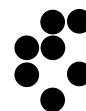


Institut "Jožef Stefan", Ljubljana, Slovenija



Jamova 39, 1001 Ljubljana, p. p. 3000 / Tel.: (01) 477 3900 / Faks: (01) 453 5400 /
www.ijs.si

CRP-V3-1640 – Izpostavljenost otrok in mladostnikov izbranim kemikalijam preko življenjskega okolja

ZAKLJUČNO POROČILO

Pogodba št. C2715-16-634802

Ljubljana, 25.11.2019

Naročnik:	Ministrstvo za zdravje, Urad Republike Slovenije za kemikalije, Ajdovščina 4, Ljubljana
Izvajalec:	Institut "Jožef Stefan", Jamova cesta 39, Ljubljana
Sodelujoče organizacije:	Nacionalni inštitut za javno zdravje Ljubljana Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano Maribor.
Vodja projekta	Prof. dr. Milena Horvat
Člani projektne skupine:	IJS: Milena Horvat, Ingrid Falnoga, Ester Heath, Radmila Milačič, Darja Mazej, Janja Snoj Tratnik, Anja Stajnko, Ajda Trdin, Marta Jagodič, Tina Kosjek, Žiga Tkalec, Agneta Annika Runkel NIJZ: Ivan Eržen, Lucija Perharič, Agnes Šömen Joksić, Simona Uršič, Andreja Kukec, Maja Martinčič, Katja Rostohar NLZOH: Zora Levačič, Boštjan Križanec, Mojca Baskar, Vesna Hrženjak, Jerneja Franko
Naslov poročila:	Zaključno poročilo V3-1640 – Izpostavljenost otrok in mladostnikov izbranim kemikalijam preko življenjskega okolja
Avtorji poročila:	Janja Snoj Tratnik, Andreja Kukec, Agnes Šömen Joksić, Katja Rostohar, Anja Stajnko, Ajda Trdin, Tina Kosjek, Žiga Tkalec, Darja Mazej, Ivan Eržen, Milena Horvat

Vodja projekta:

Prof. dr. Milena Horvat

**Odgovorna oseba izvajalca
Direktor:**

Prof. dr. Jadran Lenarčič

Pri naboru in vzorčenju so sodelovali:

- Odsek za znanosti o okolju, Institut »Jožef Stefan« (IJS), Ljubljana;
- Klinični laboratorij za klinično kemijo in biokemijo (KIKKB) Univerzitetni klinični center Ljubljana (UKCLJ – KIKKB);
- Nacionalni Institut za javno zdravje (NIJZ), Ljubljana.

Pri kemijskih analizah so sodelovali:

- Odsek za znanosti o okolju, Institut »Jožef Stefan« (IJS), Ljubljana;
- Klinični laboratorij za klinično kemijo in biokemijo (KIKKB) Univerzitetni klinični center Ljubljana (UKCLJ – KIKKB);
- Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano (NLZOH), Oddelek za okolje in zdravje, Maribor
- Laboratorij v Splošni bolnišnici Murska Sobota (SB MS);
- partnerji v EU projektih (HEALS, HBM4EU):
 - MVZ Medizinisches Labor Bremen, Nemčija;
 - Center of Research and Development, Spanish Research Council, Barcelona, Španija (CSIC);
 - VITO, Mol, Belgija.

SEZNAM OKRAJŠAV

2-OH-NAPH	2-hidroksi-naftalen
Σ OH-FLU	vsota hidroksi fluorenov
Σ OH-PHE	vsota hidroksi fenantrenov
1-OH-PYR	1-hidroksi-piren
ALAD	delta aminolevulinska dehidrataza
AMPA	aminometilfosfonska kislina (presnovek glifosata)
APOE	apolipoprotein E
AsIII	arzenit
AsV	arzenat
AS3MT	arzen (III) metil transferaza
BPA	bisfenol A
BPF	bisfenol F
BPS	bisfenol S
BDE	bromirani difenil etri
BuP	butil paraben
BzP	benzil paraben
DMA	di-metil arzenova kislina
EtP	etil paraben
GPX	glutation peroksidaza
FFS	fitofarmacevtsko sredstvo
iBuP	izo-butil paraben
iPrP	izo-propil paraben
IZ	interval zaupanja
MK	meja kvantifikacije
MMA	mono-metil arzenova kislina
MZ	meja zaznavnosti
OPP	organofosforni pesticidi
PAH	policiklični aromatski ogljikovodiki
PBDE	polibromirani difenil etri
PFAS	per- in poli-fluorirane spojine
PM	delec (ang. <i>particulate matter</i>)
PON1	Paraoxonaza 1
POPs	obstojna organska onesnažila
PrP	propil paraben
SELENOP	selenoprotein P
SG	specifična gostota
SNP	polimorfizem posameznega nukleotida (ang. <i>single nucleotide polymorphism</i>)
TDI	sprejemljiv dnevni vnos (ang. <i>tolerable daily intake</i>)
TMI	totalni metilacijski indeks
UGT	uridin difosfat-glukuronozil transferaza
VDR	Vitamin D receptor

KAZALO

SEZNAM OKRAJŠAV.....	4
POVZETEK	7
1 UVOD	10
1.1 OPREDELITEV PROBLEMA	10
1.2 FTALATI.....	11
1.3 BISFENOLI, TRIKLOSAN IN PARABENI.....	12
1.4 ZAVIRALCI GORENJA	13
1.5 POTENCIALNO STRUPENE KOVINE IN DRUGI KEMIJSKI ELEMENTI.....	15
1.6 PESTICIDI	18
1.7 Policiklični aromatski ogljikovodiki	20
1.8 VPLIV GENETSKIH VARIACIJ NA IZPOSTAVLJENOST OKOLJSKIM	24
2 METODE	25
2.1 ZASNOVA RAZISKAVE in OPREDELITEV OBMOČJA RAZISKOVANJA.....	25
2.2 PRIPRAVA PROTOKOLA RAZISKAVE.....	25
2.2.1 Izbor kemikalij	25
2.2.2 Izbor geografske regije	26
2.2.3 Izbor starostne skupine.....	26
2.2.4 Izbor matrice za vzorčenje	26
2.3 ETIČNO DOVOLJENJE.....	26
2.4 VKLJUČITVENI KRITERIJI.....	27
2.5 NABOR PREISKOVANCEV, VZORČENJE IN ORODJE RAZISKAVE.....	27
2.5.1 Priprava predstavitve za v šole za starše	27
2.5.2 Orodje raziskave – vprašalnik	27
2.5.3 Nabor preiskovancev	27
2.5.4 Vzorčenje	28
2.6 Transport in shranjevanje vzorcev	30
2.7 Shranjevanje podatkov	30
2.8 Laboratorijska analiza vzorcev	31
2.8.1 Multielementna analiza	31
2.8.2 Specijacija As v vzorcih urina.....	34
2.8.3 Metoda za določitev bisfenolov A, F in S, parabenov in triklosana v urinu.....	34
2.8.4 Določitev glifosata in presnovka AMPA v urinu.....	35
2.8.5 Določitev policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH) v urinu.....	35
2.8.2 Genetske analize.....	35
2.8.3 Spremljevalne biokemijske analize	37
2.9 Shranjevanje podatkov	38
2.9.1 Protokol shranjevanja podatkov	38
2.10 Statistična analiza podatkov.....	38
2.10.1 Postopek priprave podatkov, analiza in prikaz podatkov.....	38
2.10.2 Metode opisne statistike	39
Tabela 7. Odvisne spremenljivke vključene v analizo (velikost vzorca).....	39
Tabela 8. Neodvisne spremenljivke vključene v analizo (velikost vzorca).....	40
3 REZULTATI.....	41
3.1 Rezultati anketiranja.....	41
3.1.1 Podatki o zdravstvenem stanju in navadah otroka.....	41
3.1.2 Značilnosti bivališča in okolice	41

3.1.3	Potencialna izpostavljenost	42
3.1.4	Socio-demografski podatki	42
3.1.5	Prehranska anamneza	43
3.1.6	Izpostavljenost živemu srebru preko amalgamskih zalivk.....	43
3.1.7	Izpostavljenost pasivnemu kajenju.....	43
3.2	Potencialno strupene kovine in drugi kemijski elementi.....	44
3.2.1	Živo srebro	44
3.2.2	Svinec	57
3.2.3	Kadmij.....	67
3.2.4	Arzen	80
3.3	Esencialni elementi.....	93
3.3.1	Selen	93
3.3.2	Baker	104
3.3.3	Cink	115
3.4	Bisfenoli, triklosan in parabeni.....	126
3.5	Glifosat	149
3.6	PAH	156
3.6.1	1-hidroksi piren, 1-OH-PYR	156
3.6.2	2-hidroksi naftalen, 2-OH-NAP	159
3.6.3	Vsota hidroksi fenantrenov, Σ OH-PHE	162
3.6.4	Vsota hidroksi fluorenov, Σ OH-FLU	164
3.7	Frekvenčna porazdelitev minornih alelov izbranih SNP-jev.....	167
3.7.1	Arzenovi metaboliti v urinu in <i>AS3MT</i> haplotip	170
3.7.2	<i>ALAD</i> in koncentracije svinca v krvi.....	175
3.7.3	<i>APOE</i> in koncentracije selena v krvi in plazmi.....	175
4	Ocena izpostavljenosti.....	177
4.1	Potencialno strupene kovine in drugi kemijski elementi.....	177
4.2	Policiklični aromatski ogljikovodiki	178
4.2.1	1-OH-piren	178
4.2.2	2-OH-naftalen.....	179
4.2.3	Vsota hidroksi fenantrenov, Σ OH-PHE	179
4.2.4	Vsota hidroksi fluorenov, Σ OH-FLU	180
5	OCENA TVEGANJA	180
5.1	Potencialno strupene kovine in drugi kemijski elementi.....	181
5.2	Policiklični aromatski ogljikovodiki	182
5.3	Bisfenoli.....	185
5.4	Triklozan.....	185
5.5	Parabeni	186
6	DISEMINACIJA	186
6.1	Komunikacija individualnih rezultatov	189
6.2	Komunikacija strokovni in laični javnosti.....	189
7	ZAKLJUČEK.....	190
8	LITERATURA	192
7	SEZNAM PRILOG	200

POVZETEK

Naročnik in izvajalec raziskave sta se dogovorila in sklenila pogodbo št. Pogodba št. C2715-16-634802 o sofinanciranju in izvajanju raziskovalnega projekta z naslovom *Izpostavljenost otrok in mladostnikov izbranim kemikalijam preko življenjskega okolja* v okviru Ciljnega raziskovalnega programa »CRP 2016«. Projekt v enakem deležu financirata Urad Republike Slovenije za kemikalije (URSK) in Javna agencija za raziskovalno dejavnost (ARRS), šifra pri ARRS je V3-1640. Trajanje projekta je 1. 10. 2016 – 30. 9. 2019. Sodelujoče institucije so Institut »Jožef Stefan« Ljubljana (izvajalec), Nacionalni inštitut za javno zdravje Ljubljana in Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano Maribor. Predloženo poročila predstavlja povzetek dela od 1. 10. 2016 – 30. 9. 2019.

Glavni namen raziskave je zagotoviti podporo aktivnostim na področju zmanjševanja izpostavljenosti izbranim kemikalijam otrok in mladostnikov v življenjskem okolju. V okviru raziskave smo tako razvili metodološki pristop, ki temelji na harmoniziranem humanem biomonitoringu, ki zagotavlja pravilno oceno izpostavljenosti otrok in mladostnikov izbranim kemikalijam preko življenjskega okolja. Izbor kemikalij temelji na podatkih predhodnih študij v Sloveniji in v Evropi in je usklajen s strokovnimi prioritetami. Izbrane kemikalije v študiji so kovine, bisfenoli, ftalati, bromirani zaviralci gorenja, parabeni, triklosan in nekateri pesticidi. Dodatno smo zaradi pomankanja podatkov v študijo vključili tudi policiklične aromatske ogljikovodike. Izmed izbranih kemikalij, rezultati za bromirani zaviralci gorenja, ftalate in organsofosforne pesticide v času priprave poročila še niso bili na voljo, saj bodo določeni v laboratorijih, ki bodo izbrani v medlaboratorijskih primerjavah v evropski študiji HBM4EU. Poleg potencialno strupenih kemikalij pa smo ocenili tudi prehranjenost z nujnimi (esencialnimi) elementi, ki so pomembni zaradi svoje zaščitne vloge. Večjo ali manjšo občutljivost posameznika za strupenost kemikalij smo poskušali opredeliti s pomočjo določanja genskih razlik med posamezniki. Razlike v genskem zapisu beljakovin, ki sodelujejo pri presnovi potencialno škodljivih kemikalij v telesu, lahko zmanjšajo ali povečajo tveganje za negativne učinke na zdravje posameznika tudi pri nizki izpostavljenosti.

Ker je na področju Slovenije relativno malo podatkov o izpostavljenosti pesticidom, smo se odločili, da bomo raziskavo pričeli izvajati v Prekmurju kot območju intenzivnega kmetijstva. Osredotočili smo se na populacijo otrok v starosti 6-9 let in mladostnikov v starosti 12-15 let. Na podlagi rezultatov laboratorijskih analiz in podatkov vprašalnikov (prehranske navade, bivalno okolje, hobiji, socio-ekonomski status, itd...) smo ocenili izpostavljenost izbranim kemikalijam. Ocena izpostavljenosti bo služila za izdelavo ocene tveganja. V primeru ugotovljenega tveganja bomo predlagali ustrezne ukrepe.

Vsebnost potencialno strupenih elementov, ki smo jih določili pri preučevani populaciji otrok iz Prekmurja, je bila relativno nizka in le malo otrok je presegalo mejne vrednosti, ki so določene bodisi na osnovi pričakovanih negativnih učinkov na zdravje ali na osnovi referenčnih populacijskih vrednosti. V primerjavi z nedavno študijo CROME; v katero so bili vključeno otroci stari med 7 in 8 let iz osrednjeslovenske regije (neobjavljeni podatki), so vrednosti za škodljive elemente pri prekmurskih otrocih opazno nižje. Vseeno pa smo opazili nekaj razlik med posameznimi skupinami oz. glede na življenjske (predvsem prehranske) navade. Vsebnost Hg v krvi, urinu ali laseh je bila nekoliko višja pri otrocih s pogostejšim uživanjem rib in druge morske hrane, v krvi in plazmi pa pri tistih, ki so imeli amalgamske zobne zalivke. Med območji ni bilo bistvenih razlik, je pa bila vsebnost Hg v laseh nekoliko višja pri otrocih iz Lendvskih goric. Vsebnost Pb v krvi je bila bistveno nižja kot pri osrednjeslovenski populaciji, vendar pa nanjo ni vplival tip vodovodne oskrbe, kot smo opazili pri odrasli slovenski populaciji. Smo pa opazili vpliv vodovodne oskrbe na vsebnost Pb v urinu ali laseh, in sicer so imeli otroci z

manjšim javnim vodovodom nekoliko višje vrednosti. Glede na območje je bila vsebnost Pb v urinu pri drugem vzorčenju in laseh višja na ravninskem delu. Pri Cd prav tako nismo opazili bistvenih razlik med posameznimi skupinami, je pa bilo pri poletnem vzorčenju urina bistveno več otrok, ki so presegali HBM I vrednost v urinu (10 %), v primerjavi z zimskim vzorčenjem (le dva otroka presegla HBM I). Prav tako je bila pri poletnem vzorčenju opazno višja vsebnost Cd v urinu na ravninskem delu Prekmurja. Pasivno kajenje ni vplivalo na vsebnost Cd pri otrocih, razlike med spoloma so bile zanemarljive, razen v laseh, kjer je bil Cd bistveno višji pri fantkih in tudi pri mlajši starostni skupini. Arzen v urinu je bil v glavnem posledica uživanja morske hrane, kar smo dokazali tudi s speciacijsko analizo. So pa bile vrednosti celotnega As nekoliko višje v poletnem vzorčenju, ko je tudi več otrok preseglo mejne vrednosti (22 %) v primerjavi z zimskim vzorčenjem (15 %). Uživanje morske hrane je vplivalo tako na urinske vrednosti, kot tudi na plazemske in krvne, na tiste v laseh pa ne. Vrednosti so bile na splošno višje kot pri osrednjeslovenski populaciji (CROME). Na podlagi speciacijske analize smo ugotovili, da je bila izpostavljenost anorganskemu As pri preučevani populaciji otrok zelo nizka. Otroci stari 6-9 let so imeli učinkovito metilacijo, kar se kaže z nižjimi deleži AsIII in MMA, ter višjimi vrednosti DMA. Podobno smo opazili pri fantkih.

Za razliko od ne-esencialnih elementov, so bile vrednosti esencialnih (Se, Cu, Zn) podobne kot pri osrednjeslovenski populaciji. Pod območjem optimalnega delovanja je bil le majhen delež otrok, in sicer v primeru Se v plazmi 5 %, v primeru Cu v plazmi 9 %, in v primeru Zn v plazmi 11 % otrok. Mejno povišane vrednosti v plazmi so imeli le trije otroci v primeru Cu, in 6 otrok v primeru Zn. Sicer pa smo opazili razlike med spoloma, in sicer so imele v povprečje deklice nekoliko višje vrednosti za Cu, fantki pa izrazitejše za Zn. V primeru Se je bila razlika opazna le pri vsebnosti v urinu – višja pri fantih. Glede na območje bivanja so bile opazno višje vrednosti Cu zaznane na ravninskem delu, Zn (samo kri) pa na Goričkem. Glede na starost pa so imeli višje vrednost za Cu mlajši otroci, za Zn pa starejši. Se v urinu in plazmi je bil nekoliko višji pri mlajših otrocih.

Izmed bisfenolov, ki smo jih določali v urinu otrok (zimsko vzorčenje) je prevladoval BPA, medtem ko sta bila BPS in BPF prisotna v bistveno nižjih koncentracijah, BPS je bil pri 70 % otrok celo pod mejo kvantifikacije. Vsebnost BPA je bila podobna tisti, ki smo jo določili v študiji DEMOCOPHES pri otrocih starih 6-11 let iz Ljubljane in Šmarja pri Jelšah in nihče od otrok ni presegel HBM I vrednosti. Omeniti velja, da je v primerjavi z ameriško populacijo otrok, pri nas BPA v povprečju višji, BPS in BPF pa bistveno nižji, kar nakazuje, da v ZDA omejujejo porabo BPA, povečujejo pa porabo alternativ, kot sta BPS in BPF. Vsebnost bisfenolov se je nekoliko razlikovala med posameznimi skupinami, in sicer sta bila BPS in BPF nekoliko višja na Goričkem; nekoliko višja sta bila tudi pri starejši skupini otrok. Vsebnost BPA se ni razlikovala glede na uporabo plastičnih posod, konzerv ipd; smo pa opazili višje vsebnosti BPS v urinu otrok, ki so pogosteje uživali hrano pogreto v plastičnih posodah.

Vsebnost presnovkov parabenov je bila v splošnem zelo nizka, vendar pa so imeli določeni posamezniki visoke koncentracije, predvsem metil parabena. V primerjavi z ameriško populacijo NHANES, so imeli prekmurski otroci v povprečju nižje vsebnosti metil parabena, propil paraben je bil kvantificiran le pri 20 % otrok; smo pa pri nas zaznali bistveno več etil parabena kot v ZDA. Glede na območje bivanja, smo opazili višje vsebnosti etil parabena v Lendavskih goricah. Deklice so imele bistveno višje vsebnosti metil parabena v primerjavi s fanti, kar nakazuje na večjo uporabo kozmetike. Med kozmetičnimi izdelki vključenimi v vprašalnik, smo opazili statistično pomemben vpliv uporabe balzama za ustnice oz. šminke na metil in etil paraben v urinu, ter uporabe ličil za oči na vsebnost metil parabena. Glede na starost smo opazili razliko v vsebnosti etil parabena, in sicer so bile vrednosti višje pri starejši skupini otrok, kar je predvsem na račun višjih vrednosti pri starejših deklicah.

