιστη επίπτωση (Kozłowska, Polkowska et al., Polkowska, Kozłowska et al., 2004, Bradman et al. Whyatt 2005). Δυστυχώς, για πολλούς βιοδείκτες, τα ούρα δεν είναι ο πιο αξιόπιστος δείκτης έκθεσης επειδή συχνά περιέχει απεκκριμένους μεταβολίτες αντί για αρχικές ουσίες (Paustenbach και Galbraith 2006). Επειδή οι χημικές ουσίες συχνά απεκκρίνονται αργά κατά τη διάρκεια ωρών ή ημερών μετά την έκθεση, επίσης τοξικοκινητικοί παράγοντες μπορεί να παρεμποδίσουν τη χρησιμότητα των ούρων ως δείγμα. Αν και αυτό μπορεί να μειωθεί με τη συλλογή 24ωρών δειγμάτων αντί για δείγματα απλής δειγματοληψίας, ο χρόνος της συλλογής δειγμάτων παραμένει μια βασική πτυχή της βιοπαρακολούθησης με τη χρήση ούρων ως υπόστρωμα (Barr, Wilder et al., 2005, Kissel, Curl et al., 2005). Οι συγκεντρώσεις της κρεατινίνης στα ούρα, το ειδικό βάρος και η μοριακή ώσμωση είναι συνήθεις μέθοδοι για την προσαρμογή της αραίωσης των δειγμάτων ούρων. Η πιο συνηθισμένη μέθοδος είναι η ρύθμιση της κρεατινίνης η οποία περιλαμβάνει τη διαίρεση της συγκέντρωσης της αναλυόμενης ουσίας από τη συγκέντρωση της κρεατινίνης. Οι οδηγίες για την προσαρμογή της κρεατινίνης και την ορθή ερμηνεία των δεδομένων βρίσκονται διαθέσιμες στη βιβλιογραφία (WHO 1996, Barr, Wilder et al., 2005).

Το αίμα του ομφάλιου λώρου, το αμνιακό υγρό και το μητρικό γάλα παρέχουν μία γενική εικόνα του ρυπογόνου φορτίου των μητέρων και παράλληλα παρέχουν σχετικές πληροφορίες για την ενδομητριακή έκθεση ή κατά την πρώιμη ζωή των μωρών (Shen, Main et al., 2007). Αναφορικά στο τρέχον ενδιαφέρον της έκθεσης κατά την ενδομητριακή ή την παιδική ηλικία που αντανάκλα παράθυρα ιδιαίτερης ευαισθησίας, αυτά τα υποστρώματα αξίζουν μεγάλη προσοχή κατά την προετοιμασία των προγραμμάτων ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM). Δυνητικά προβληματικά ζητήματα που χρησιμοποιούν αίμα ομφάλιου λώρου ή αμνιακό υγρό μπορεί να προκύψουν από το γεγονός ότι, η δειγματοληψία δεν είναι πάντα απλή, καθώς η προφανής συλλογή δειγμάτων ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM) δεν είναι η πρώτη προτεραιότητα κατά τη στιγμή του τοκετού. Το μητρικό γάλα είναι ένα αξιόπιστο υπόστρωμα για την παρακολούθηση της παρουσίας λιποδιαλυτών επιμολυντών όπως τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB), τα βρωμιούχα επιβραδυντικά φλόγας (BFR) ή οι διοξίνες ((Uehara, Peng et al., 2006, Shen et al., Palkovícova et al., 2007)) και μπορεί να είναι η σημαντικότερη οδός έκθεσης σε επιμολυντές.