Vsebnost triklozana je bila v splošnem nizka, poleg tega nihče od otrok ni presegel HBM I vrednosti. Višje vrednosti so imeli starejši otroci.

Vrednosti glifosata in metabolita AMPA so bile v urinu otrok iz Prekmurja zelo nizke, tako v zimskem kot v poletnem vzorčevalnem obdobju. Pri zimskem vzorčenju sta bila glifosat in AMPA pod mejo kvantifikacije pri 73 in 50% otrocih, ter pri drugem vzorčenju pri 78 in 44%. Nihče od preiskovancev (ne glede na čas vzorčenja) ni presegel okvirno določene referenčne vrednosti 0,8 µg/L za glifosat, medtem ko je v primeru AMPA referenčno vrednost 0,5 µg/L presegalo 22 preiskovancev (10%) samo pri drugem vzorčenju (Hoppe in sod. 2013). Poleg obdobja vzorčenja se vsebnost glifosata in AMPA ni bistveno razlikovala tudi glede na območje bivanja, spol in starostno skupino. Statistična obdelava rezultatov ni pokazala signifikantnega vpliva uporabe herbicidov (poročana je bil v 46 primerih) ali bližine obdelovalnih površin na vrednosti glifosata ali metabolita AMPA v urinu. Prav tako nismo opazili vpliva prehrabnih navad otroka ipd.

Vrednosti urinskih presnovkov PAH pri preiskovani populaciji ne izkazujejo bistvenega odstopanja od vrednosti v primerljivih raziskavah oziroma od razpoložljivih referenčnih vrednostih ali orientacijskih vrednosti, postavljenih na območju EU. Na podlagi opravljene raziskave lahko ocenimo, da gre pri preiskovani populaciji na obravnavanem območju za primerljivo izpostavljenost organizma zaradi izpostavljenosti PAH. Podatkov o koncentracijah urinskih presnovkov PAH, pri katerih so pričakovani prehodni škodljivi biološki učinki (in so izhodišče za oceno tveganja za zdravje), ni na voljo, kljub temu ugotovitev merljive koncentracije enega ali več presnovkov PAH v urinu ne pomeni, da ugotovljena raven povzroča škodljiv vpliv na zdravje. Prisotnost presnovkov PAH v urinu je nakazala povezavo z izpostavljenostjo pasivnemu kajenju. V shemah HBM se kot najpogostejši biomarker največkrat pojavlja 1-hidroksi-piren, ki velja kot indikatorski biomarker izpostavljenosti PAH. Za razliko od večine študij, smo v okviru naše raziskave poleg presnovkov pirena, ugotavljali koncentracije urinskih presnovkov tudi nekaterih drugih nizkomolekularnih predstavnikov PAH, in sicer fenantrena, naftalena in fluorena. Pokazali smo, da je osredotočenost v okviru HBM samo na piren nezadostna, saj je bil njegov delež izmed vseh analiziranih presnovkov najmanjši.

Vključitev biomarkejev občutljivosti na genski ravni je pokazala oz. potrdila protektiven vpliv haplotipa polimorfizmov posameznega nukleotida (SNP-jev) v genu za arzen (III) metil transferazo (*pAS3MThap*) na metilacijo As pri populaciji otrok z nizko izpostavitvijo anorganskemu As. Nosilci haplotipa (*pAS3MThap+*) so izrazili statistično pomembno nižje deleže AsIII in višje vrednosti totalnega metilacijskega indexa (TMI) kot ne-nosilci (*pAS3MThap-*). Opazili smo tudi vpliv dveh SNP-jev v genu za δ- aminolevulinsko dehidratazo (*ALAD*) na koncentracije Pb v krvi, ki je pomenila do 12 % nižje vrednosti Pb pri nosilcih minornih alelov; ter nekaj drugih razlik, npr. razlika v koncentraciji Se med nosilci in ne-nosilci epsilon 4 alela v genu za apolipoprotein E (*APOE*). Poleg tega smo določili frekvence minornih alelov dvajsetih SNP-jev, ki smo jih izbrali pri preiskovani populaciji iz Prekmurja. Primerjava s frekvencami populacij z različnih geografskih področij znotraj ali blizu Slovenije, Evrope ter drugih populacij po svetu je pokazala, da so frekvence analiziranih SNP-jev zelo primerljive s frekvencami evropskih populacij in da se v večini primerov statistično pomembno razlikujejo od frekvenc za vsaj eno od azijskih ali afriških populacij.

Biomarkerji občutljivosti so pomembna nadgradnja v HBM študiji, saj lahko zmanjšajo ali povečajo tveganje za negativne učinke na zdravje posameznika tudi pri nizki izpostavljenosti, kakršno opažamo pri splošni slovenski populaciji za večino kemikalij. Izbor genov v pričujoči študiji je omejen na tiste, za katere že obstajajo podatki, da lahko vplivajo, bodisi na privzem, prerazporejanje, presnovo in/ali izločanje okoljskih onesnaževal v telesu.

1 UVOD

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Kemikalije so nepogrešljive v vsakdanjem življenju, zato so tudi možnosti prekomerne izpostavljenosti nevarnim kemikalijam večje. Neustrezna raba in ravnanje s kemikalijami, njihovimi ostanki in odpadki, ki vsebujejo kemikalije, ter živili, pitno vodo in s predmeti splošne uporabe, ki kemikalije vsebujejo v manjših koncentracijah (npr. kozmetika, igrače), lahko negativno vplivajo na zdravje. Z vidika varne uporabe kemikalij je potrebno najprej oceniti, kakšna je dejanska izpostavljenost in kakšni so možni škodljivi učinki na zdravje. V tem procesu je potrebno upoštevati pot vnosa oz. stika, odnos med odmerkom in učinkom odvisno tudi od genetske občutljivosti, starosti, spola, poklicne izpostavljenosti, prehranskih navad in razvad ter bolezenskih stanj izpostavljenega organizma. Pri oceni izpostavljenosti se ugotovi velikost odmerka in trajanje izpostavljenosti. Na izpostavljenost vpliva več dejavnikov kot so vedenjski vzorci, način uporabe, bivanjske okoliščine itd, Eden od dejavnikov je lahko tudi genetska občutljivost posameznikov, saj lahko majhne razlike v genskem zapisu vplivajo na izražanje škodljivih učinkov kemikalije. Učinek je namreč lahko različen med posamezniki, čeprav so izpostavljeni enaki ravni kemikalije. Spremembe v genskem zapisu proteinov, ki sodelujejo pri privzemu, prenosu ali odstranjevanju strupenih kemikalij v telesu, lahko bodisi zmanjšajo bodisi povečajo tveganje za škodljive učinke na posameznika, še posebej pri nizki izpostavljenosti.

Na podlagi rezultatov in vitro in in vivo laboratorijskih poskusov, kliničnih primerov in epidemioloških študij ter v zadnjem času tudi podatkov in silico študij se upoštevajoč negotovosti določi referenčne odmerke za posamezno kemikalijo, to je odmerke, ki ne pomenijo tveganja za zdravje. Če ocenjena izpostavljenost presega referenčne (varne) odmerke, to pomeni tveganje za zdravje in so potrebni ukrepi za zmanjševanje izpostavljenosti. Za zagotavljanje varne uporabe kemikalij je zelo pomembno sistematično osveščanje in poučevanje čim širšega kroga ljudi ter promocija varnega ravnanja s kemijskimi sredstvi kot tudi ustreznega ravnanja s hrano, vodo in predmeti splošne uporabe, ki ostanke kemikalij vsebujejo v manjših koncentracijah. Pomembno je tudi vzpostaviti sistem za prepoznavanje izpostavljenosti, in ocenjevanje tveganj. Le dobri podatki in ustrezne informacije omogočajo uspešno ukrepanje za zmanjšanje tveganj za zdravje.

Nosečnice, otroci in mladostniki predstavljajo posebej ranljive skupine prebivalstva, pri katerih je zaradi rasti in razvoja organizma ter specifičnih fizioloških značilnosti vpliv škodljivih kemikalij lahko še bolj izražen kot pri ostalih skupinah prebivalstva.

Da bi spodbudila prizadevanja za manjšo izpostavljenost škodljivim snovem, je Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) za območje Evropske regije, na svoji 5. Ministrski konferenci 2010, v Parmi sprejela strategijo za zdravje otrok in mladostnikov v povezavi z okoljem. Ta strategija je bila podlaga za Strategijo za zdravje otrok in mladostnikov v povezavi z okoljem 2012-2020 (http://www.mz.gov.si/uploads/media/strategija_zdravje_otrok_040212.pdf), ki jo je Vlada Republike Slovenije sprejela 1.12.2011. Strategijo je pripravila Medresorska delovna skupina državnih sekretarjev za izvajanje zavez Ministrske konference v Parmi. Na podlagi te strategije je bil izdelan Akcijski načrt, ki opredeljuje konkretne naloge resorjev in deležnikov do leta 2020.

Ocenjevanje tveganja za razvoj in zdravje otrok in mladostnikov zaradi izpostavljenosti kemikalijam je ključnega pomena za vse nadaljnje aktivnosti in predpogoj za uspešno izvajanje zavez strategije za zdravje otrok in mladostnikov.

V okviru projekta bomo razvili metodološki pristop za ugotavljanje izpostavljenosti otrok in mladostnikov izbranim kemikalijam preko življenjskega okolja, ocenili obremenjenost otrok in mladostnikov s temi kemikalijami ter ocenili tveganje za zdravje.

Izbor kemikalij, ki jih predlagamo temelji na podatkih predhodnih študij v R Sloveniji in v Evropi in je usklajen tudi s prioritetami, ki jim javnost trenutno posveča največ pozornosti. Med te spadajo zlasti spojine, ki so hormonsko aktivne in lahko delujejo tudi nevrotoksično: bisfenoli, ftalati, bromirani in fluorirani ogljikovodiki, in organofosforni pesticidi ter sredstva za osebno nego kot so parabeni in triklosan. Ocenili bomo tudi izpostavljenost škodljivim in potencialno škodljivim kemijskim elementom in prehranjenost z esencialnimi elementi, med katerimi so nekatere hormonsko aktivne in/ali nevrotoksične.

1.2 FTALATI

Ftalati so skupina industrijskih spojin, ki se množično uporabljajo kot plastifikatorji v industrijskih produktih, kot so nitroceluloza, polivinil acetat, polivinilklorid (PVC), adhezivi in obloge. Uporabljajo se predvsem zaradi njihove lastnosti, da naredijo sintetične organske polimere mehkejše in s tem primernejše za obdelavo v izdelkih (v EU > 95 % uporabe). Od ostalih 5 % uporabe se več kot polovica uporablja pri proizvodnji drugih polimerov (največ kavčuk, guma), ostalo pa v ne-polimernih izdelkih, kot so črnila, lepila, tesnilna sredstva, barve, kozmetični izdelki, laki. Najdemo jih v mnogih izdelkih iz mehke plastike, kot so gradbeni materiali (kabelske izolacije, talne obloge, barve in podobno), avtomobilska oprema, rokavice, oblačila, obutev in podobno. Najdemo jih tudi v igračah in izdelkih za nego otrok ter v materialih, ki se uporabljajo v proizvodni opremi in pri pakiranju živil. Kot mehčalci plastike se uporabljajo tudi v medicinskih pripomočkih. Njihova uporaba sega tudi na področje kozmetičnih izdelkov, kjer se uporabljajo kot lubrikanti v aerosolih, v izdelkih proti penjenju in emolientih za kožo. Ftalati se intenzivno uporabljajo od leta 1960. Letna svetovna proizvodnja ftalatov je ocenjena na 4 milijone ton. Ftalati praviloma niso kemično vezani na PVC, zato se iz končnih izdelkov sproščajo celotno njihovo življenjsko obdobje, kar je privedlo do njihovega vsesplošnega širjenja v okolju. Glede izpostavljenosti človeka ftalatom lahko splošno populacijo razdelimo v podskupine, saj je stopnja izpostavljenosti lahko zelo različna pri odraslih in otrocih, delno tudi na račun predvidene večje biorazpoložljivosti ftalatov pri otrocih. Odrasli in otroci so lahko ftalatom izpostavljeni preko stika s kožo, inhalacije in peroralno. Vnos s hrano je bil opredeljen kot glavni način izpostavljenosti pri splošni populaciji, razen pri dojenčkih. Hrana je vzrok za več kot 90 % ocenjenega dnevnega vnosa ftalatov pri ljudeh. Do kontaminacije pri živilih lahko pride med predelavo, transportom, pri pakiranju in shranjevanju, predvsem zaradi migracije ftalatov iz materialov uporabljenih pri proizvodnji in pakiranju živil. Obstaja velika razlika v stopnji kontaminacije živil s ftalati, odvisno od embalaže in procesa pridelave ter vsebnosti maščob. Najpomembnejši izvori izpostavljenosti ftalatom v hrani so, mlečni izdelki, maščobe in olja, zrna, mleko in meso in pijače. Najpomembnejši ostali viri izpostavljenosti so gradbeni materiali in pohištvo, oprema v notranjosti avtomobilov, oblačila, obutev, rokavice, igrače in oprema za dojenčke, kozmetični izdelki. Poleg vnosa ftalatov v telo preko hrane in izdelkov splošne rabe, predstavlja pomemben vir izpostavljenosti ftalatom še inhalacija prahu. Vdihavanje zraka oziroma delcev v zaprtih prostorih predstavlja približno 1 % izpostavljenosti (Kranvogel, 2014). Najpomembnejši škodljivi učinek ftalatov je njihova reproduktivna toksičnost – spadajo med spojine z učinkom na endokrini sistem (hormonski motilci). Problematično pri endokrinih motilcih je dejstvo, da so varne meje lahko zelo nizke in zato težko določljive – vsaka najmanjša izpostavljenost lahko vodi v škodljive učinke, verjetnost le-teh z naraščanjem odmerka narašča. Za toksične učinke endokrinih motilcev so dovzetni zlasti otroci (Koch in sod., 2012; Sarigiannis in sod., 2014).

Vsebnosti teh spojin v bioloških vzorcih so proučevali v številnih državah. Najobsežnejša raziskava o metabolitih ftalatov je ameriška raziskava NHANES. V letih 2001-2002 so določili

vsebnosti metabolitov različnih ftalatov v urinskih vzorcih pri 2782 odraslih osebah in otrocih v ZDA. Baza podatkov NHANES se je redno posodabljala v zadnjem desetletju: 2003-2004 (n=2605), 2005-2006 (n=2548) in 2007-2008 (n=2604). Ugotovili so, da so si vsebnosti ftalatov v teh različnih obdobjih podobne. Povprečne koncentracije se spreminjajo glede na starost, pri mlajših starostnih skupinah so koncentracije metabolitov višje v primerjavi s starejšimi otroci in odraslimi. Priporočljivi sprejemljivi dnevni vnosi (TDI) za posamezne ftalate, ki so bili postavljeni s strani Znanstvenega odbora Evropske unije za prehrano (SCF), se gibljejo od 10 µg/kg tm na dan za najbolj toksični di-n-butilftalat (DnBP) do 500 µg/kg tm na dan za manj toksičen benzilbutilftalat (BzBP). Za najpogosteje uporabljen DEHP znaša TDI 50 µg/kg na dan. Agencija Združenih držav Amerike za varovanje okolja (EPA) je sprejela, da je referenčni odmerek (RfD) za DEHP 20 µg/kg tm na dan.

Med najnovejše pomembne rezultate spadajo izsledki sodelovanja Slovenije dveh EU projektih (COPHES/DEMOCOPHES). V študijo je bilo vključenih 17 držav članic EU v letih 2010 do 2012 (Den Hond in sod., 2015). V študijo so bili vključeni tudi vzorci prostovoljcev iz Slovenije, 156 parihi mati -otrok in 69 moških (očetje/partnerji). Poleg drugih onesnaževal so bili določeni tudi metaboliti ftalatov (MEP, MEHP, DEHP=5oxoMEHP+5OH-MEHP, MBzP in MnBP) v vzorcih urina otrok v starostnem obdobju od 6 do 11 let ter njihovih mamic do 45 leta starosti. Rezultati te študije so pokazali, da so vrednosti metabolitov ftalatov izmerjene v vzorcih otrok in mamic iz Slovenije pod evropskim povprečjem. Otroci so imeli najvišje koncentracije (p<0.001). Koncentracije metabolita ftalata MnBP so bile v primerjavi t ruralnim okoljem višje v urbanem okolju (p<0.001). MEHP in DEHP pa so bili pomembno višji pri podeželski populaciji (p<0.001). Metaboliti ftalatov so bili v pozitivni korelaciji z uživanjem lešnikovega namaza (MEP, MnBP), sladoleda (MEP) in uporabo žvečilnih gumijev (MEP, DEHP). Opremljenost stanovanj s PVC je bila povezana s koncentracijo MBzP. Le-ta je bil opazen tudi pri pogosti rabi sredstev za osebno nego otrok.

1.3 BISFENOLI, TRIKLOSAN IN PARABENI

Bisfenol A (BPA) in njegove alternative, triklozan in parabeni ter nonilfenoli predstavljajo skupine organskih onesnaževal, ki lahko vplivajo na kakovost živih organizmov vključno s človekom, saj so potencialni hormonski motilci. Jakost učinkov tovrstnih spojin zavisi od značilnosti spojine, njene koncentracije v izpostavljenem organizmu, stanju organizma (npr. starost, fizično stanje) ter času izpostavljenosti (npr. kronična izpostavljenost).

BPA je pogosta komponenta pri izdelavi polikarbonatne plastike in epoksi smol, ki imajo zelo razširjeno uporabo v vsakdanjem življenju in tako predstavlja okoljski problem ter potencialno nevarnost za organizme. Glavni vnos BPA v človeka je preko kontaminiranih živil, manjši vir pa predstavljajo dentalni materiali ter absorpcija skozi kožo npr. zaradi izpostavitve termičnemu papirju. Skrb vzbujajoče je dejstvo, da izpostavljenost organizmov ostankom BPA lahko vpliva na njihovo reproduktivnost in je hormonski motilec. Izpostavljenost BPA v EU je nižja od tistih, ki povzročajo škodljive učinke na zdravje, referenčni odmerek je 4 µg/kg tm/dan. Kljub temu je EU preventivno prepovedala BPA v plastičnih stekleničkah za dojenčke, nekatere članice pa so že sledile Franciji, ki je prepovedala BPA v vseh materialih, ki so v stiku z živili. Šest članic, med njimi tudi Slovenija, ukinitvi nasprotuje. Proizvajalci se zaradi naraščajočega zavedanja uporabnikov o škodljivosti BPA ter čedalje strožji zakonodaji preusmerjajo k alternativam BPA, kot so npr. BPS, BPB, BPF in BPAF, zato se številni proizvodi sedaj oglašujejo kot »BPA free«. Vseeno pa »BPA free« ne pomeni, da so ti izdelki tudi brez estrogene aktivnosti. Nedavne raziskave so namreč pokazale, da uporabo tovrstnih zamenjav prav tako spremlja potencialno tveganje, zato so nujno potrebne študije o pojavnosti, kroženju ter učinkih teh spojin (Goldinger in sod., 2015; Česen in sod., 2016).

Triklozan je protimikrobno sredstvo, baktericid, konzervans in stabilizator, ki ga najdemo v izdelkih za osebno nego (zobna pasta, detergenti, mila, šamponi, losjoni, kreme za obraz). Raziskave kažejo, da je triklozan potencialni hormonski motilec. Parabeni so skupno ime za estre para-hidroksibenzojske kisline in se uporabljajo, tako kot triklozan, v kozmetični in farmacevtski industriji kot konzervansi, saj imajo baktericidne in fungicidne lastnosti. Najdemo jih v šamponih, vlažilcih, gelih, mazilih, zdravilih, ličilih, zobnih pastah in tudi v prehrabnih izdelkih. Parabeni lahko povzročijo pri občutljivih posameznikih alergijske reakcije in kontaktni dermatitis. So tudi hormonsko aktivni (Błędzka in sod., 2014).

V Sloveniji je bil izveden obširen biomonitoring BPA (EU FP7 COPHES/DEMOCHOPES), v okviru katerega smo analizirali vzorce urina otrok in mater iz šestih evropskih držav (Belgija, Danska, Luksemburg, Slovenija, Španija in Švedska). V raziskavo je bilo vključenih 674 parov mati-otrok (5-12 let). Rezultati so pokazali, da so bile geometrijske sredine določenih vrednosti za vse države (95% CI), upoštevajoč vrednosti za kreatinin, starost in spol, 2,04 µg/L pri 653 otrocih in 1,88 µg/L pri 639 materah. Kot najpomembnejši faktor pri napovedi vsebnosti BPA v vzorcih urina sta se izkazala uživanje konzervirane hrane in socialni status udeležencev. Individualne vrednosti BPA pri otrocih so imele vidno korelacijo z vrednostmi BPA pri materah, kar nakazuje na vpliv okoljskih/prehranjevalnih navad, ki lahko vplivajo na raven biomarkerjev pri preučevanih parih. Rezultati kažejo, da je v splošnem izpostavitvev evropske populacije nizko pod vrednostmi, ki so predpisane v zdravstvenih priporočilih in, da nihče izmed udeležencev biomonitoringa ni imel BPA vrednosti nad to predpisano vrednostjo (Covaci in sod., 2015). V biomonitoring EU FP7 DEMOCHOPES so bili vključeni tudi triklozan in izbrani parabeni (metilparaben, etilparaben, propilparaben, izopropilparaben, butilparaben, izobutilparaben in benzilparaben). Rezultati nakazujejo višje vsebnosti triklozana in parabenov pri materah in posameznikih iz mestnega okolja v primerjavi s tistimi iz podeželskega. Paraben EtP je bil povezan z uporabo sredstev za osebno nego, tMeP pa z uporabo losijonov in krem.

1.4 ZAVIRALCI GORENJA

Zaviralci gorenja so različne kemične snovi, ki se za povečanje požarne varnosti dodajajo številnim materialom in predmetom splošne rabe. Najdemo jih v gradbenih materialih, električnih in elektronskih napravah, talnih oblogah, tekstilu, usnju, papirju, lesu, plastiki, lepilih, tesnilih, premazih in barvah. V 2007 je skupna poraba v Evropski uniji (EU) znašala 529 000 t, od tega aluminijevega trihidrata 280 000 t, organofosfornih spojin 83 000 t, bromiranih spojin 45 000 t, kloriranih spojin 40 000 t in antimonovih spojin 20 000 t (Arcadis, 2011). Zaviralci gorenja so na osnovni material lahko kemično vezani ali pa ne. V okolje prehajajo iz industrijskih virov, z izhlapevanjem in izluževanjem iz predmetov splošne rabe ter pri njihovem razpadu. Izpostavljenost zaviralcem gorenja je povezana z uporabo predmetov splošne rabe, socialno-ekonomskim statusom; pomembna dejavnika sta tudi vdihavanje prahu in prezračevanje bivalnih prostorov. Zaviralcem gorenja smo lahko izpostavljeni preko dihal (vdihavanje hlapov in prahu), preko kože (rokovanje s predmeti splošne rabe) in z zaužitjem, ker preko okolja lahko prehajajo v prehransko verigo. To še posebej velja za obstojne spojine kot so brominirani zaviralci gorenja (Gill, 2004; Lyche in sod. 2015; WHO, 2015).

V skupino zaviralcev gorenja spada torej večje število kemikalij. Velikokrat mislimo samo PBDE-je. Ti se več uporabljajo v Ameriki kot v EU, nekateri so že prepovedani. So pa to obstojne spojine in so še vedno prisotni v okolju. Bromirane zaviralce gorenja (Flame Retardants – FR) dodajajo v različne industrijske izdelke kot na primer plastika, tekstil, elektronska oprema in gradbeni materiali. Glavni skupini spojin sta polibromirani difenil etri (PBDE) in heksabromociklododekan (HBCD) (Vorkamp, 2012). FR spojine se tako, kot ostala lipofilna organska onesnažila iz gospodinjstev, urbanih, kmetijskih in industrijskih odplak, kopičijo v odpadni vodi na čistilnih napravah. Ljudje so lahko izpostavljeni PBDE z zaužitjem

hrane, preko hišnega prahu in notranjega ter zunanjega zraka (Fromme in sod., 2009). Izdelki večinoma vsebujejo zmesi spojin iz skupine zaviralcev ognja. PBDE in HBCD spojine spadajo med lipofilna, slabo razgradljiva obstojna organska onesnažila (POPs), ki se bioakumulirajo preko prehranjevalne verige ali biomagnificirajo v živih organizmih. Zato so te spojine predmet Stockholmske konvencije. Evropska agencija za hrano- EFSA, je v poročilu leta 2012 navedla 17 bromiranih FR, ki se nahajajo v okolju in pri ljudeh ter opozarja na pomanjkljivo razumevanje prenosa, prisotnosti in vplivih na zdravje ljudi (EFSA, 2012). PBDE in HBCD spojine potencialno povzročajo negativne učinke na delovanje živčnega in hormonskega sistema, ter imajo tudi kancerogene lastnosti. Pri ljudeh se PBDEs nahajajo predvsem v serumu in materinem mleku (Herbstman in sod. 2010; Covaci in sod., 2006; Chemical substances, 2012; Andra in sod., 2012, Harrad in sod., 2010).

Polibromirani bifenil etri (PBDE) so skupina strukturno sorodnih kemikalij, ki so kemijsko podobne PCB. Proizvodnja in uporaba PBDE je naraščala od 70. let prejšnjega stoletja. Uporabljale so se tri komercialne mešanice, penta BDE, okta BDE in deka BDE. V penta bromo formulaciji, ki se je uporabljala kot dodatek poliuretanskim penam v pohištvo, talnih oblogah (tapisonu) in posteljnini, so prevladovali BDE-47 (2,2',4,4'-tetrabromobifenil eter), BDE-99 (2,2',4,4',5-pentabromobifenil eter) in BDE-100 (2,2',4,4',6-pentabromobifenil eter). V oktabromo zmesi, ki se je uporabljala v polistirenu, so prevladovali BDE-183 (2,2',3,4,4',5',6-heptabromobifenil eter), BDE-153 (2,2',4,4',5,5'-heksabromobifenil eter) in BDE-154 (2,2',4,4',5,6'-heksabromobifenil eter). Zaradi toksičnosti in potenciala za kopičenje sta penatbromoin oktabromo formulaciji v EU prepovedani, medtem ko se dekabromo (BDE-209 : 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-dekabromobifenil eter) še vedno uporablja predvsem kot zaviralec gorenja v tekstilu in elektronskih napravah. V predmetih splošne rabe je vsebnost PBDE od 3-35 %.

V Nemčiji, ZDA in Veliki Britaniji, so pri nacionalnem biomonitoringu ugotovili porast izpostavljenosti PBDE. Izpostavljenost v ZDA je približno 10 krat večja kot drugod po svetu. Na Švedskem so ugotovili ekspotencialen porast PBDE od 0,07 ppb leta 1972 do 40 ppb leta 1997. Najpogosteje so pri biomonitoringu ugotovili kongenerje 47, 99, 100, 153, 154. Toksikokinetika je odvisna od števila bromovih ionov. Absorpcija preko prebavil je obratno sorazmerna s številom bromovih ionov. Povzročajo draženje kože in oči. Tarčni organi v poskusih na živalih so jetra, pljuča in ščitnica. Obstaja sum, da so PBDE rakotvorni, da zavirajo razvoj živčnega sistema in da motijo hormonsko ravnovesje. Po sedanjih ocenah je zaskrbljujoča predvsem izpostavljenost otrok poklicno izpostavljenih staršev in prebivalcev v okolici proizvodnih obratov PBDE (Gill in sod, 2004; Schechter in sod, 2005; Wiesmueller, 2007). Zaskrbljujoča pa je tudi vsebnost PBDE v materinem mleku (She in sod, 2007).

V Sloveniji so bili brominirani zaviralci gorenja določeni v sklopu nacionalnega humanega biomonitoringa: vsota PBDE (\sum BDE-28, BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-183) je bila določena v sestavljenih vzorcih humanega mleka in krvne plazme. V mleku prvorodk starih 20 do 40 let je srednja vrednost (mediana) vsote PBDE znašala 1,076 ng/g, medtem ko je bila najvišja vrednost izmerjena v Beli krajini, in sicer 3,75 ng/g (Horvat in sod., 2015). Te koncentracije so primerljive z drugimi evropskimi državami. Vrednosti vsote sedmih določenih kongenerjev so tudi nižje od vsote srednjih vrednosti štirih kongenerjev (BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153) določene na Švedskem: 3,35 ng/g maščob (Choi in sod 2015). Srednja izmerjena vrednost (mediana) vsote PBDE v sestavljenih vzorcih krvne plazme odraslih je znašala 0,0092 ng/g, največja pa 0,032 ng/g (Horvat in sod., 2015). Biomonitorinške referenčne vrednosti so določene za nekatere posamezne kongenerje (Choi in sod. 2015), medtem ko znaša biomonitorinški ekvivalent za BDE 99 v krvi 520 ng/g maščob (WHO, 2015), iz česar lahko zaključimo, da izpostavljenost PBDE odraslih prebivalcev Slovenije zaenkrat ni zaskrbljujoča.

1.5 POTENCIALNO STRUPENE KOVINE IN DRUGI KEMIJSKI ELEMENTI

Kovine kot so Cd, Pb in Hg ter ostali potencialno toksični elementi (As, Sb) so lahko naravnega oziroma antropogenega izvora pri rudarjenju, topilništvu, proizvodnji baterij, uporabi kovine vsebujočih zdravil, nekaterih pesticidov, gnojil in zaviralcev gorenja. Izpostavljenost je lahko povečana zlasti na kontaminiranih okoljih (Cd, Pb, Hg). Na podlagi poročila o onesnaženosti tal v Sloveniji ugotavljamo, da so bile v Sloveniji na posameznih področjih izmerjene kritične vrednosti naslednjih kemijskih elementov: arzena, kroma, bakra, niklja in cinka. Na prioritetnem seznamu potencialno škodljivih kemikalij, ki je bil predlagan s strani Agencije za strupene snovi in register bolezni (ASTDR), se najvišje uvrščajo kovine/polkovine kot so: arzen (As, 1. mesto), svinec (Pb, 2. mesto) živo srebro (Hg, 3. mesto) in kadmij (Cd, 7. mesto) (ASTDR, 2013). Omenjeni elementi lahko preko različnih mehanizmov povzročajo biokemijske oz. subklinične spremembe in/ali klinične učinke, kar pa je odvisno od oblike elementa ter vira, odmerka in trajanja izpostavitve. Glavni način izpostavitve je predvsem z uživanjem kontaminirane hrane (As, Hg, Cd, Pb) in pitne vode (As, Pb, Cd) ter preko vdihavanja tobačnega dima (Cd). Omenjeni elementi delujejo rakotvorno (As, Sb), nevrotoksično (Hg, Pb, As) ter nefrotoksično (Pb, Cd, Hg) in so hormosko aktivni (As, Cd, Pb) (EFSA, Akesson in sod., 2014; Horvat in sod., 2012ab). Nekateri elementi kot so selen, baker, cink in krom so tudi esencialne elementi in igrajo pomembno vlogo v metabolnih funkcijah, zato je pomankanje teh elementov prav tako pomembno za zagotavljanje zdravja. Zaradi novih in naprednih analiznih metod je multielementno analizo v vzorcih urina in krvi možno narediti istočasno, zato je smiselno analizirati vse naštet elemente v humanih vzorcih (Horvat in sod., 2016).

Z **arzenom** potencialno ogrožena območja v Sloveniji so predvsem področja bivših rudnikov kot so Mežiška dolina, rudink Znojile v Zagorju, Idrija, Podljubelj in Litija, ter industrijsko aktivna področja kot sta Celje in Jesenice (Gosar in sod., 2005; Perharič, 2013). Analiza tal leta 2010 v dolini potoka Kotredeščice v občini Zagorje je pokazala presežene mejne imisijske vrednosti (20 mg/kg) na treh lokacijah in presežene opozorilne imisijske vrednosti (30 mg/kg) na dveh lokacijah. Analizirani vzorci solate in korenja so imeli v dolini Kotredeščice in preostalih lokacijah v občini Zagorje statistično pomembno višje vsebnosti As kot na kontrolnem območju Trbovelj in Hrastnika (Perharič, 2013). Arzen v pitni vodi v Sloveniji ne predstavlja ogroženosti, vsekakor pa je pomembno izpostaviti, da obstajajo določeni viri pitne vode (pod Pohorjem) in mineralne vode (neprečiščena mineralna voda iz vrtin v Rogaški Slatini; kjer so vsebnosti anorganskega arzena povišane (Van Eltern, 2002). V okviru Slovenskega humanega biomonitoringa (2007-2015) so bile izmerjene koncentracije As v krvi splošne populacije, pri čemer so bile vrednosti najvišje pri preiskovancih iz obalnih mest, kot posledica uživanja morske hrane (Poročilo HBM, 2015). Pri otrocih starih 6-11 let smo As določali v okviru PHIME projekta (Žužemberk GM=0.66 µg/L krvi, Idrija GM=0.67 µg/L krvi) in v okviru pilotne študije evropskega humanega biomonitoringa DEMOCOPHES (Ljubljana GM=0.80 µg/L krvi, n=39, Šmarje pri Jelšah GM=0.59 µg/L krvi, n=56; Ljubljana GM=7.72 µg/L urina, n=78, Šmarje pri Jelšah GM=6.57 µg/L urina, n=77) (neobjavljeni podatki). Raven izpostavljenosti je bila primerljiva z izpostavljenostjo, ki jo poročajo za nemške (GM=4.40 µg/L, P95=14.0 µg/L v urinu otrok starih 3-14 let, n=1734, GerES IV) in belgijske otroke (GM=0.62, P90=2.1 µg/L v krvi in GM=12.3 µg/L, P95=90.0 µg/L oz. 9.3 µg/g crea, P95=49.0 µg/g crea v urinu najstnikov (n=203), FLEHS 2001-2011).

V Sloveniji je povišano tveganje izpostavljenosti populacije **svincu** na območju Zgornje Mežiške doline (Črna na Koroškem), kot posledica večstoletnega rudarjenja in predelave Pb (Rudnik in talilnica svinca Žerjav), na področju Šaleške doline, kot posledica termoelektrarne Šoštanj ter na osrednjem območju Celja, zaradi obsežne industrije (Cinkarna Celje). Leta 2013 so bili v Mežiški dolini izmerjene koncentracije Pb v vzorcih tal: 535 mg/kg (vrtna tla), 661

mg/kg (naravna tla) in 1073 mg/kg (makadam), kar presega mejno (85 mg/kg), opozorilno imisijsko (100 mg/kg) ter kritično imisijsko (530 mg/kg) vrednost (Ivartnik in sod., 2015). Podobno so v pesku igralnih površin Celjskih vrtcev izmerili 10 – 2100 mgPb/kg (Eržen in sod., 2011). Eržen in sod. (2004) so pri 464 moških starih med 18-27 let poročali o koncentraciji Pb v krvi: 35 µg/L pri čemer so najvišje koncentracije izmerili na področju Črne na Koroškem, 60,7 µg/L in najnižje v Ljubljani, 28,2 µg/L. V sklopu Slovenskega humanega biomonitoringa (2007-2015) so za splošno populacijo (povprečna starost 30 let) poročali o koncentracijah Pb v krvi, pri čemer so bile vrednosti najvišje pri preiskovancih iz Mežiške doline (27,2 µg/L v krvi) (Poročilo HBM, 2015). Na področju Mežiške doline se izvaja tudi redni biomonitoring krvi otrok (1-9 let), pri čemer je imelo v letih 2010-2015 povišano vsebnost Pb v krvi (>100 µg/L) 9 – 17 % otrok ter med 50 in 100 µg/L 19-33 % otrok (n=520). Najvišje vsebnosti Pb so bile ugotovljene pri otrocih starostne skupine 2-3 let (ARSO, 2015). V študiji Hruha in sod. (2012) so poročali o koncentraciji Pb v krvi 6-11 let starih otrok (n=42) iz področja Ljubljane z vrednostjo GM=13,4 µg/L (6.9-24 µg/L), kar je bilo nižje od ostalih evropskih držav (GM od 14.0 µg/L na Švedskem do 19,4 µg/L na Slovaškem). Pri nemških otrocih starih 3-14 let (n=1560) poročajo o GM v krvi 16.3 µg/L, P95=33.8 µg/L (GerES IV), pri belgijskih najstnikih pa je bila GM v krvi 14,8 µg/L, P90=27,6 µg/L (FLEHS 2007-2011).