Ωστόσο, πρέπει να τονιστεί ότι αυτή καθ' εαυτή η ανθρώπινη βιοπαρακολούθηση (HBM) από μόνη της δεν μπορεί να αντικαταστήσει τα δεδομένα περιβαλλοντικής παρακολούθησης και μοντελοποίησης. Συχνά, τα δεδομένα περιβαλλοντικής παρακολούθησης για διαφορετικά περιβαλλοντικά τμήματα (αέρας, νερό, τρόφιμα, έδαφος) παρέχουν καλύτερη εικόνα για πιθανές πηγές, επιτρέποντας έτσι την ανάπτυξη πιο ενημερωμένων και κατάλληλων στρατηγικών για τη μείωση των κινδύνων. Ταυτόχρονα, οι μαθηματικές προσεγγίσεις για την περιγραφή της φαρμακοκινητικής και τοξικοκινητικής συμπεριφοράς των περιβαλλοντικών παραγόντων (γενικά αναφερόμενες ως μοντέλα PBPK) προσφέρουν μια πιο μηχανιστική εικόνα της συμπεριφοράς και της τύχης των περιβαλλοντικών παραγόντων μετά από συνολική έκθεση (έμμεση σχέση EDR). Δεδομένου ότι, τα δεδομένα βιοδεικτών αντανάκλουν, επίσης, τα χαρακτηριστικά ατομικής συσσώρευσης, διανομής, μεταβολισμού και απέκκρισης (ADME) των χημικών, τα δεδομένα ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM) προσφέρουν εξαιρετική ευκαιρία για την επαλήθευση αυτών των μοντέλων PBTK. Τελικά, ο συνδυασμός των δύο τρόπων απόδειξης για την εκτίμηση της έκθεσης αποδεικνύεται βέλτιστος για τη συσχέτιση της πολύπλοκης έκθεσης σε περιβαλλοντικούς παράγοντες που δυνητικά επιφέρουν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία.



Task Technical Report

Συμπεράσματα

Συνολική σύνοψη της συγκεκριμένης χώρας και των μεθοδολογικών συστάσεων που παρουσιάστηκαν παραπάνω

Ο κατάλογος των βασικών στοιχείων υψηλής προτεραιότητας μιας πρωταρχικής προληπτικής προσέγγισης θα πρέπει να προβλέπει στρατηγικές παρεμβάσεις σε εθνικό και τοπικό επίπεδο για:

- Μείωση της έκθεσης σε περιβαλλοντικούς κινδύνους, συμπεριλαμβανομένων των ατμοσφαιρικών ρύπων και των περιβαλλοντικών και βιομηχανικών ρύπων, ιδίως των βαρέων μετάλλων όπως ο υδράργυρος και ο μόλυβδος.
- Βελτίωση των δομικών υλικών με χαμηλότερες εκπομπές σε σπίτια, σχολεία και χώρους εργασίας.
- Μείωση της έκθεσης στον καπνό του τσιγάρου, τόσο από τους γονείς όσο και από άλλες πηγές του περιβάλλοντος, κατά τη διάρκεια εντός της κύησης, τη βρεφική ηλικία και την παιδική ηλικία.
- Εξασφάλιση επαρκούς πρόσληψης βασικών θρεπτικών ουσιών, συμπεριλαμβανομένων του φυλλικού οξέος και άλλων βιταμινών και ανόργανων στοιχείων, στις γυναίκες στην αναπαραγωγική ηλικία, για την προστασία του νευρικού συστήματος και άλλες συνέπειες της ανεπάρκειας από βιταμίνες. Καθώς υπάρχει συσχέτιση μεταξύ έκθεσης νεογνών σε POPs και ανεπαρκούς πρόσληψης βάρους (GWG) κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Η ενθάρρυνση των εγκύων γυναικών να τηρήσουν τις προτεινόμενες οδηγίες του IOM για πρόσληψης βάρους κατά την εγκυμοσύνη (GWG) μπορεί να μειώσει τη συσσώρευση των POPs στα νεογνά.

Ειδικότερα, συνίσταται:

- Εφαρμογή του εθνικού πλαισίου και του πλαισίου της ΕΕ για την ανθρώπινη βιοπαρακολούθηση (HBM), τα δεδομένα που συλλέγονται και η αξιολόγηση που πραγματοποιείται, παρέχουν ένα προφίλ έκθεσης για τις γενικές και ευάλωτες πληθυσμιακές υποομάδες. Χρησιμοποιώντας τα υπάρχοντα δεδομένα και τον υπολογισμό της στατιστικής ισχύος, μπορεί να προσδιοριστεί αποτελεσματικά το μέγεθος του δείγματος που μας επιτρέπει να εντοπίσουμε περιβαλλοντικά σημαντικές διαφορές στην έκθεση και τις τάσεις στο χρόνο, γεγονός που αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα στην εκτίμηση επικινδυνότητας.
- Συσχέτιση των δεδομένων βιοπαρακολούθησης με αξιολόγηση των αποτελεσμάτων στην υγεία που σχετίζονται με την ανάπτυξη, την παχυσαρκία, τις μεταβολικές διαταραχές, το άσθμα /αλλεργίες και τις νευροαναπτυξιακές /νευροψυχιατρικές διαταραχές.
- Δημιουργία εθνικών βιοτραπεζών για μακροπρόθεσμη αποθήκευση βιολογικών δειγμάτων, διαχείριση και αποθήκευση δεδομένων, δημιουργία πλατφόρμας βάσης δεδομένων, η οποία θα περιλαμβάνει δεδομένα σχετικά με την υγεία και το περιβάλλον και τη διαχείριση της.
- Σχεδιασμός στρατηγικών επικοινωνίας με σαφήνεια και συνεχή εφαρμογή τους σε επίπεδο γενικού κοινού, φορέων χάραξης πολιτικής, ρυθμιστικών φορέων αλλά και σε κλινικό επίπεδο. Μακροπρόθεσμα, η διεπιστημονική συμμετοχή είναι πολύ σημαντική, συσπειρώνοντας υπουργεία περιβάλλοντος, υγείας, γεωργίας, οικονομίας και επιστημονικής έρευνας.