Splošno znano je, da so amalgamske zalivke glavni vir izpostavljenosti elementarnemu **živemu srebru** pri splošni populaciji, glavna pot izpostavljenosti anorganskemu in organskemu Hg pa je prehrana. Ribe in morska hrana vsebujejo predvsem organsko Hg, ki se kopiči v vodnih organizmih in biomagnificira po prehranjevalni verigi, zato so najbolj izpostavljeni ljudje, ki uživajo ribe z vrha prehranjevalne verige (tuna, mečarica, morski pes, ščuka, itd) (Horvat in sod., 2012). Populacije, ki živijo na kontaminiranih območjih zaradi trenutne ali pretekle dejavnosti povezane z živim srebrom, imajo potencialno povišano izpostavljenost Hg. V Sloveniji predstavlja tako območje mesto Idrija, in sicer so tamkajšnji prebivalci izpostavljeni elementarnemu Hg preko vdihavanja ter anorganskemu ali organskemu Hg preko uživanja kontaminirane hrane (zelenjava, divjačina, ribe) (Kobal in sod., 2017). V študiji Hruha in sod. (2012), kjer so vrednosti celotnega Hg izmerjenega v krvi, primerjali med otroki, starimi 6-11 let iz 6 evropskih mest, se je pokazalo, da so imeli slovenski otroci pomembno višje vrednosti (GM=0,94 µg/L; rang 0,36-3,0 µg/L) kot otroci ostalih evropskih držav (skupna GM=0.34 µg/L; rang 0,10-2,3 µg/L), kar naj bi bila posledica večjega števila amalgamskih plomb (Hruha in sod, 2012). Primerjava izmerjenih vrednosti celotnega Hg v krvi in urinu med slovenskimi otroki iz onesnaženega (Idrija), mestnega (Ljubljana-Brod) in podeželskega okolja (Žužemberk) je pokazala, da so vrednosti pri Idrijskih otrocih primerljive z mestnimi, so pa pri obeh skupinah višje kot pri otrocih iz podeželja. Kljub temu, da je bila v povprečju Idrijska populacija primerljiva z mestno, je bila razlika med populacijama opazna pri zgornjih 10 % otrok; poleg tega je vrednost HBM I za celotno Hg v urinu, nad katero so pričakovane biokemijske spremembe, presegalo 5 otrok iz Idrije (Kobal in sod., V tisku). Prav tako vrednosti določene v krvi nemških otrok (GM=0,23 µg/L P95=1,0 µg/L, starost 3-14 let, n=1552, GerES IV) kažejo na relativno višjo izpostavljenost slovenskih otrok. Sicer je med odraslimi, kot je pokazala študija nacionalnega HBM-ja, največja izpostavitve organskemu Hg v obalnem predelu države, izpostavitve anorganskemu Hg pa je geografsko neodvisna (Poročilo HBM, 2015). Pilotna študija evropskega humanega biomonitoringa DEMOCOPHES (2011–2012) je primerjala vrednosti celotnega Hg v laseh prav tako 6-11 let starih otrok iz 17 evropskih držav ter znotraj vsake države med mestnim in podeželskim območjem. Vrednosti pri slovenskih otrocih so bile v primerjavi z ostalimi državami povprečne (GM=169 ng/g, P90=678 ng/g), GM za celotno evropsko populacijo je bila 145 ng/g (P90=800 ng/g) (Den Hond in sod., 2015). Tako kot pri slovenski PHIME populaciji (Kobal in sod., V tisku), so bile vrednosti pri DEMOCOPHES populaciji pomembno višje v mestnem kot v podeželskem okolju (Den Hond in sod., 2015).

Zaradi obsežne uporabe v industriji je **kadmij** pogosto onesnaževalo v mestnem okolju. V Sloveniji je tak primer območja Celje, kjer so v študiji Bešter in sod. (2013) poročali o povišanih koncentracijah Cd v vrtninah (korenček 0,157 mg/kg, dovoljena 0,10 mg/kg; radič 1,20 mg/kg, dovoljena 0,20 mg/kg; vrednosti so podane na svežo težo). Povečano tveganje za izpostavljenost nizkim koncentracijam Cd predstavljajo tudi podeželska območja, ki so lahko kontaminirana zaradi prisotnosti te kovine v fosfatnih gnojilih (Roberts in sod., 2014) in območja s povečano gostoto prometa (npr. mesta in območja ob večjih prometnicah) zaradi kontaminacije pnevmatik s Cd in zaradi vsebnosti te kovine v materialu zavor avtomobilov (McKenzie in sod., 2009). Eržen in sod. (2004) so pri 463 moških starih 18-27 let poročali koncentraciji Cd v krvi: 0,5 µg/L pri čemer so najvišje koncentracije izmerili na področju Črne na koroškem (1,16 µg/l), rahlo nižje v Novi Gorici in Murski Soboti, in najnižje v Ljubljani (0,25 µg/L). Znotraj Slovenskega humanega biomonitoringa pa je bila povprečna koncentracija Cd v krvi 0,28 ng/mL in v urinu 0,19 ng/ml (0,20 µg/g krea), pri čemer so bile najvišje vrednosti v krvi pri preiskovancih iz Maribora (0,36 ng/mL) ter v urinu iz Savinjsko posavskega območja (0,25 ng/mL, 0,24 µg/g krea). V sklopu pilotne študije evropskega humanega biomonitoringa DEMOCOPHES (2011–2012) so bile za slovenske otroke (starost 6-11 let, n=60) izmerjene koncentracije Cd GM=0,067 µg/L (P90=0,16 µg/L), kar je povsem primerljivo s povprečjem celotne evropske populacije otrok (GM=0,071 µg/L, P90=0,22 µg/L) (Den Hond in sod., 2015). Nemška okoljska študija (GerES IV) poroča o podobnih koncentracijah v krvi otrok starih 3-14 let (GM=0,068 µg/L, P95=0,22 µg/L, n=1560), v urinu pa <LOD (n=1734). GM v krvi najstnikov Belgijske študije (FLEHS 2007-2011) je bila 0,21 µg/L, P90=0,47 µg/L (n=207). Prav tako so v študiji Hrubá in sod. poročali o koncentracijah Cd v krvi 6-11 let starih otrok (n=41) iz področja Ljubljane (GM=0,14 µg/L, 0,09-0,28 µg/L), ki so bile primerljive z ostalimi evropskimi državami (Hrubá in sod., 2012).

Selen sodi med elemente v sledovih, ki so za človeka esencialni. Selen je povezan s številnimi presnovnimi funkcijami v telesu, ker se kot aminokislina selenocistein vgradi v številne selenoproteine (selenoenzime), ki sodelujejo pri antioksidativni zaščiti pred delovanjem reaktivnih kisikovih spojin, pri razstrupljanju strupenih kovin, pri regulaciji redoks procesov v celici, nekateri pa so vključeni v regulacijo presnove hormonov žleze ščitnice. Glavni vir selena za človeka predstavlja hrana. Ker ima selen pomembno preventivno vlogo pri različnih obolenjih, se ga vse pogosteje uživa v obliki različnih prehranskih dopolnil. Meja med esencialnostjo in toksičnostjo pa je pri selenu zelo ozka. Pri preseganju dnevno priporočenih odmerkov pride do lomljivih las in deformiranih nohtov, v težjih primerih pa do paraliz in izgube senzacij (selenoza) (ToxProfiles, 2013).

Baker je esencialen mikro-element za človeka, kar je v primeru pomanjkanja ali presežka povezano s številnimi boleznimi. Glavni vir bakra za človeka je hrana. Vsebnost bakra v hrani je močno variabilna in je odvisna tako od vsebnosti bakra v okolju, kjer je bila hrana pridelana, kot tudi od vrste živil. Povišane koncentracije so lahko posledica geološke sestave ali pa antropogenega onesnaženja (industrija, rudniki, odlagališča, uporaba gnojil in fungicidov, ki vsebujejo baker...).

Povzroča tudi Wilsonovo bolezen, ki se razvije zaradi kopičenja bakra v telesu, ki je sicer ponavadi posledica njegovega nezadostnega izločanja z žolčem. Bolezenski znaki so posledica nalaganja bakra v jetrih, roženici, osrednjem živčevju, eritrocitih in ledvicah, zato se Wilsonova bolezen lahko pokaže z znaki nevrološke, duševne, krvne, jetrne ali ledvične bolezni. Glavni simptomi so motnje gibanja: distonični sindrom z nenormalnimi nezaželenimi gibi, akinetično-rigidni sindrom (podoben parkinsonizmu) in posturalni in intencijski tremor, pogosto z ataksijo udov, hoje in drže, s pozibavanjem glave in dizartrijo. Duševne motnje napredujejo od asocialnosti do demence, lahko se pojavi anksioznost, paranoja, depresija ali psihoza. Jetrna bolezen poteka v obliki akutnega hepatitisa (lahko z intravaskularno hemolizo, ki vodi v smrt).

Bolezen ima lahko klinično pritajen potek, npr. pri jetrni steatozi ali kroničnem agresivnem hepatitisu, ki napreduje v cirozo s portalno hipertenzijo. Ledvična okvara je posledica odlaganja bakra v tubulih. V očeh se odlaga v roženico, lahko pa pride do motnjave očesne leče (Bilban 1999).

Cink je esencialen mikro-element za človeka in je sestavni del mnogih encimov. Glavni vir cinka za človeka je hrana. Dober vir je hrana, ki vsebuje veliko beljakovin npr. meso, ribe in mlečni izdelki. Povišane koncentracije lahko povzročajo več dejavnikov, med drugim tudi vsebnosti elementov v okolju, ki so lahko povišani zaradi same geološke sestave tal ali pa antropogenega onesnaženja (industrije, rudniki, odlagališča,...). Akutna toksičnost je običajno povezana s prekomernim uživanjem prehranskih dopolnil, ki vsebujejo cink (DRI, 2001).

1.6 PESTICIDI

Organofosforni pesticidi (OPP) so v svetu med najpogosteje uporabljanimi pesticidi. Uporabljajo se kot insekticidi v poljedelstvu, gozdarstvu, vrtnarstvu, vrtičkarstvu za zatiranje škodljivcev, za zatiranje parazitov in mrčesa v bivalnem okolju in v veterinarski medicini. Znanih je preko 100 različnih organofosfornih spojin, v 60. letih prejšnjega stoletja so jih začeli uporabljati kot učinkovite insekticide. V zadnjih letih so bili številni prepovedani oziroma je bila njihova uporaba omejena (npr. v EU in ZDA), ne glede na to pa so OPP še vedno pogosto prisotni kot ostanki v živilih na evropskem trgu (EFSA, 2015). Najpogostejši in najpomembnejši vir izpostavljenosti splošne populacije OPP je zaužitje kontaminirane hrane in stik roke-usta s kontaminirano površino oziroma predmetom zaradi aplikacije pripravka (zlasti problematično pri otrocih). Manj pogosta pot izpostavljenosti sta vdihovanje in dermalni vnos. Izpostavljenost OPP je lahko problematična tudi v populaciji kmetovalcev, vrtnarjev, proizvajalcev (delovna mesta) oziroma pri posameznikih, ki uporabljajo pripravke OPP. Za Slovenijo je zelo malo podatkov o izpostavljenosti pesticidom. Poraba OPP je bila v obdobju 2010 do 2015 v kmetijstvu majhna (vsota klorpiriosa in klorpirifosmetila je 25 t) v primerjavi z drugimi pesticidi npr. fungicidi, ki se uporabljajo zaradi vlažnega podnebja in vinogradništva (pripravki na osnovi žvepla > 2000 t, mankozeba 530 t, folpeta 444 t, bakra 180 t), herbicidi (s-metolaklor 399 t, različne soli glifosata 325 t, terbutilazin 127 t). Poleg izpostavljenosti kmetijskim pesticidom (fitofarmaceutskim sredstvom, FFS) zaradi bivanja v bližini kmetijskih površin, smo ostankom FFS izpostavljeni preko živil. Ostanki morajo biti tako nizki, da ne predstavljajo tveganja upoštevajoč, da smo ostankom izpostavljeni iz različnih živil. Med pesticidi za nezemeljsko rabo (biocidi), so med pogostejšimi aktivnimi snovmi piretroidi. Zelo pogosta je uporaba repelenta DEET/ N,N-dietil-meta-toluamid/N,N-dietil-m-toluamid. Pesticidom v biocidnih pripravkih smo poleg tistih, ki jih uporabljamo za zatiranje škodljivcev v domačem okolju, lahko izpostavljeni tudi preko številnih predmetov splošne rabe, npr. tekstila, obutve, papirja, premazov za zidove, les ipd. Velja, da je med splošnim prebivalstvom velika zaskrbljenost zaradi pesticidov, predvsem fitofarmaceutskih sredstev. Po podatkih Eurobarometra iz leta 2010 je glede ostankov pesticidov v sadju, zelenjavi in žitih zaskrbljenih kar 75 % odraslih prebivalcev Slovenije, kar je več od povprečja držav članic EU in je na prvem mestu od vseh navedenih tveganj v povezavi s hrano (EFSA, 2011).

Glifosat

Glifosat ali N-(fosfonometil)glicin ali 2-(fosfonometilamino)ocetna kislina, je ne-selektivni herbicid in tako uničuje vse vrste rastlin. Deluje tako, da v rastlinah prekine pot šikimske kisline preko inhibicije encima 5-enolpiruvilšikimat-3-fosfat sintetaze (EPSPS), ki je vpleten pri sintezi aromatskih kislin, kar vodi v zmanjšano sintezo proteinov in rast rastlin (Henderson in sod., 2010). Najdemo ga v fitofarmaceutskih sredstvih za zatiranje plevela, kot sta Roundup,

RangerPro in Boom efekt. Glifosat se aplicira v agrikulturi, gozdarjenju, industrijski kontroli plevela, vrtnarjenju in v vodnih okoljih. Uporablja se tudi kot desikacijsko sredstvo pred žetvijo. Prodajati se je začel leta 1974 in je zaradi svoje učinkovitosti postal najpogosteje uporabljen herbicid na svetu. Obstaja v različnih kemijskih oblikah kot so: izopropilaminska sol, amonijska sol, diamonijska sol, dimetilamonijska sol, kalijeva sol itd. (Gillezeau in sod., 2019; Benbrook, 2016; Henderson in sod., 2010; NIJZ, 2019). V okolju se glifosat hitro razgradi (razpolovni čas ocenjen na 47 dni), vendar je obstojnost odvisna od vrste zemlje in podnebnih razmer. Razgradnja poteka z mikrobno aktivnostjo, ki vodi v nastanek aminometilfosfonske kisline (AMPA). Glifosat in razgradni produkti se v zemlji močno vežejo, od tam poteka privzem v rastline, kjer se tudi kopičijo, medtem, ko je kontaminacija podtalnice malo verjetna (Henderson in sod., 2010).

V okolju smo glifosatu izpostavljeni kot potrošniki – preko uživanja onesnažene hrane ali vode, uporabniki, delavci ali kot prebivalci v bližini škropljenih površin (NIJZ, 2019). Nedavne študije dokazujejo, da se lahko glifosat in AMPA širita tudi z vetrom in vodno erozijo (povzeto v Gillezeau in sod., 2019). Evropski urad za kemikalije (ECHA), glifosata ni uvrstil na listo mutagenih, rakotvornih, teratogenih kemikalij ali kemikalij strupenih za razmnoževanje (Gillezeau in sod., 2019; NIJZ, 2019). V letu 2015 je Mednarodna agencija za raziskave raka (IARC) na podlagi epidemioloških, eksperimentalnih in mehanističnih študij, glifosat uvrstila na seznam kemikalij kot možnih rakotvornih substanc (skupina 2A) (IARC, 2015). Rezultati študij niso izključili možni vpliv drugih morebitnih dejavnikov in zato ne zadoščajo za uvrstitev glifosata kot rakotvorne kemikalije. V letu 2016 je Agencija za zaščito okolja Združenih držav Amerike (US EPA) ponovno ocenila možno rakotvornost glifosata in zaključila da glifosat ni genotoksičen in rakotvoren za ljudi (EPA, 2018). Tako je Evropska unija leta 2017 podaljšala dovoljenje za uporabo glifosata do leta 2023 (NIJZ, 2019; Gillezeau in sod., 2019).

Različne študije poročaljo o potencialno strupenih vplivih glifosata pri ljudeh (genotoksičnost, endokrine motnje itd.). Na primer: Koller in sod. (2012) so na liniji humanih epitelnih celic ustne sluznice izpostavljenih 10 – 20 mg/L pokazali na genotoksičnost, kar nakazuje na možne poškodbe DNK pri poklicni izpostavitvi glifosatu preko vdihavanja; Richardson in sod. (2005) so na humanih celicah placente - izpostavljenih koncentracijam nižjim od tistih uporabljenih v agrikolturnih dejavnostih - pokazali vpliv glifosata (in Roundup) na motnje encima aromataze, ki je vpletena v sintezo estrogena. Kljub temu pa so rezultati med študijami (predvsem epidemiološkimi), še zmeraj precej neskladni. Razlog je verjetno ta, da so vplivi glifosata na zdravje človeka precej odvisni od doze, trajanja in pogostnosti izpostavitve ter hkrati od zdravstvenega stanja človeka, genetske predispozicije in/ali od določenih okolijskih faktorjev (Henderson in sod., 2010).

V Sloveniji se od leta 2012 sledi ostankom glifosata v živil. Do leta 2018 je bilo skupno pregledanih 194 vzorcev živil, kjer je bila (z izjemo enega vzorca leče iz Kanade) vsebnost glifosata pod mejno vrednost. To nakazuje da je izpostavljenost preko prehrane v Sloveniji nizka in ne presega meje dnevnega vnosa 0,5 mg/kg/dan (za države Evropske unije) (NIJZ, 2019).

Vsekakor pa je za dobro oceno tveganja zaradi izpostavljenosti in potrditev možnih vplivov glifosata na zdravje ljudi potrebno spremljati herbicid in njegove razgradne produkte (AMPA) tudi pri ljudeh z meritvijo koncentracij v krvi in urinu. Glede na podatke iz literature so informacije o izpostavljenosti splošne populacije pomanjkljive in so zato tovrstne študije nujno potrebne (Gillezeau in sod., 2019).

1.7 Policiklični aromatski ogljikovodiki

Policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH) so vseprisotna organska onesnaževala okolja, ki nastajajo predvsem med nepopolnim zgorevanjem organskih snovi (npr. premog, nafta, bencin in les). Nekateri predstavniki PAH v okolju so posledica naravnih virov (npr. požari v naravi, vulkanska aktivnost, itd.), vendar prevladujejo emisije iz antropogenih dejavnosti (emisije prometa, industrije). PAH so uvrščeni na seznam snovi v Protokolu o obstojnih organskih onesnaževalih (Persistent Organic Pollutants, POPs (UNECE, 2015)). PAH so uvrščeni tudi na seznam 1. Prioritetne skupine v okviru evropskega projekta humanega biomonitoringa, HBM4EU.

Ljudje smo potencialno izpostavljeni PAH preko različnih poti. Za nekadilce je glavna pot preko uživanja hrane, pri kadilcih pa kajenje bistveno prispeva k izpostavljenosti. Na ravni Evropske unije k prehranski izpostavljenosti PAH največ prispevajo živila na osnovi žit (zaradi visoke porabe) in morska hrana (zaradi relativno visokih povprečnih koncentracij). Vpliv uživanja hrane na žaru in praženih živil na skupni vnos, zaradi pomanjkanja podatkov, še ni raziskan v zadostni meri (EFSA, 2008). Študije o izpostavljenosti splošne populacije preko hrane, zlasti glede posameznih PAH, so redke. Izpostavljenost prek običajnega vdihavanja zraka na splošno prispeva relativno malo k celokupni izpostavljenosti, približno 10 % (HBM4EU, 2018). Pomembna je tudi poklicna izpostavljenost. Več epidemioloških študij je pokazalo povečano smrtnost zaradi raka pri delavcih, izpostavljenih mešanici PAH preko vdihavanja ali kontakta s kožo (ATSDR, 1995). PAH se lahko nahajajo tudi v številnih potrošniških izdelkih.

Za PAH je znano, da so lahko nevarni za okolje in zdravje ljudi. Nekateri PAH so v skladu z Uredbo CLP razvrščeni kot kancerogeni, mutageni in reprotoksični v kategorijah 1A, 1B ali 2 (EC 1272/2008). Dodatno so znani kot povzročitelji poškodb deoksiribonukleinske kisliline (DNK) in kromosomov (genotoksičnost), razvojnih nepravilnosti zarodka (teratogenost), negativnih vplivov na imunski sistem (imunotoksičnost) in so motilci delovanja hormonskega sistema (CDC, 2009). Med predstavniki PAH je največ študij narejenih za piren (PYR) in benzo[a]piren (BaP). Po klasifikaciji Mednarodne agencije za raziskave raka spada benzo[a]piren med rakotvorne snovi Skupine 1 (IARC, 2012). Zaradi premalo podatkov (raziskav) o potencialnem toksičnem delovanju ostalih predstavnikov PAH je trenutno le osem PAH kongenerov, in sicer benzo[a]piren (BaP), benzo[e]piren (BeP), benzo[a]antracen (BaA), krizen (CHR), benzo[b]fluoranten, (BbF), benzo[j]fluoranten (BjF), benzo[k]fluoranten (BkF) in dibenzo[a,h]antracen (DBAhA), razvrščenih kot rakotvorne snovi (Priloga VI Uredbe ES 1272/2008; Uredba CLP). Osem kongenerjev PAH je vključenih na seznam omejenih snovi po REACH Priloga XVII in sicer za omejevanje uporabe v oljih za pnevmatike, izdelkih, ki so namenjeni splošni javnosti in izdelkih za otroške (<https://echa.europa.eu/fr/substance-information/-/substanceinfo/100.239.209>). Nekateri kongenerji PAH so vključeni tudi na seznam snovi, ki vzbujajo veliko skrb (SVHC) v skladu s členom 59(10) Uredbe REACH (<https://echa.europa.eu/candidate-list-table>). Spodaj so navedeni različni kongenerji PAH s seznama omejenih snovi¹ in seznama SVHC².

1. Anthracene² (ANT), CAS No 120-12-7
2. Benzo[a]anthracene^{1,2} (BaA), CAS No 56-55-3
3. Benzo[a]anthracene² (BaANT), CAS No 56-55-3
4. Benzo[a]pyrene^{1,2} (BaP), CAS No 50-32-8
5. Benzo[b]fluoranthene¹ (BbFA), CAS No 205-99-2
6. Benzo[e]pyrene (BeP), CAS No 192-97-2
7. Benzo[ghi]perylene² (BghiPER) CAS No 191-24-2
8. Benzo[j]fluoranthene (BjFA), CAS No 205-82-3

9. Benzo[k]fluoranthene^{1,2} (BkFA), CAS No 207-08-9
10. Chrysen^{1,2} (CHR), CAS No 218-01-9
11. Dibenzo[a,h]anthracene (DBAhA), CAS No 53-70-3
12. Fluoranthene² (FLU), CAS No 206-44-0
13. Phenanthrene² (PHE), CAS No 85-01-8
14. Pyrene² (PYR), CAS No 129-00-0

Ni veliko podatkov za ljudi o usodi PAH v organizmu. Vendar pa so informacije o absorpciji, distribuciji in izločanju teh snovi na voljo v študijah na živalih. Kot kažejo živalske študije, se PAH absorbirajo z zaužitjem, vdihovanjem in kontaktom preko kože, pri čemer absorbirani delež variira zaradi več razlogov, vključno s transportnim medijem (Kawamura in sod., 1988; v ATSDR, 2008). Na splošno se npr. PAH, ki niso vezani na PM, bolje absorbirajo v pljučih kot enak odmerek PAH, ki jih najdemo na površini PM (Cresia in sod., 1976; Seto, 1993; v ATSDR, 2008).

PAH se razlikujejo glede na porazdelitev in lipofilne lastnosti (Busbee in sod., 1990; v ATSDR, 2008). Zaradi lipofilnosti se lahko akumulirajo v materinem mleku in maščobnem tkivu. Vendar je izločanje PAH z žolčem in urinom relativno učinkovito zaradi velike razširjenosti encimov, ki pretvarjajo PAH v polarne metabolite. PAH se pretežno presnavljajo preko encimov CYP (encimov v sistemu P-450 z mešano funkcijo oksidaze) v jetrih (Kapitulnik in sod., 1977; Keifer in sod., 1988; Monteith in sod., 1987, v ATSDR, 2008). Poleg jeter in ledvic se PAH presnavljajo v nadledvičnih žlezah, testisih, ščitnici, pljučih, koži, lojnih žlezah in tankem črevesju (ATSDR 1995). PAH se najprej preoblikujejo v epokside, ti pa se nato pretvorijo v dihidrodiole derivate in fenole. Tako prosti hidroksilirani metaboliti kot glukuronidni in sulfatni konjugati (konjugirani na glukuronsko kislino in sulfat) se izločajo z žolčem in urinom. Konjugati glutathiona se v ledvicah nadalje presnavljajo v merkapturane kisline in se izločajo z urinom (CDC, 2005). Običajno izmerjen metabolit v urinu je 1-hidroksipiren, 1-OH-PYR (Becher in Bjorseth, 1983; Granella in Clonfero, 1993; Popp, 1997; Santella, 1993; v ATSDR, 2008). V študijah na živalih so poročali o razpolovnih časih izločanja v blatu in urinu in sicer 22 ur in 28 ur (Becher in Bjorseth, 1983; v ATSDR, 2008). Prednost uporabe 1-OH-PYR je, da je piren prisoten v vseh mešanicah PAH v sorazmerno visokih koncentracijah (2-10%) celotnih PAH, v določenih okoljih pa je vsebnost pirena v skupnih PAH dokaj konstantna (EC- SCF, 2002). Za nekadilce in osebe, ki niso poklicno izpostavljene, hrana na primer predstavlja 99% celotnega dnevnega vnosa pirena (Van Rooij in sod., 1994; v IPCS, 1998). Posledično je analiza urinskega 1-OH-PYR osnova ocenjevanja izpostavljenosti PAH in je privzet kot indikator izpostavljenosti PAH (Becher in Bjorseth, 1983; Granella in Clonfero, 1993; Popp 1997; Santella in sod., 1993; v ATSDR, 2008). Študije primerjave več biomarkerjev so potrdile, da je 1-OH-PYR v urinu veljaven in občutljiv indikator izpostavljenosti in da se zdi, da je občasno spremljanje 1-OH-PYR močna metoda za nadzor poklicne izpostavljenosti PAH v industriji (Jongeneelen, 1997). Na primer, ACGIH priporoča merjenje 1-OH-PYR v vzorcih urina ob koncu izmen kot indeks biološke izpostavljenosti (BEI) za oceno poklicne izpostavljenosti mešanicam, ki vsebujejo PAH. Iz literature je tudi znano, da je 2-hidroksi naftalen, 2-OH-NAP, povezan z izpostavljenostjo cigaretnemu dimu (kajenju), presnovek 1-OH-PYR pa s prehransko izpostavljenostjo (Nethery in sod., 2012). Za ocenjevanje izpostavljenosti PAH v zraku (nizkomolekularni PAH) je smiselno upoštevati tudi vsebnost urinskih presnovkov fluorena in fenantrena (Urbancova in sod., 2017).

Leta 2001 je Jongeneelen predlagal referenčno vrednost (95-percentil) 1-OH-PYR za nepoklicno izpostavljeno populacijo 0,24 $\mu\text{mol/mol}$ kreatinina za nekadilce in 0,76 $\mu\text{mol/mol}$ kreatinina za kadilce (Jongeneelen, 2001). Wilhelm in sod. (2008) so postavili referenčno vrednost za 1-OH-PYR v urinu za nekadilce (stare 3–69 let) pri 0,5 $\mu\text{g/L}$ (kar ustreza 0,3 $\mu\text{g/g}$

kreatinina). Poleg tega so bile stopnje izpostavljenosti za ozadje 1-naftola in 2-naftola v urinu za odrasle nekadilce postavljene pri $<30 \mu\text{g/L}$ oziroma $<20 \mu\text{g/L}$ (Schulz in sod., 2011). Po podatkih Società Italiana Valori di Riferimento (SIVR) iz leta 2011 so referenčne vrednosti za 1-OH-PYR za italijansko splošno populacijo $0,3 \mu\text{g/L}$ (nekadilci) in $0,7 \mu\text{g/L}$ (kadilci) (SIVR, 2011). V spodnji tabeli so zbrane referenčne vrednosti oziroma vrednosti ozadja (orientacijske vrednosti) iz razpoložljive literature za nekatere hidrokislirane presnovke pirena, naftalena in fenantrena, ki veljajo za splošno, nekadilsko populacijo, ki ni poklicno izpostavljena.

Tabela 1. Referenčne vrednosti biomarkerjev izpostavljenosti PAH (nekadilci, nepoklicno izpostavljeni) (95 percentil).

Študija/država	Population	Biomarker (urin)	Vrednost	Vir
SIVR 2011	Splošna	1-OH-PYR	$<0.5 \mu\text{g/L}$ (nekadilci) $<1 \mu\text{g/L}$ (kadilci)	Campo in sod., 2018
(GerES III) 1997-1999	Odrasli (18–69 let)	1-OH-PYR	$0.5 \mu\text{g/L}$ ($0.3 \mu\text{g/g}$ crea)	Wilhelm in sod., 2008
(GerES IV) 2001-2002	Otroci (3-17 let)	1-OH-PYR	$0.5 \mu\text{g/L}$ ($0.3 \mu\text{g/g}$ crea)	Wilhelm in sod., 2008
(GerES IV) 2003-2006	Otroci (3-14 let)	1-OH-PYR	$0.5 \mu\text{g/L}$ ($0.3 \mu\text{g/g}$ crea)	Wilhelm in sod., 2008
		1-OH-PHE	$0.6 \mu\text{g/L}$	Schulz in sod., 2011
		2/9-OH-PHE	$0.4 \mu\text{g/L}$	
		3-OH-PHE	$0.5 \mu\text{g/L}$	
		4-OH-PHE	$0.2 \mu\text{g/L}$	
		Σ OH-PHE (1,2/9,3,4)	$1.5 \mu\text{g/L}$	
Nemčija	Splošna nekadilci	1-NAPH	$<30 \mu\text{g/L}^1$	Schulz in sod., 2011
		2-NAPH	$<20 \mu\text{g/L}^1$	

¹Koncentracija ozadja

V okviru Nacionalne raziskave zdravja in prehrane Centra za nadzor in preprečevanje bolezni (NHANES) so že v letih 2001 in 2002 analizirali 22 metabolitov OH-PAH v vzorcih urina 2748 udeležencev. Odstotek vzorcev z zaznavnimi vrednostmi je znašal od skoraj 100 % za presnovke naftalena, fluorena, fenantrena in pirena do manj kot 5 % za presnovke iz matičnih spojin z višjo molekulsko maso, kot so krizen, benzo[c]fenantren in benz[a]antracen. Geometrijska srednja vrednost 1-OH-PYR je bila $49,6 \text{ ng/L}$ urina ali $46,4 \text{ ng/g}$ kreatinina. Otroci (stari od 6 do 11 let) so na splošno imeli višje stopnje kot mladostniki (stari od 12 do 19 let) ali odrasli (stari od 20 let). Koeficienti korelacije med 1-OH-PYR in drugimi presnovki so bili v območju od 0,17 do 0,63, kar je utemeljilo uporabo 1-OH-PYR kot primernega biomarkerja za izpostavljenost PAH (Li in sod., 2008). V spodnji tabeli so zbrani rezultati vrednosti za posamezne hidrokislirane presnovke PAH, ugotovljeni v različnih študijah po svetu (Tabela 2).

V spodnji tabeli so zbrani novejši podatki za hidrokislirane presnovke PAH, ugotovljeni v različnih študijah po svetu (Tabela 2).

Tabela 2. Vrednosti biomarkerjev izpostavljenosti PAH v različnih študijah (državah/območjih) pri primerljivi populaciji (GM vrednost).

Študija/ država	Populacija	Biomarker (urine)	Level	Reference
Belgija FLEHS	Najstniki	1-OH-PYR	208.33 ng/L	(Schoeters in sod., 2017)
Belgija FLEHS I	Splošna	1-OH-PYR	123 ng/L	
Belgija FLEHS II	Splošna	1-OH-PYR	140 ng/L	
Belgija FLEHS III	Splošna	1-OH-PYR	122 ng/L	
Belgija FLEHS III	Najstniki	1-OH-PYR	180 ng/L	
Francija	Splošna	1-OH-PYR	39.8 (4.9-215,6) nmol/mol crea	(Leroyer in sod., 2010)
		3-OH-BaP	< LOD (=0,28 pmol/L)	
Italija	Splošna	1-OH-PYR	50 ng/L	(Gatti in sod., 2017)
Poljska	Nosečnice	1-OH-PYR	1-OH-PYR 0.43 µg/g crea	(Polanska in sod., 2014)
Portugalska	Otroci- moški	1-OH-PYR	0.0363 µg/g crea	(Oliveira in sod., 2017)
	Otroci- ženske	1-OH-PYR	0.0224 µg/g crea	
Španija	Splošna nekadilci	1-OH-PYR	0.079 µg/g crea	(Bartolomé in sod., 2015)
		1-OH-PHE	0.089 µg/g crea	
	Splošna kadilci	1-OH-PYR	0.184 µg/g crea	
		1-OH-PHE	0.317 µg/g crea	
United Kingdom	Splošna	1-OH-PYR	0.14 ng/mL No ETS subjects/ 0.13 ng/ml ETS subjects	(Aquilina in sod., 2010)
Czech Republic	Matere/ novorojenčk i	1-OH-PYR	150 ng/L	(Urbancova in sod., 2017)
		3-OH-BaP	< 90 ng/L	
NHANES 2007-2008	Otroci 6-11 let	1-OH-PYR	0.146 µg/L (0.18 µg/g crea)	CDC, 2015
		3-OH-PHE	0.1 µg/L (0.123 µg/g crea)	
	Najstniki 12-19 let	1-OH-PYR	0.149 µg/L (0.116 µg/g crea)	
		3-OH-PHE	0.103 µg/L (0.08 µg/g crea)	
	Odrasli ≥ 20 years	1-OH-PYR	0.111 µg/L (0.114 µg/g crea)	
		3-OH-PHE	0.0965 µg/L (0.988 µg/g crea)	
CHMS 2012-2013	Children 3-5 years	1-OH-PYR	0.093 µg/L (0.18 µg/g crea)	Health Canada, 2015
	Otroci 6-11 let	1-OH-PYR	0.092 µg/L (0.12 µg/g crea)	
	Najstniki 12-19 let	1-OH-PYR	0.12 µg/L (0.089 µg/g crea)	
	Odrasli 20-39 let	1-OH-PYR	0.12 µg/L (0.10 µg/g crea)	

1.8 VPLIV GENETSKIH VARIACIJ NA IZPOSTAVLJENOST OKOLJSKIM ONESNAŽILOM

Na izpostavljenost okoljskim onesnažilom vpliva več dejavnikov kot so vedenjski vzorci, način uporabe, bivanjske okoliščine itd. Eden od dejavnikov je lahko tudi genetska občutljivost posameznikov, saj lahko majhne razlike v genskem zapisu vplivajo na izražanje škodljivih učinkov kemikalije. Učinek je namreč lahko različen med posamezniki, čeprav so izpostavljeni enaki ravni kemikalije. Spremembe v genskem zapisu proteinov, ki sodelujejo pri privzemu, prenosu ali odstranjevanju strupenih kemikalij v telesu, lahko bodisi zmanjšajo bodisi povečajo tveganje za škodljive učinke na posameznika, še posebej pri nizki izpostavljenosti. Povečano / zmanjšano občutljivost je tako mogoče določiti z razlikami v kodirajočih in nekodirajočih delih naše DNK. Obsežne študije zaporedja visokih pretočnosti, kot je projekt 1000 Genomov (2015), so že identificirale več milijonov genskih variant med posamezniki iz različnih populacij. Vsaka oseba ima veliko število variant, vendar pa so frekvence spremenjenih alelov večine variant relativno redke. Razumevanje povezave med genetskimi polimorfizmi in okoljskimi izpostavljenostmi lahko pomaga pri identifikaciji populacijskih skupin s povečanim tveganjem za zdravje in omogoča tudi boljši vpogled v mehanizme delovanja (Murcay in sod., 2008).

Genetske spremembe množice proteinov lahko bodisi zmanjšajo ali povečajo tveganje za morebitne toksične učinke, zlasti pri nizki izpostavljenosti. Znane so povezave med geni vključenimi v metabolizem glutationa (GSH) in organsko obliko Hg, saj se metil Hg iz jeter izloča v obliki GSH konjugatov (Engström in sod., 2008; Julvez in sod., 2013; Barcelos in sod., 2013). Tako kot GSH, so tudi metalotioneini (MT) proteini, ki vežejo kovine in so vključeni v regulacijo homeostaze kovin (Zn, Cu), in zaščito pred oksidativnim stresom (Gundacker in sod., 2009; Woods in sod., 2013, Julvez in sod., 2013). Potencialen vliv na povezavo med prenatalno izpostavitvijo Hg in razvojem otrok kažejo tudi variante gena za apolipoprotein E (*APOE*) (Ng in sod., 2013); njegovo interakcija smo opazili tudi pri nižjih ravneh izpostavljenosti, in sicer pri otrocih z normalnim nevropsihološkim izidom (Snoj Tratnik et al, 2017), lahko pa vpliva tudi na kinetiko drugih elementov. Manj intenzivne so študije polimorfizmov selenoproteina. Selenoprotein P je glavni selenski (Se) transportni protein v krvi in uravnava Se homeostazo, dostavo Se v tkiva (zlasti v možganih in testisih), antioksidativno aktivnost in vezavo kovin. Selen in genetski dejavniki so povezani z odzivom na stres, vnetja in apoptotične poti (Hesketh in Meplan, 2011). Znano je, da so polimorfizmi na genih za delta aminolevulinsko dehidratazo (*ALAD*) in vitamin D receptor (*VDR*) povezani z izpostavljenostjo svincu (Onalaja in Claudio, 2000; Chia in sod., 2004), medtem ko je arzen (III) metil transferazni gen (*AS3MT*) povezan z izpostavljenostjo As (Schlebusch in sod., 2015).

Manj pokrite so študije medsebojnega delovanja genov in okolja za organska onesnaževala. Za bisfenol A (BPA) je znano, da encim uridin difosfat-glukuronozil transferaza (*UGT*) katalizira metabolizem BPA v črevesju in jetrih, in rezultat konjugacije je metabolit BPA-glukoronid, ki se izloča z urinom (Teegarden in sod., 2005). Prisotnost genskih variant encimov, vključenih v konjugacijo BPA, je v veliki meri odgovorna za variabilnost v izpostavljenosti. In vitro kinetične študije so pokazale, da substitucija D85Y v *UGT2B15* zmanjšuje encimsko aktivnost (Hanioka in sod., 2011) in da so polimorfni aleli *UGT2B15* odgovorni za razlike v presnovi BPA (Partosch in sod., 2013). Določeni reproduktivni učinki na ljudeh so bili ugotovljeni kot rezultat izpostavljenosti ftalatom pri nultemu *GSTM1* genotipu (Huang in sod., 2010). Znanje o sinergističnih in/ali antagonističnih učinkih (pol)kovin in organskih spojin pri okoljskih izpostavitvah je pomankljivo, zato so potrebne raziskave v kombinaciji z različnimi faktorji (markerji) občutljivosti. V študijo smo vključili tiste gene oz. spremembe na genih, za katere vemo da lahko vplivajo na privzem, prerazporejanje, presnovo in/ali izločanje okoljskih onesnaževal v telesu, bodisi iz podatkov v literaturi oz. smo morebitni vpliv dokazali že v preteklih študijah.

2 METODE

2.1 ZASNOVA RAZISKAVE in OPREDELITEV OBMOČJA RAZISKOVANJA

Po epidemiološki zasnovi smo na območju Prekmurja, v obdobju od 1. 10. 2016 do 30. 9. 2019 izvedli presečno raziskavo.

Relativno malo podatkov je o izpostavljenosti kemikalijam, ki se uporabljajo v kmetijstvu (različne vrste pesticidov), zato smo se odločili, da bomo raziskavo izvajali na območju intenzivnega kmetijstva - PREKMURJU. Glavni razlogi za izbor: območje intenzivnega kmetijstva vključno z vinogradništvom, bivanje prebivalcev v neposredni bližini kmetijskih površin, poraba pesticidov velika (ostanki določeni v površinskih vodah -monitoring), velikost izpostavljenega območja, vzhodni del Slovenije ima pričakovano nižjo življenjsko dobo (ta se pripisuje genetskim faktorjem in življenjskemu slogu) in pomanjkanje podatkov o izpostavljenosti.