Βιβλιογραφία

Afridi, H. I., et al. (2006). "Evaluation of toxic metals in biological samples (scalp hair, blood and urine) of steel mill workers by electrothermal atomic absorption spectrometry." Toxicology and Industrial Health **22**(9): 381-393.

Barr, D. B., et al. (2005). "Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: Implications for urinary biologic monitoring measurements." Environmental Health Perspectives **113**(2): 192-200.

Bradman, A. and R. M. Whyatt (2005). "Characterizing exposures to nonpersistent pesticides during pregnancy and early childhood in the National Children's Study: A review of monitoring and measurement methodologies." Environmental Health Perspectives **113**(8): 1092-1099.

Castillo, L., et al. (2008). "Genomic response programs of *Saccharomyces cerevisiae* following protoplasting and regeneration." Fungal Genet Biol **45**(3): 253-265.

Ch. Vasilatos, et al. (2008). Hexavalent chromium and other toxic metals in ground waters of the Asopos Valley (Attica), Greece. 6th European Conference of the the Society of Environmental Geochemistry and Health.

Dietz, P. M., et al. (2006). "Combined effects of prepregnancy body mass index and weight gain during pregnancy on the risk of preterm delivery." Epidemiology **17**(2): 170-177.

Fort, M., et al. (2014). "Assessment of exposure to trace metals in a cohort of pregnant women from an urban center by urine analysis in the first and third trimesters of pregnancy." Environ Sci Pollut Res Int **21**(15): 9234-9241.

Fort, M., et al. (2014). "Food sources of arsenic in pregnant Mediterranean women with high urine concentrations of this metalloid." Environ Sci Pollut Res Int **21**(20): 11689-11698.

Fort, M., et al. (2016). "Evaluation of atmospheric inputs as possible sources of antimony in pregnant women from urban areas." Sci Total Environ **544**: 391-399.

Glynn, R. W., et al. (2012). "Expression levels of HER2/neu and those of collocated genes at 17q12-21, in breast cancer." Oncol Rep **28**(1): 365-369.

Grimalt, J. O., et al. (2010). "Integrated analysis of halogenated organic pollutants in sub-millilitre volumes of venous and umbilical cord blood sera." Anal Bioanal Chem **396**(6): 2265-2272.

Guarino, A., et al. (2008). "Parenting Stress Index Short-Form – Traduzione e Validazione Italiana dello Strumento."

Guxens, M., et al. (2012). "Cohort Profile: the INMA--Infancia y Medio Ambiente--(Environment and Childhood) Project." Int J Epidemiol **41**(4): 930-940.



Task Technical Report

Kissel, J. C., et al. (2005). "Comparison of organophosphorus pesticide metabolite levels in single and multiple daily urine samples collected from preschool children in Washington State." Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology **15**(2): 164-171.

Kleinman, K. P., et al. (2007). "How should gestational weight gain be assessed? A comparison of existing methods and a novel method, area under the weight gain curve." Int J Epidemiol **36**(6): 1275-1282.

Kozłowska, K., et al. (2003). "Analytical procedures used in examining human urine samples." Polish Journal of Environmental Studies **12**(5): 503-521.

Krachler, M., et al. (1996). "Microwave digestion methods for the determination of trace elements in brain and liver samples by inductively coupled plasma mass spectrometry." Anal Bioanal Chem **355**(2): 120-128.