Opazovano regijo smo razdelili na: Goričko, Ravninski del in Lendavske Gorice. Iz vsakega območja smo v raziskavo povabili 50 otrok starih 6-9 let in 50 mladostnikov starih 12-15 let. SZO priporoča vključitev vsaj 50 preiskovancev iz vsakega območja (WHO Guidelines for Developing a National Protocol. Fourth WHO-Coordinated Survey of Human Milk for Persistent Organic Pollutants in Cooperation with UNEP. Geneva, 2007).

2.2 PRIPRAVA PROTOKOLA RAZISKAVE

Pri pripravi protokola smo na osnovi pregleda literature najprej definirali prioritetni seznam kemikalij, geografsko področje, populacijo in matrice za vzorčenje. Protokol vsebuje osnovne podatke o raziskavi, opis poteka rekrutiranja, vzorčenja, alikvotiranja in transporta vzorcev. V protokolu sta tudi poglavji o hranjenju podatkov in hrambi vzorcev. Na koncu pa so kot priloge dodani vsi potrebni dokumenti (vprašalniki, navodila za odvzeme, privolitev, ...) za izvedbo nabora in vzorčenja. (Priloga 1). Protokol je bil podlaga za pridobitev soglasja KME za izvedbo raziskave.

2.2.1 Izbor kemikalij

Pripravili smo Poročilo o kemikalijah (ftalati, bisfenoli in nonil fenoli, parabeni in triklosan, zaviralci gorenja, (pol)kovine, organofosforni pesticidi) v predmetih splošne rabe in v življenjskem okolju v R Sloveniji (Priloga 2). V poročilu smo združili poglavja za posamezne sklope kemikalij in na koncu dokumenta priloženi tabelo Pregled biomarkerjev izpostavljenosti primernih za otroke in mladostnike: referenčne in mejne vrednostmi ter podatki za Slovenijo. Gre za dokument, kije osnova za izbor geografske regije, starostne skupine in števila udeležencev, biomarkerjev in laboratorijev, ki bodo izvajali analize. Natančno smo preučili literaturo ter poročila in razpoložljive podatke za Slovenijo in za vsako skupino kemikalij pripravili pregled stanja s priporočili glede izvedbe v okviru projekta. Ugotovili smo, da je za Slovenijo na voljo zelo malo podatkov o izpostavljenosti pesticidom. Poleg organofosfornih pesticidov se veliko uporabljajo tudi fungicidi (vlažno podnebje in vinogradništvo), herbicidi (npr. glifosata). Pesticidom, ki se uporabljajo v kmetijstvu, smo izpostavljeni zaradi bivanja v bližini kmetijskih površin in ostankom preko živil. Med pesticidi za nekmetijsko rabo (biocidi), so med pogostejšimi aktivnimi snovmi piretroidi. Pesticidom v biocidnih pripravkih smo poleg tistih, ki jih uporabljamo za zatiranje škodljivcev v domačem okolju, lahko izpostavljeni tudi preko številnih predmetov splošne rabe, npr. tekstila, obutve, papirja, premazov za zidove, les ipd. Velja, da je med splošnim prebivalstvom velika zaskrbljenost zaradi pesticidov, predvsem fitofarmaceutskih sredstev. Pri izboru kemikalij smo upoštevali naslednje kriterije: možnost ukrepanja na podlagi pridobljenih podatkov, izvedljivost (analize, matrica, količina vzorca), zaskrbljenost prebivalstva, predvidena velikost izpostavljenosti (geografsko, starostno, poraba

kemikalij v državi), raven toksičnosti, specifičnost in razpoložljivost podatkov za Slovenijo. Prioritetni seznam izbranih kemikalij: ftalati, bisfenoli, nonil fenoli, parabeni, triklosan, PBDE, kovine, organofosforni pesticidi. Dodatni seznam (aliquote vzorcev shranimo): piretroidi, glifosat, PAH. Spremljajoče analize: specifična gostota urina, kreatinin in ledvični markerji v urinu, hemogram.

2.2.2 Izbor geografske regije

Prioritetne kemikalije se nahajajo pretežno v predmetih splošne rabe. Iz dosedanjih izkušnjah in preteklih raziskav vemo, da ni bistvenih razlik v izpostavljenosti potencialno škodljivim kemikalijam preko predmetov splošne rabe med ruralnim in mestnim področjem, zato za te kemikalije ne pričakujemo bistvenih razlik po geografskih področjih. Relativno malo podatkov je o izpostavljenosti kemikalijam, ki se uporabljajo v kmetijstvu (različne vrste pesticidov), zato smo se odločili, da bomo raziskavo izvajali na območju intenzivnega kmetijstva - Prekmurju. Glavni razlogi za izbor: območje intenzivnega kmetijstva vključno z vinogradništvom, bivanje prebivalcev v neposredni bližini kmetijskih površin, velika poraba pesticidov (ostanki določeni v površinskih vodah -monitoring), velikost izpostavljenega območja, vzhodni del Slovenije ima pričakovano nižjo življenjsko dobo (ta se pripisuje genetskim faktorjem in življenjskemu slogu) in pomanjkanje podatkov o velikosti izpostavitve ljudi. Regijo smo dodatno razdelili na Goričko, Ravninski del in Lendavske Gorice ter se odločili za osnovne šole oz. občine v regiji, ki najbolj ustrezajo značilnostim regije in izvedljivosti.

2.2.3 Izbor starostne skupine

Izbor starostne skupine je nekoliko pogojevala tudi izvedljivost. Pri 3-5 letnikih ne bi mogli vzorčiti zadostne količine krvi za določitev izpostavljenosti vsem izbranim kemikalijam. Pri 16-18 letnikih pa predstavlja prehod v srednjo šolo spremembo življenjskega stila, kar bi bila dodatna spremenljivka. Odločili smo se za otroke stare 6-9 let in mladostnike 12-15 let. Glede na statistične zahteve smo določili minimalno število otrok 150 (6-9 letnikov) in 150 (12-15 letnikov), pol fantov in pol deklet. Iz vsakega podpodročja bomo vzorčili 50 otrok v obeh starostnih skupinah (6-9, 12-15 let). 50 preiskovancev iz vsakega področja je minimalni standard WHO (WHO Guidelines for Developing a National Protocol. Fourth WHO-Coordinated Survey of Human Milk for Persistent Organic Pollutants in Cooperation with UNEP. Geneva, 2007).. Na ta način bomo rekrutirali 150 otrok v obeh starostnih skupinah. Skupno bomo vzorčili 300 preiskovancev.

2.2.4 Izbor matrice za vzorčenje

Urin, lasje in slina za razliko od krvi spadajo med matrice, ki jih dobimo z neinvazivno metodo, kar je s stališča vzorčenja pri otrocih zelo ugodno. Urin se je pri pregledu literature in po izkušnjah že večkrat izkazal kot slabša matrica zaradi variabilnosti pri nizkih koncentracijah. Z analizami v več maticah želimo izboljšati individualno interpretacijo. Projektna skupina se je odločila, da v obvezni del vzorčenja spadajo kri (max 10 mL), urin (50 mL) in lasje. Opcijsko pa bomo vzorčili še mlečne zobe in slino.

2.3 ETIČNO DOVOLJENJE

Raziskava je bila izvedena v skladu z zahtevami Komisije za medicinsko etiko (KME) RS, kateri smo 1.3.2017 poslali Vlogo za oceno etičnih vidikov raziskave. Komisija je vlogo obravnavala na seji 18.4.2017 in ocenila, da je raziskava etično sprejemljiva ter izdala soglasje za izvedbo (št. soglasja 0120-118/2017/3). Pisni odgovor Komisije za medicinsko etiko pa smo prejeli 20.10.2017 (Priloga 3).

V skladu z načeli Komisije RS za medicinsko etiko mora biti vsak preiskovanec ob povabilu v raziskavo natančno seznanjen z vsemi vidiki raziskave, ki lahko vplivajo na njegovo odločitev

o vključitvi v raziskavo. Svoje strinjanje z vključitvijo v raziskavo izrazi s podpisom obrazca Privolitev k sodelovanju (Priloga 6).

2.4 VKLJUČITVENI KRITERIJI

K sodelovanju smo povabili vse otroke na opazovanih šolah v Prekmurju v izbrani starostni skupini. Vključitveni kriteriji so bili sledeči:

- preiskovanec z dejanskim bivališčem v regiji - ta kriterij se preverja na podlagi poštne številke kraja bivanja, kjer preiskovanec dejansko prebiva,
- starost preiskovanca,
- preiskovanec na naslovu stalnega prebivališča živi že vsaj 3 leta,
- preiskovanec se ne zdravi z zdravili zaradi kroničnih bolezni ali bolezni presnove.

2.5 NABOR PREISKOVANCEV, VZORČENJE IN ORODJE RAZISKAVE

2.5.1 Priprava predstavitve za v šole za starše

V izbranih OŠ smo na roditeljskih sestankih organizirali predstavitve, kjer smo starše seznanili z natančnim opisom izvedbe projekta, poteka nabora preiskovancev v različnih geografskih regijah vključno z obrazložitvami za preiskovance v skladu z zahtevami Komisije za medicinsko etiko (KME), vprašalniki in protokoli vzorčenja. Staršem smo v septembru 2017 podali informacijo, da bo vzorčenje izvedeno do konca leta 2017. Ker se je zaradi zamude pri pridobitvi pisnega odgovora Komisije za medicinsko etiko, začetek vzorčenja prestavil v začetek 2018, smo vsem staršem v začetku decembra 2017 poslali pisno obvestilo o zamudi pri začetku vzorčenja (Priloga 4).

2.5.2 Orodje raziskave – vprašalnik

V začetku januarja 2018 smo sprejeli končno verzijo vprašalnika (Priloga 5), ki smo jih sestavili na podlagi do sedaj vpeljanih praks v projektih DEMOCOPHES, nacionalnem HBM programu, spremljanju izpostavljenosti svincu v Mežiški dolini in drugih študijah HBM v Sloveniji. Iz tiskane oblike smo nato pripravili elektronsko verzijo za direkten vnos podatkov na vzorčenju ali pa kasneje za prepis iz tiskane verzije. Vprašanja smo kodirali v obliki, primerni za posredovanje podatkov v evropsko bazo IPChem. Pri kodiranju vprašalnikov in vzorcev smo sledili že uporabljenemu načinu v SLO HBM. V decembru 2018 smo na IJS izvedli usposabljanje oseb za vodeno anketiranje, usposobili smo 9 oseb.

2.5.3 Nabor preiskovancev

Rekrutiranje samo najprej izvedli na petih osnovnih šolah (OŠ Puconci, OŠ Gornji Petrovci, OŠ Turnišče, OŠ Franceta Prešerna Črenšovci, Dvojezična OŠ I Lendava) predstavili raziskavo na roditeljskih sestankih. Razdelili smo jim Vabilo k sodelovanju v raziskavi skupaj z Odgovorom na povabilo (Komunikacijski material v času rekrutiranja - *Priloga 4*). Odgovor so starši vrnili v šolo. Na njem so njihovi kontaktni podatki za obveščanje glede vzorčenja. Za lendavsko območje smo morali dokumente prevesti v madžarščino (Priloga 4). V Lendavi smo informiranje zaradi slabega odziva v prvi fazi ponovili in razširili iz Lendavskih goric na celotno območje Lendave. V nadaljevanju smo rekrutiranje razširili še na dve šoli in sicer OŠ Bogojina in OŠ Fokovci. Skupno so tako starši k sodelovanju v raziskavi prijavili 268 otrok in mladostnikov (Tabela 3).

Tabela 3. Uspešnost rekrutiranja

Kraj	Število razdeljenih vabil	Število prijav	Uspešnost (%)
OŠ Gornji Petrovci	60	8	13,3
OŠ Turnišče	100	28	28,0
OŠ Puconci	160	66	41,3
OŠ Črenšovci	80	42	52,5
OŠ Lendava	250	58	23,2
OŠ Bogojina	130	52	40,0
OŠ Fokovci	50	14	28,0
Skupaj	830	268	32,3

2.5.4 Vzorčenje

Vzorčenje je bilo časovne razdeljeno na dve časovni obdobji: zimsko - 1.faza (januar-marec 2018) in poletno - 2.faza (maj-junij 2018) predvsem zaradi razlik v uporabi fitofarmaceutskih sredstev in biocidov.

PRVA FAZA

Od januarja do marca 2018 smo na šolah izvajali 1. fazo vzorčenja. Termini izvedbe vzorčenj na šolah so navedeni spodaj, na vzorčenju so sodelovali usposobljeni sodelavci IJS in NIJZ ter usposobljena oseba za odvzem krvi s KIKKB UKCL:

- 16.1.2018 - OŠ Gornji Petrovci
- 18.1.2018 - OŠ Turnišče
- 25.1.in 26.1.2018 - OŠ Puconci
- 6.2. in 9.2.2018 - OŠ Črenšovci
- 14.2. in 15.2.2018 - OŠ Lendava
- 7.3. in 8.3.2018 - OŠ Bogojina
- 13.3.2018 - OŠ Fokovci

S starši smo stik navezali preko kontaktnih podatkov, ki so jih navedli v prijavi. Od 268 prijavljenih otrok in mladostnikov smo se uspeli dogovoriti za 246 vzorčenj. Ostali so bili nedosegljivi ali pa so zavrnilo nadaljnje sodelovanje. Otrokom smo dan pred vzorčenjem v šoli razdelili urinske lončke, ker je bilo potrebno zbrati prvi jutranji urin, in navodila za zbiranje (Priloga 5). Urin so nato prinesli s sabo v šolo ob dogovorjenem terminu.

Vzorčenje je potekalo v dveh delih:

- 1) izpolnjevanje obrazca Privolitev ob poučitvi (Priloga 5) in vodeno izpolnjevanje Vprašalnika o zdravju otroka, življenjskem slogu, delu in prehranskih navadah (Priloga 5).
- 2) Odvzem vzorcev urina (~ 50 mL), krvi (10 mL), sline (1 mL) in las (~1g)

Na koncu so vsi otroci in mladostniki prejeli simbolična darila (zaščitni odsevni brezrokavnik).

Ob vzorčenju smo izpolnjevali tudi kratek Vprašalnik ob vzorčenju (Priloga 5). Vsi vprašalniki in materiali za vzorce so bili označene z individualno identifikacijsko kodo.

Od 246 otrok in mladostnikov jih je 16 zavrnilo odvzem krvi. Bolj uspešni smo bili pri naboru in vzorčenju prve starostne skupine (otrok starih 6-9 let) kot druge (mladostniki stari 12-15 let) in sicer smo vzorčili 148 otrok (81 deklic in 67 dečkov) in 98 mladostnikov (45 deklet in 53 fantov) (Tabela 4).

Tabela 4. Potek vzorčenja prve faze.

1. faza - CRP-MS-2018	Starostna skupina	Število vzorčenih oseb										Skupaj
		6-9 let					12-15 let					
		Deklice	Dečki	Skupaj	Cilj	Delež	Deklice	Dečki	Skupaj	Cilj	Delež	
Goričko	OŠ Puconci	18	13	31			16	14	30			
	OŠ Gornji Petrovci	0	0	0			4	4	8			
	OŠ Bogojina	14	11	25			12	12	24			
	OŠ Fokovci	4	4	8			2	3	5			
	Skupaj	36	28	64	50	128%	34	33	67	50	134%	
Ravninski del	OŠ Turnišče	11	12	23			0	4	4			
	OŠ Franceta Prešerna Črenšovci	15	11	26			2	8	10			
	Skupaj	26	23	49	50	98%	2	12	14	50	28%	
Lendavske Gorice	Dvojezična OŠ I Lendava	19	16	35	50	70%	9	8	17	50	34%	
	Skupaj	81	67	148	150	99%	45	53	98	150	65%	246
												82%

Del anketiranj ni bilo možno izvesti tako, da bi odgovore na vprašanja v Vprašalniku vnašali direktno v »on-line« pripravljene vprašalnike (113 on-line vnosov). Razloga za to sta bila ali v težavah s povezavami ali pa anketiranje dveh otrok iz iste družine. Vnos teh vprašalnikov v skupno podatkovno bazo je bil opravljen naknadno.

DRUGA FAZA

Konec maja in v začetku junija 2018 smo na šolah izvajali 2. fazo vzorčenja. Termini izvedbe vzorčenj na šolah so navedeni spodaj, na vzorčenju so sodelovali sodelavci IJS in NIJZ:

- 28.5.2018 - OŠ Puconci
- 30.5.2018 - OŠ Gornji Petrovci
- 30.5.2018 - OŠ Turnišče
- 4.6.2018 - OŠ Bogojina
- 4.6.2018 - OŠ Fokovci
- 7.6.2018 - OŠ Črenšovci
- 11.6. in 13.6.2018 - OŠ Lendava

V 2. fazi smo vzorčili samo urin. Otrokom smo nekaj dni pred vzorčenjem v šoli razdelili urinske lončke, ker je bilo potrebno zbrati prvi jutranji urin, in Obvestilo o vzorčenju - 2.faza za starše z navodili (Priloga 5). Urin so nato prinesli s seboj v šolo ob dogovorjenem terminu na dogovorjeno mesto v šoli takoj zjutraj ob prihodu v šolo. Poleg navodil smo dali v vrečko z lončkom za zbiranje kratek vprašalnik o vzorčenju (Priloga 5) o času zbiranja, uživanju hrane pred tem in uporabi fitofarmaceutskih sredstev in biocidov v času od prvega vzorčenja (Tabela 5).

Tabela 5. Potek vzorčenja druge faze.

2. FAZA - CRP - MS-2018 URINE	Starostna skupina	Število vzorčenih oseb										Skupaj
		6-9 let					12-15 let					
		Deklice	Dečki	Skupaj	Cilj	Delež	Deklice	Dečki	Skupaj	Cilj	Delež	
Goričko	OŠ Puconci	18	13	31			16	14	30			
	OŠ Gornji Petrovci	0	0	0			4	4	8			
	OŠ Bogojina	13	8	21			10	10	20			
	OŠ Fokovci	4	4	8			2	3	5			
	Skupaj	35	25	60	64	94%	32	31	63	67	94%	
Ravninski del	OŠ Turnišče	11	12	23			0	4	4			
	OŠ Franceta Prešerna Črenšovci	14	11	25			2	6	8			
	Skupaj	25	23	48	49	98%	2	10	12	14	86%	
Lendavske Gorice	Dvojezična OŠ I Lendava	16	15	31	35	89%	5	6	11	17	65%	
	Skupaj	76	63	139	148	94%	39	47	86	98	88%	225
												91%

2.6 Transport in shranjevanje vzorcev

Po vzorčenju je bilo potrebno serumsko in hemogramsko epruveto najkasneje v 4 urah dostaviti v laboratorij za separacijo seruma in osnovno analizo krvi – **hemogram**. Zaradi oddaljenosti laboratorija s katerim smo dogovorjeni za izvedbo osnovnih biokemijskih analiz krvi in urina, KIKKB iz UKC Ljubljana, in popoldanskega termina vzorčenja smo se o izvedljivosti pogovorili z najbližjim urgentnim laboratorijem, to je laboratorijem v Splošni bolnišnici Murska Sobota (SB MS). Transport vzorcev krvi v SB MS smo opravili v hladilni torbi najkasneje v 4 urah po odvzemu.

Vzorci urina, krvi in seruma smo dostavili na KIKKB v čim krajšem možnem času (še isti večer ali takoj zjutraj). Transport vzorcev smo opravili v hladilni torbi (2 – 8 °C). Na KIKKB so opravili alikvotiranje in separacijo frakcij krvi ter biokemijske analize (kreatinin, NAG, Alb, IgG in alfa-1-mikroglobulin v urinu, celokupni holesterol in trigliceridi v serumu). Transport alikvotov vzorcev urina in krvi iz KIKKB na IJS smo opravili enkrat tedensko v hladilni torbi. Alikvoti vzorcev, ki niso bili analizirani takoj, so shranjeni pri temperaturi -80 °C v Biobanki IJS, ki je v upravljanju Odseka za znanosti o okolju.

Vzorci las in slin smo odnesli direktno na IJS in jih shranili pri sobni temperaturi.

2.7 Shranjevanje podatkov

Osnovna baza podatkov se oblikuje v programu Microsoft Excel. Zajem podatkov iz vprašalnikov se izvede s programom na način 'Computer-assisted Personal Interviewing' (CAPI), v katerega se vnašajo odgovori na vprašanja preiskovancev, lahko neposredno ob intervjuju ali naknadno iz vprašalnika na papirju.

Podatke iz vprašalnikov smo v večini primerov lahko direktno vnašali v on-line vprašalnik. Del anketiranja ni bilo možno izvesti tako zaradi težav s povezavami ali pa anketiranje dveh otrok iz iste družine. Vnos teh vprašalnikov v skupno bazo je bil opravljen naknadno.

Rezultati (bio)kemijskih analiz smo vpisali neposredno v za to namenjeno podatkovno bazo v Excel-u.

2.8 Laboratorijska analiza vzorcev

Ključna kriterija pri izboru laboratorijev sta bila 1) analitična zmogljivost določanja izjemno nizkih koncentracij kemikalij v humanih vzorcih pri splošni populaciji in 2) minimalna potrebna količina vzorca za analizo, saj smo pri otrocih s količino zelo omejeni. Laboratoriji so morali za izbrane kemikalije izkazati usposobljenost s sodelovanjem v medlaboratorijskih primerjavah npr v nemški shemi G-EQUAS, v interkomparacijah v okviru evropskega projekta HBM4EU oz. primerljivih shemah. Če v Sloveniji nismo našli laboratorija usposobljenega za analitiko določenih kemikalij, smo poiskali usposobljene laboratorije v okviru povezovanja s partnerji v EU projektih (HEALS, CROME, HBM4EU).

V zbranih vzorcih so bile tako do sedaj opravljene naslednje analize:

- Multielementna analiza las
- Multielementna analiza krvi in plazme
- Multielementna analiza urina
- Specijacija As v vzorcih urina
- Določitev bisfenolov A, F in S, parabenov in triklosana v urinu
- Določitev glifosata in AMPA v urinu (1. in 2. faza, Medical Laboratory iz Bremna v Nemčiji.)
- Določitev PAHov v urinu (1. faza, VITO iz Belgije)
- Izolacija DNA za genotipizacijo izbranih genov pomembnih za povečano ali zmanjšano občutljivost na prisotnost preiskovanih kemikalij
- Spremljevalne biokemijske analize: osnovna analiza krvi - hemogram, v urinu kreatinin, NAG, Alb, IgG in alfa-1-mikroglobulina in v serum kreatinin, celokupni holesterol in trigliceridi.

Program raziskave je vključeval še ftalate in DINCH, organofosforne pesticide, bromirane zaviralce gorenja in PFAS. Za organofosforne pesticide smo se dogovorili z laboratorijem iz Barcelone, s katerim smo že sodelovali v okviru projekta CROME Life+: Center of Research and Development, Spanish Research Council (CSIC) in so analize v teku. Za ostale tri skupine kemikalij pa smo v okviru HBM4EU raziskavo CRP V3-1640 prijavi na interni razpis za vključitev študije v sofinanciranje analiz in obdelave podatkov v prvem sklopu kemikalij. Vzorci iz CRP V3-1640 so bili izbrani za sofinanciranje analiz ftalatov, DINCH in zaviralcev gorenja v 150-ih vzorih urina/seruma otrok (starih 6-9 let) ter analiza ftalatov, DINCH in PFAS v 150-ih vzorcih najstnikov (12-15 let). Ker pa rezultati vseh medlaboratorijskih primerjav še niso znani, vzorci še niso bili poslani naprej v analizo.

V nadaljevanje je podan pregled uporabljenih metod z osnovnimi podatki. Metode so validirane, zagotovljena je stalna kontrola rezultatov z uporabo referenčnih materialov in sodelovanjem v mednarodnih laboratorijskih primerjavah. Podrobnejši podatki so na voljo na zahtevo naročnika.

2.8.1 Multielementna analiza

2.8.1.1 Določanje Al, V, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, As, Se, Cd, Sb, Ba, Hg in Pb v laseh z ICP-QQQ

Čiščenje las: Od vzorca las odstrižemo prve 3 cm z wolframovi škarjami, nato jih opremo z acetonom (namakamo 10 min) in sprememo z Milli-Q vodo. Posušimo na filter papirju čez noč.

Razkroj: 20-30 mg las odtehtamo v predhodno očiščene kvarčne epruvete, dodamo 1 mL 65% dušikove kisline (suprapur) in razkrojimo v mikrovalovnem sistemu (ULTRAWAVE, MILESTONE, Italija) z uporabo naslednjega programa: 1) 20 min naraščanje temperature do

240°C, 2) pustimo 15 min pri 240°C in 100 bar). Raztopino po razkroju prenesemo v merilne epruvete in razredčimo do 10 mL.

Merjenje: V pripravljenih raztopinah z masnim spektrometrom z induktivno sklopljeno plazmo s tremi kvadropoli (ICP-QQQ, Agilent 8800, Japonska) izmerimo koncentracijo izbranih elementov. Umerjanje instrumenta naredimo dnevno z raztopino, ki vsebuje Li, Mg, Y, Ce, Tl in Co. Merjeni izotopi so ^{27}Al , ^{51}V , ^{55}Mn , ^{56}Fe , ^{59}Co , ^{63}Cu , ^{66}Zn , ^{75}As , ^{78}Se , $^{111,114}\text{Cd}$, ^{123}Sb , ^{137}Ba , $^{201,202}\text{Hg}$ in $^{206-208}\text{Pb}$. Kvantifikacija je bila narejena z eksterno kalibracijo.

Meje zaznavnosti (MZ) so bile izračunane na podlagi treh standardnih odklonov meritev slepih vzorcev in so bile za Al 2200 ng/g, V 2 ng/g, Mn 15 ng/g, Fe 480 ng/g, Co 1 ng/g, Cu 15 ng/g, Zn 1000 ng/g, As 4 ng/g, Se 12 ng/g, Cd 1 ng/g, Sb 1,5 ng/g, Ba 30 ng/g, Hg 6 ng/g in Pb 15 ng/g las.

Pravilnost rezultatov smo preverjali z uporabo referenčnih materialov:

- 1) IAEA-086 (Human hair)
- 2) NIES No. 13 (Human hair)

2.8.1.2 Določanje Al, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn, Sb, Cs, Ba, Hg, Tl, Pb in U v urinu z ICP-QQQ

Razkroj: 0.5 g vzorca urina odpipetiramo v predhodno očiščeno teflonsko epruveto, dodamo 0.5 mL 65% dušikove kisline (suprapur) in razkrojimo v mikrovalovnem sistemu (ULTRAWAVE, MILESTONE, Italija) s programom: 1) 20 min naraščanje temperature do 240°C, 2) pustimo 15 min pri 240°C in max 100 bar). Raztopino po razkroju prenesemo v merilne epruvete in razredčimo do 5 mL.

Merjenje: V pripravljenih raztopinah z masnim spektrometrom z induktivno sklopljeno plazmo s tremi kvadropoli (ICP-QQQ, Agilent 8800, Japonska) izmerimo koncentracijo izbranih elementov. Umerjanje instrumenta naredimo dnevno z raztopino, ki vsebuje Li, Mg, Y, Ce, Tl in Co. Merjeni izotopi so ^{27}Al , ^{51}V , ^{52}Cr , ^{55}Mn , ^{56}Fe , ^{59}Co , ^{63}Cu , ^{66}Zn , ^{75}As , ^{78}Se , ^{85}Rb , ^{88}Sr , ^{95}Mo , $^{111,114}\text{Cd}$, ^{118}Sn , ^{123}Sb , ^{133}Cs , ^{137}Ba , $^{201,202}\text{Hg}$, ^{205}Tl , $^{206-208}\text{Pb}$ in ^{238}U . Kvantifikacija je bila narejena z eksterno kalibracijo. Najmanj vsak deseti vzorec je bil pripravljen v dveh paralelkah. Na enak način kot vzorce smo pripravili tudi slep vzorec. Vzorce smo pred merjenjem ustrezno razredčili, če je bilo to potrebno.

Meje zaznavnosti (MZ) so bile izračunane na podlagi treh standardnih odklonov meritev slepih vzorcev in so bile za Al 8 ng/g, V 0,03 ng/g, Cr 0,36 ng/g, Mn 0,2 ng/g, Fe 9 ng/g, Co 0,009 ng/g, Cu 0,3 ng/g, Zn 11 ng/g, As 0,03 ng/g, Se 0,14 ng/g, Rb 0,07 ng/g, Sr 0,2 ng/g, Mo 0,2 ng/g, Cd 0,02 ng/g, Sn 0,06 ng/g, Sb 0,018 ng/g, Cs 0,006 ng/g, Ba 0,5 ng/g, Hg 0,04 ng/g, Tl 0,004 ng/g, Pb 0,4 ng/g U 0,004 ng/g urina.

Pravilnost rezultatov smo preverjali:

- 1) z uporabo referenčnih materialov: Seronorm Urine Level 1 (Sero), Seronorm Urine Level 2 (Sero), ClinChek Level 1 (Receipe)
- 2) sodelovanjem v medlaboratorijskih primerjavah: nemška shema G-EQUAS in ICI v okviru projekta HBM4EU

2.8.1.3 Določanje Mn, Fe, Co, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Cd, Sb, Cs, Hg, Tl in Pb v krvi z ICP-QQQ

Razkroj: 0.3 g vzorca krvi odpipetiramo v predhodno očiščeno teflonsko epruveto, dodamo 0.5 mL 65% dušikove kisline (suprapur) in razkrojimo v mikrovalovnem sistemu (ULTRAWAVE, MILESTONE, Italija) s temperaturnim programom: 1) 20 min naraščanje temperature do

240°C, 2) pustimo 15 min pri 240°C in 100 bar). Raztopino po razkroju prenesemo v merilne epruvete in razredčimo do 5 mL.

Merjenje: V pripravljenih raztopinah z masnim spektrometrom z induktivno sklopljeno plazmo s tremi kvadropoli (ICP-QQQ, Agilent 8800, Japonska) izmerimo koncentracijo izbranih elementov. Umerjanje instrumenta naredimo dnevno z raztopino, ki vsebuje Li, Mg, Y, Ce, Tl in Co. Merjeni izotopi so ^{55}Mn , ^{56}Fe , ^{59}Co , ^{63}Cu , ^{66}Zn , ^{75}As , ^{78}Se , ^{85}Rb , ^{88}Sr , ^{95}Mo , $^{111,114}\text{Cd}$, ^{123}Sb , ^{133}Cs , $^{201,202}\text{Hg}$, ^{205}Tl , $^{206-208}\text{Pb}$. Kvantifikacija je bila narejena z eksterno kalibracijo. Najmanj vsak deseti vzorec je bil pripravljen v dveh paralelkah. Na enak način kot vzorce smo pripravili tudi slep vzorec. Vzorce smo pred merjenjem ustrezno razredčili, če je bilo to potrebno.

Meje zaznavnosti (MZ) so bile izračunane na podlagi treh standardnih odklonov meritev slepih vzorcev in so bile za Mn 1 ng/g, Fe 50 ng/g, Co 0,04 ng/g, Cu 1 ng/g, Zn 45 ng/g, As 0,1 ng/g, Se 0,3 ng/g, Rb 0,3 ng/g, Sr 3 ng/g, Cd 0,03 ng/g, Sb 0,03 ng/g, Cs 0,03 ng/g, Hg 0,07 ng/g, Tl 0,01 ng/g in Pb 1 ng/g krvi.

Pravilnost rezultatov smo preverjali:

- 1) z uporabo referenčnih materialov: Seronorm Whole Blood Level 1 (Sero), Seronorm Whole Blood Level 2 (Sero)
- 2) sodelovanjem v medlaboratorijskih primerjavah: nemška shema G-EQUAS in ICI v okviru projekta HBM4EU

2.8.1.4 Določanje Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn, Sb, Ba, Hg, Tl in U v plazmi z ICP-QQQ

Razkroj: 0.3 g vzorca plazme odpipetiramo v predhodno očiščeno teflonsko epruveto, dodamo 0.5 mL 65% dušikove kisline (suprapur) in razkrojimo v mikrovalovnem sistemu (ULTRAWAVE, MILESTONE, Italija) s temperaturnim programom: 1) 20 min naraščanje temperature do 240°C, 2) pustimo 15 min pri 240°C in 100 bar). Raztopino po razkroju prenesemo v merilne epruvete in razredčimo do 5 mL.

Merjenje: V pripravljenih raztopinah z masnim spektrometrom z induktivno sklopljeno plazmo s tremi kvadropoli (ICP-QQQ, Agilent 8800, Japonska) izmerimo koncentracijo izbranih elementov. Umerjanje instrumenta naredimo dnevno z raztopino, ki vsebuje Li, Mg, Y, Ce, Tl in Co. Merjeni izotopi so ^{52}Cr , ^{55}Mn , ^{56}Fe , ^{59}Co , ^{60}Ni , ^{63}Cu , ^{66}Zn , ^{75}As , ^{78}Se , ^{85}Rb , ^{88}Sr , ^{95}Mo , $^{111,114}\text{Cd}$, ^{118}Sn , ^{123}Sb , ^{137}Ba , $^{201,202}\text{Hg}$, ^{205}Tl in ^{238}U . Kvantifikacija je bila narejena z eksterno kalibracijo. Najmanj vsak deseti vzorec je bil pripravljen v dveh paralelkah. Na enak način kot vzorce smo pripravili tudi slep vzorec. Vzorce smo pred merjenjem ustrezno razredčili, če je bilo to potrebno.

Meje zaznavnosti (MZ) so bile izračunane na podlagi treh standardnih odklonov meritev slepih vzorcev in so bile za Cr 0.7 ng/g, Mn 0.2 ng/g, Fe 13 ng/g, Co 0.02 ng/g, Ni 2 ng/g, Cu 2 ng/g, Zn 80 ng/g, As 0,06 ng/g, Se 0,4 ng/g, Rb 0,4 ng/g, Sr 0,7 ng/g, Mo 0,4 ng/g, Cd 0,03 ng/g, Sn 0,15 ng/g, Sb 0,05 ng/g, Ba 2 ng/g, Hg 0,06 ng/g, Tl 0,01 ng/g, U 0,01 ng/g plazme.

Pravilnost rezultatov smo preverjali:

- 1) z uporabo referenčnih materialov: Seronorm Serum Level 1 (Sero), Seronorm Serum Level 2 (Sero)
- 2) sodelovanjem v medlaboratorijskih primerjavah: nemška shema G-EQUAS in ICI v okviru projekta HBM4EU

2.8.2 Speciacija As v vzorcih urina

Za speciacijo arzena v urinih smo uporabili metodo tekočinske kromatografije z visoko ločljivostjo s hidridno tehniko in atomsko fluorescenčno spektrometrijo (HPLC-HG-AFS, PSA Analytical). Spojine smo ločili na anionski izmenjalni koloni (Hamilton PRP-X100; mobilna faza: 20mM KH₂PO₄, pH 6.1), ki omogoča ločitev AsIII, DMA, MMA in arzenata (AsV) (Šlejkovec in van Elteren, 1999). Meje zaznavnosti so bile: 0.1 ng/mL za AsIII in AsV ter 0.2 ng/mL za DMA in MMA. Pravilnost rezultatov smo preverjali z uprabo referenčnega materiala SRM 3669 Arsenic Species in Frozen Human Urine in s sodelovanjem v medlaboratorijski primerjavi G-EQUAS.

2.8.3 Metoda za določitev bisfenolov A, F in S, parabenov in triklosana v urinu

Priprava vzorca: Dekonjugacijska mešanica: K 450 µL LC-MS vode dodamo 45 µL encima β-glukuronidaza/arilsulfata (Helix pomatia, tip H-2) in 25 µL acetatnega pufra (pH = 5.2, c = 3 mol/L) ter premešamo na vorteksu.

Predpriprava vzorca: V 1 mL vzorca, alikvotiranega v 2 mL 96-mestne zbiralne plošče, dodamo 50 µL acetatnega pufra in 20 µL dekonjugacijske mešanice ter inkubiramo 18 ur pri 37 °C. Po dekonjugaciji dodamo interne standarde do končne koncentracije 2 ng/mL.

Ekstrakcija na trdno fazo in derivatizacija: 60 mg Oasis HLB 96-mestne plošče najprej kondicioniramo s po 1 mL diklorometana, etil acetata, metanola in vode, v tem vrstnem redu. Nato naneseemo vzorec, speremo sorbent z 1 mL 20 % metanola v vodi in posušimo v toku dušika. Ko je sorbent suh, eluiramo ekstrakt z 1,5 mL mešanice etil acetata in metanola (1:1). Eluate sušimo do suhega in rekonstituiramo v 100 µL acetonitrila. Nato dodamo 20 µL MSTFA in derivatiziramo 1 uro pri 50 °C.

Čiščenje derivatiziranega vzorca: Dve Strata Si (100 mg) 96-mestni plošči kondicioniramo z 1 mL diklorometana in 2 mL etil acetata. Plošči zložimo eno na drugo in naneseemo derivatiziran vzorec. Eluiramo z 1.5 mL diklorometana in eluat lovimo v 2 mL 96-mestne zbiralne plošče. Eluat koncentriramo v toku dušika do približno 100 µL in prenesemo v insert za GC vialo.

GC-MS/MS analiza: Instrumentalno analizo izvajamo na Agilent 7890 B plinskem kromatografu, sklopljenim s trojnim kvadrupolnim analizatorjem Agilent 7000. Ločba poteka na DB5-MS UI koloni (30 m, 0.25 mm, 0.25 µm), z nosilnim plinom helijem pri 1 mL/min. Injiciramo po 2 µL vzorca v »splitless« načinu, pri temperaturi injektorja 270 °C. Pretok dušika v kolizijski celici 1,5 mL/min.

Vsak vzorec analiziramo z dvema metodama. S prvo določimo BPA in BPF, ločba pa poteka po temperaturnem programu 120 °C (2 min), nato 16 °C/min do 300 °C (5 min). V vzorce nato dodamo po 20 µL MSTFA in določamo še BPS, parabene in TCS, z ločbo po temperaturnem programu 110 °C (1 min), nato 16 °C/min do 300 °C (5 min).

MS/MS analizo izvajamo v MRM načinu, pri čemer za vsako spojino uporabimo po 3 prehode, v primeru benzil parabena pa dva. Najbolj intenzivni prehod se uporabi za kvantifikacijo, ostala dva (eden) pa za potrditev identitete, glede na razmerja med prehodi. Kolizijske energije so bile optimizirane za vsak prehod. Čas za snemanje posameznega prehoda je 50 ms, kar daje približno 10 točk na vrh v kromatogramu.