Lewalter, J., et al. (1985). "Chromium bond detection in isolated erythrocytes: a new principle of biological monitoring of exposure to hexavalent chromium." Int Arch Occup Environ Health **55**(4): 305-318.

Lopez-Espinosa, M. J., et al. (2008). "Organochlorine pesticide exposure in children living in southern Spain." Environ Res **106**(1): 1-6.

Needham, L. L., et al. (2011). "Partition of environmental chemicals between maternal and fetal blood and tissues." Environ Sci Technol **45**(3): 1121-1126.

Nohr, E. A., et al. (2009). "Twinning rates according to maternal birthweight." Twin Res Hum Genet **12**(6): 591-597.

Nohr, E. A., et al. (2009). "Severe obesity in young women and reproductive health: the Danish National Birth Cohort." PloS one **4**(12): e8444.

Pastorelli, A. A., et al. (2012). "Human exposure to lead, cadmium and mercury through fish and seafood product consumption in Italy: a pilot evaluation." Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess **29**(12): 1913-1921.

Patel, C. J., et al. (2010). "An environment-wide association study (EWAS) on type 2 diabetes mellitus." PloS one **5**(5): e10746.

Paustenbach, D. and D. Galbraith (2006). "Biomonitoring and biomarkers: Exposure assessment will never be the same." Environmental Health Perspectives **114**(8): 1143-1149.

Paustenbach, D. and D. Galbraith (2006). "Biomonitoring: Is body burden relevant to public health?" Regulatory Toxicology and Pharmacology **44**(3): 249-261.



Task Technical Report

Polkowska, Z., et al. (2004). "Biological fluids as a source of information on the exposure of man to environmental chemical agents." Critical Reviews in Analytical Chemistry **34**(2): 105-119.

Rasmussen, T., et al. (2009). "Maternal BMI before pregnancy, maternal weight gain during pregnancy, and risk of persistent positivity for multiple diabetes-associated autoantibodies in children with the high-risk HLA genotype: the MIDIA study." Diabetes Care **32**(10): 1904-1906.

Sarcinelli, P. N., et al. (2003). "Dietary and reproductive determinants of plasma organochlorine levels in pregnant women in Rio de Janeiro." Environ Res **91**(3): 143-150.

Scheepers, P. T. J., et al. (2008). "Characterisation of exposure to total and hexavalent chromium of welders using biological monitoring." Toxicology Letters **178**(3): 185-190.

Shen, H., et al. (2007). "From mother to child: Investigation of prenatal and postnatal exposure to persistent bioaccumulating toxicants using breast milk and placenta biomonitoring." Chemosphere **67**(9): S256-S262.

Uehara, R., et al. (2006). "Human milk survey for dioxins in the general population in Japan." Chemosphere **62**(7): 1135-1141.

Vioque, J., et al. (2013). "Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women in a Mediterranean area." Nutr J **12**: 26.

Vizcaino, E., et al. (2009). "Analysis of whole congener mixtures of polybromodiphenyl ethers by gas chromatography-mass spectrometry in both environmental and biological samples at femtogram levels." J Chromatogr A **1216**(25): 5045-5051.

Vizcaino, E., et al. (2014). "Gestational weight gain and exposure of newborns to persistent organic pollutants." Environ Health Perspect **122**(8): 873-879.

Vizcaino, E., et al. (2011). "Polybromodiphenyl ethers in mothers and their newborns from a non-occupationally exposed population (Valencia, Spain)." Environment International **37**(1): 152-157.

Vizcaino, M. I. and J. M. Crawford (2015). "The colibactin warhead crosslinks DNA." Nat Chem **7**(5): 411-417.

Vrijheid, M., et al. (2012). "European birth cohorts for environmental health research." Environ Health Perspect **120**(1): 29-37.

Westerway, S. C., et al. (2000). "Ultrasonic fetal measurements: new Australian standards for the new millennium." Aust N Z J Obstet Gynaecol **40**(3): 297-302.



"Cross-Mediterranean Environment and Health Network (CROME)"

LIFE12 ENV/GR/001040

Task Technical Report



WHO (1996). "Biological monitoring of chemical exposure in the workplace." World Health Organization, Geneva, Suisse **1**.

Yu, Z., et al. (2007). "Comparison of organochlorine compound concentrations in colostrum and mature milk." Chemosphere **66**(6): 1012-1018.