Zagotavljanje kakovosti rezultatov

Stabilnost analiznega sistema kontroliramo z uporabo QC vzorcev. Ti vzorci so vsakič sveže pripravljene v dekonjugiranem urinu pri koncentraciji 5 ng/mL za vsako spojino. V analizni sekvenci je QC vzorec analiziran pred začetkom in potem na vsakih pet vzorcev v sekvenci. Preverjanje QC vzorcev nam zagotavlja stabilnost retencijski časov in odzivnosti. Kontrolo nad

prenosom analitov (carryover) med vzorci v sekvenci izvajamo z instrumentalnimi ničlami oziroma »blanki«, medprocesno kontaminacijo pa z metodološkimi »blanki«. Določeni analiti (BPA, MeP, TCS) so namreč prisotni tudi v samih topilih, derivatizacijskem sredstvu, plastični embalaži 96-mestnih plošč, itd., zato medprocesno kontaminacijo sproti ocenjujemo na dveh paralelah, pri čemer vsako injiciramo 3-krat, s čimer se preverja stabilnost signala pred začetkom analiz. Pri vsaki posneti umeritveni krivulji preverimo točnost kvantifikacije s kontrolnimi vzorci na šestih različnih koncentracijskih točkah. Sodelovali smo tudi v medlaboratorijski primerjavi ICI v okviru projekta HBM4EU.

Meja kvantifikacije (MK) za BPA je 0.25 ng/mL, BPF 0.03 ng/mL, BPS 0.25 ng/mL, triklosan 0.2 ng/mL in za parabene: MEP 0.5, EtP 1; iPrP 0.25, Prp 0.25, iBuP 0.25, BuP 0.5, BzP 0.1 ng/mL.

2.8.4 Določitev glifosata in presnovka AMPA v urinu

Analize je opravil Medical Laboratory iz Bremna v Nemčiji.

Priprava vzorca: 100 µL urina dodajo interni standard in 1 mL acetonitrila. Posušijo do suhega in preostanek derivatirajo z 0.5 mL 2,2,2-trifluoroetanolom in 1 mL ledeno mrzlega trifluoroacetatnega anhidrida. Segrejevajo pri 85 °C 1h in posušijo. Ostanek raztopijo v acetonitrilu.

GC-MS/MS analiza: Instrumentalno analizo izvajamo na Agilent 7010 GC-MSMS analizatorjem. Ločba poteka na HP-INNOWax koloni (30 m, 0.25 mm, 0.25 µm), z nosilnim plinom helijem.

Meja kvantifikacije je za glifosat in AMPA 0.1 µg/L. Pravilnost rezultatov preverjajo z uporabo kontrolnih materialov v vsaki seriji in sodelovanjem v medlaboratorijski primerjavi na realnih vzorcih.

2.8.5 Določitev policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH) v urinu

Analize je opravil laboratorij iz VITO (Flemish Institute for Technological Research) v Belgiji.

Postopek: K 0.5 mL vzorca urina dodajo β-glukoronidazo/arilsulfatazo v prisotnosti acetatnega pufra. Z UPLC-MS/MS nato v raztopini določijo hidroksilirane metabolite. Kvantificirajo z metodo standardnega dodatka z uporabo izotopsko označenih analogov. Vsake 20 vzorcev naredijo slepo, kontrolni vzorec, vzorec v paralelki in vzorec s standardnim dodatkom analitov.

Meje zaznavnosti so za hidroksilirane metabolite:

- 1+9-OH-fenantren 0,006 µg/L
- 1-OH-piren 0,003 µg/L
- 2+3-OH-fluoren 0,003 µg/L
- 2-OH-naftalen 0,006 µg/L
- 2-OH-fenantren 0,002 µg/L
- 3-OH-fenantren 0,002 µg/L
- 4-OH-fenantren 0,003 µg/L

Pravilnost rezultatov zagotavljajo z uporabo in sodelovanjem v medlaboratorijskih primerjavah ICI v projektu HBM4EU in G-EQUAS.

2.8.2 Genetske analize

Vpliv genetskih variacij na koncentracije izbranih elementov v sledovih (As, Pb in Se) ter bisfenola A v zbranih bioloških vzorcih smo preverjali na podlagi določitve polimorfizma posameznega nukleotida (angl. Single Nucleotide Polymorphism, SNP) v genih vpletenih v kinetiko in dinamiko potencialno strupenih onesnažil v telesu.

Izolacija DNK: Genomska DNK smo izolirali iz 0.5 mL vzorca krvi z uporabo FlexiGene® DNA kita (Qiagen, Hilden, Germany) in v primeru manjkajočega vzorca krvi iz 0.5 mL slin z uporabo kita PrepIT-L2P (DNA Genotec Inc.). Koncentracijo in čistost izolirane DNK smo preverili z UV-VIS spektrofotometrom NanoDrop 2000c (ThermoFisher Scientific, USA). Vzorci so bili do nadaljne analize shranjeni na - 80°C.

Izbira genskih polimorfizmov: Polimorfizme posameznega nukleotida (SNP) smo izbrali glede na literaturne podatke, lokacijo v genu (preferenčno: exon > regulatorna regija > intron) ter frekvenco minorne alela za evropske populacije (glede na podatke v SNP podatkovni bazi Nacionalnega centra za biotehnoške informacije; dbSNP, NCBI). Na ta način smo izbrali 20 SNP-jev: 6 v genu arzen (3+) metiltransferaza (*AS3MT*), po tri v genu apolipoproteina E (*APOE*), po dva v genih δ- aminolevulinska dehidrataze (*ALAD*), vitamin D receptorja (*VDR*) ter selenoproteina P (*SELENOP*) ter po en SNP v genih paraoksonaze 1 (*PON1*) in uridin-difosfat-glukuroniltransferaze (*UGT2B15*), glutation peroksidaza 1 (*GPX1*), glutation peroksidaza 3 (*GPX3*) ter glutation peroksidaza 4 (*GPX4*). Seznam SNP-jev z dodanimi osnovnimi informacijami je podan v Tabeli 6.

Analiza polimorfizmov posameznega nukleotida: Genotipe 20 SNP-jev (Tabela 6) smo določili s predhodno oblikovanimi hidrolizirajočimi sondami - TaqMan Genotyping Assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Reakcijska zmes z volumnom 5 µL je zajemala: 2,5 µL TaqMan® Universal Mater Mix II z UNG (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 1,875 µL ultra-čiste vode brez nukleaz (Life Technologies, CA, USA), 0,125 µL 44x TaqMan sonde ter 0,5 µL vzorca DNK (ultra-čiste vode pri negativni kontroli). Pomnoževanje in zaznavanje fluorescence smo izvedli z qPCR LightCycler 480 inštrumentom II in programsko verzijo 1.5.1 (Roche). Verižna reakcija s polimerazo v realnem času (qPCR) je obsegala naslednje stopnje: pred-PCR (1 cikel, 50°C za 2 min), aktivacija (1 cikel, 95°C za 10 min), naleganje in pomnoževanje (50 ciklov, 95°C za 15 s in 61°C za 1 min) in hlajenje (1 cikel, 40°C za 30 s). Stopnja naleganja in pomnoževanja smo pri določenih SNP-jih prilagodili (sprememba števila ciklov in temperature naleganja). Vsi SNP-ji so bili preverjeni za skladnost z Hardy-Weinbergovim načelom. Odstopanja nismo zasledili pri nobenem od izbranih SNP-ov (Pearsonov hi-kvadrat *test*: $p > 0,05$).

Tabela 6. Informacije izbranih polimorfizmov posameznega nukleotida

GEN	ID SNP-ja	kromosom	Lokacija* E, R, I	Sprememba nukleotida	Sprememba amino kisline	MAF CEU
<i>AS3MT</i>	rs7085104	10	R	A > G		32
	rs3740400		I	T > G		36
	rs3740393		I	G > C		13
	rs3740390		I	C > T		7
	rs10748835		I	G > A		38
	rs1046778		R	T > C		27
<i>ALAD</i>	rs1805313	9	I	A > G		28
	rs1800435		E	C > G	Lys > Asn	7
<i>APOE</i>	rs7412	19	E	C > T	Arg > Cys	6
	rs429358		E	T > C	Cys > Arg	15
	rs405509		I	G > T		49
<i>PON1</i>	rs662	7	E	T > C	Gln > Arg	30
<i>UGT2B15</i>	rs1902023	4	E	A > C	Tyr > Asp	49
<i>VDR</i>	rs2228570	12	E	G > A	Met > Thr	41
	rs739837		R	T > G		43
<i>SELENOP</i>	rs3877899	5	E	C > T	Ala > Thr	26
	rs7579		R	C > T		30
<i>GPX1</i>	rs3811699	3	I	T > C		27
<i>GPX3</i>	rs8177431	5	I	A > G		36
<i>GPX4</i>	rs713041	19	I	C > T		46

*E – exon, R-regulatorna regija, I – intron; MAF: frekvence minorne alela (ang. Minor Allele Frequency) izbranih SNP-jev za populacijo evropskega izvora glede na dbSNP,NCBI (CEU, prebivalci Utaha s severnim in zahodnim evropskim potomstvom).

Konstrukcija haplotipov: Iz 6 analiziranih SNP-jev v genu *AS3MT* smo sestavili haplotipe z uporabo programa Haploview version 4.2 (Day Lab at the Broad Institute Cambridge, USA). Identificirali smo 7 različnih haplotipov, ki s bili prisotni pri vsaj 1% populacije. V študiji smo se osredotočili na haplotip s sekvenco GGCTAC sestavljeno iz minornih alelov SNP-jev, glede na njihovo 5' – 3' lego v *AS3MT* genu: rs7085104 (G), rs3740400 (G), rs3740393 (C), rs3740390 (T), rs10748835 (A), in rs1046778 (C). Pri statističnih analizah smo populacijo razdelili v skupino nosilcev vsaj ene kopije GGCTAC haplotipa (*pAS3MThap⁺*) in skupino ne-nosilcev (*pAS3MThap⁻*).

V primeru *APOE* smo glede na kombinacije alelov dveh SNP-jev (rs7412 in rs429358) sestavili haplotipe $\epsilon 2$ (alel T in T), $\epsilon 3$ (alel T in C) ter $\epsilon 4$ (alel C in C). Pri statistični obdelavi podatkov smo se osredotočili na prisotnost haplotipa $\epsilon 4$, ter populacijo razdelili v skupino nosilcev haplotipa ($\epsilon 4+$: kombinacije $\epsilon 3/\epsilon 4$ ali $\epsilon 4/\epsilon 4$) ter skupino ne-nosilcev ($\epsilon 4-$: kombinacije $\epsilon 2/\epsilon 2$; $\epsilon 2/\epsilon 3$ ali $\epsilon 3/\epsilon 3$); pri tem smo posameznike s kombinacijo $\epsilon 2/\epsilon 4$ izključili saj ta vodi v izoformo ApoE proteina katerega funkcija je zelo podobna ApoE $\epsilon 3/\epsilon 3$ izoformi.

2.8.3 Spremljevalne biokemijske analize

2.8.3.1 Splošna krvna slika:

Krvna slika oziroma hemogram je osnovna preiskava v medicini. Z njo ugotavljamo morebitne anomalije treh glavnih celičnih vrst v krvnem obtoku: eritrocitov, levkocitov in trombocitov. Ponovljivost zagotavljamo s kontrolnim materialom proizvajalca analizatorja/reagenta, primerljivost (natančnost) analize metode preverjamo z mednarodnimi certificiranimi referenčnimi materiali. Analiza krvi odvzete v epruveto z antikoagulantom K_3EDTA poteka s standardno rutinsko analizo metodo. Analiza mora biti opravljena v roku 4 ur od odvzema.

2.8.3.2 Markerji poškodb ledvic

Beljakovine (albumin, alfa-1-mikroglobulin, imunoglobulin tipa G – IgG) v urinu določamo z nefelometrično imunokemično metodo, ki meri sipano svetlobo na kompleksu antigen-protitelo (Siemens). Ponovljivost zagotavljamo s kontrolnim materialom proizvajalca analizatorja/reagenta. Primerljivost in točnost analize metode preverjamo s pridobljenim certifikatom mednarodnih kontrol. Meja detekcije za albumin znaša okoli 2,0 mg/L in IgG okoli 3,0 mg/L, za alfa-1-mikroglobulin okoli 5,0 mg/L odvisno od uporabljenega standarda. Analiza mora biti opravljena v najkasneje v 8 dneh po odvzemu (zaradi denaturacije albumina in IgG). Vzorec urina do analize hranimo pri 2 do 8 °C.

Tubulni lizosomalni encim NAG (N-acetil-b-D-glukozaminidaza) določamo s standardno rutinsko encimsko-kinetično metodo na biokemičnem analizatorju Olympus AU400. Meja detekcije znaša 4,2 nkat/L. Ponovljivost zagotavljamo s kontrolnim materialom proizvajalca analizatorja/reagenta. Primerljivost in točnost analize metode preverjamo s pridobljenim certifikatom mednarodnih kontrol. Vzorec urina lahko do analize hranimo pri -20 °C nekaj mesecev.

2.8.3.3 Kreatinin

Kreatinin v vzorcih določamo s standardno rutinsko metodo (kompenzirana Jaffé-jeva reakcija) na biokemičnem analizatorju Dimension (Siemens). Ponovljivost zagotavljamo s kontrolnim materialom proizvajalca analizatorja/reagenta. Primerljivost in točnost analize metode preverjamo s pridobljenim certifikatom mednarodnih kontrol. Meja detekcije znaša okoli 0,2 µg/mL. Vzorec urina lahko do analize hranimo pri -20 °C nekaj mesecev.

2.8.3.4 *Specifična gostota*

Specifično gostoto (SG) smo določili z refraktometrom PAL-10S (Atago[®], Japonska). Meja detekcije je 1,35 mg/dL, območje merjenja 1,000–1,060.

2.8.3.5 *U-8OHdG*

8-hidroksidegvanozin (8-OHdG) je označevalec oksidativne poškodbe DNA. Encimski imunski test (ELISA) je najbolj razširjena imunokemijska tehnika za določanje 8-OHdG v urinu. Obarvan kompleks določamo spektrofotometrično. Ponovljivost zagotavljamo s kontrolnim materialom proizvajalca analizatorja/reagenta. Meja detekcije znaša okoli 0,2 µg/L.

2.8.3.6 *Holesterol in trigliceridi v serumu*

Holesterol in trigliceride smo določali s standardnima encimskima kolorimetričnima testoma. Ponovljivost zagotavljamo s kontrolnim materialom proizvajalca reagentov. Primerljivost in točnost analizne metode preverjamo s pridobljenim certifikatom mednarodnih kontrol. Meja detekcije je za holesterol 0,08 mmol/L in za trigliceride 0,05 mmol/L.

2.9 **Shranjevanje podatkov**

2.9.1 **Protokol shranjevanja podatkov**

Podatke smo za potrebe zbiranja podatkov, kemijskih ter statističnih analiz pseudonimizirali, tako da smo vzorčnim osebam dodelili ustrezno kodo glede na čas in kraj vzorčenja. Pseudonimizirati podatke pomeni, da osebne podatke nadomestimo z ustrezno kodo in tako zakrijemo njene osebne podatke. Za razkritje osebnih podatkov pa je potem potreben poseben ključ/baza, ki je dostopen le določenim osebam v določenih situacijah.

S pomočjo kod smo kasneje lahko povezovali podatke ankete, demografske podatke ter podatke meritev HBM, ki smo jih potrebovali pri analizah. Prav tako nam koda omogoča, da se v primeru izpostavljenosti lahko ponovno poišče osebo in se jih predstavi tveganje ter varnostne ukrepe.

Podatki ankete, demografski podatki ter podatki meritev HBM so se prenesli v psevdonimizirani obliki na NIJZ, kjer se hranijo v skladu z varstvom osebnih podatkov (kot občutljive osebne podatke). Podatke za posamezne osebe smo združili s pomočjo kod in tako ustvarili enotno bazo (»master bazo«), tako za prvo kot drugo fazo vzorčenja. Te podatke smo za potrebe analiz pretvorili v anonimizirane podatke, kjer smo podatkom enotne baze odstranili tudi dodeljene kode. Povezava rezultatov HBM s podatki osebe (osebni podatki) je omogočena le v primeru obveščanja oseb.

2.10 **Statistična analiza podatkov**

2.10.1 **Postopek priprave podatkov, analiza in prikaz podatkov**

Podatke smo uredili s pomočjo programa Excel. Podatke za različne meritev kemikalij ter podatke anketnega vprašalnika smo urejali v ločenih datotekah/bazah. Preverili smo ekstremne vrednosti ter določili vrednosti, ki so bile manjše od MZ ali MK. Pri kovinah (Cu, Zn, As, Se, Cd, Hg ter Pb) smo za vrednosti nižje od MZ uporabili izmerjene vrednosti pri analizi PAH-ov pa smo pri vrednosti manjših od MZ uporabili vrednosti MZ (in tako ohranili maksimalne vrednosti). Podatke smo prenesli v program SPSS. Podatke urejenih baz za različne kemikalije ter podatke anketnega vprašalnika smo združili v enotno bazo s pomočjo funkcij »DataLinkage« preko skupnega identifikatorja, ki smo ga pridobili tekom vzorčenja. Tako smo omogočili pregled nad meritvami za posamezno osebo za različne vrednosti kemikalij ter vplivnimi dejavniki, ki so bili pridobljeni s pomočjo ankete.

Podatke za meritve v urinu smo izračunali tudi normalizirane na vrednosti na vsebnost kreatinina v urinu ter na specifično gostoto urina.

Normirane vrednosti na kreatinin smo izračunali kot:

$$Kem \text{ (enota na kreatinin)} = Kem \text{ (enota)} / U\text{-Kre (g/L)}$$

Kem je vrednost kemikalije v urinu, U-Kre je izmerjena vrednost kreatinina v urinu v (g/L)

Normalizirane vrednosti na specifično gostoto smo izračunali ločeno po spolu kot:

$$Kem \text{ (enota na specifično gostoto)} = Kem \text{ (enota)} * (\text{mean}(U\text{-SG}(sp)) - 1) / (U\text{-SG}(os) - 1)$$

Kem je vrednost kemikalije v urinu, U-SG je izmerjena specifična gostota urina, sp je spol osebe (kjer smo ločeno računali povprečno vrednost specifične gostote urina za moški in ženski spol), os-oseba, U-SG(os) je izmerjena specifična gostota urina pri osebi.

Pri podatkih smo preverjali in prikazali (normalnost) porazdelitev s histogrami in krivuljo. Pri izračunu parametrov smo za podatke, ki niso bili normalno porazdeljeni, uporabili log-transformacijo in tako dosegli log-normalno porazdelitev (tako za kovine Cu, Zn, As, Se, Cd, Hg ter Pb kot tudi za vse PAH-e, bisfenole, parabene, triklozan ter glifosat). Transformirane podatke smo uporabili za izračun vrednosti parametrov humanega biomonitoringa. Pri analizi/izračunih smo uporabili statistični program SPSS verzija 21 (IBM SPSS). Izračunali smo srednje vrednosti (aritmetično sredino, geometrijsko sredino, mediano), odklone (minimum, maksimum, standardni odklon) ter izbrane percentile (P5, P10, P50, P90, P95) ter pripadajoče intervale zaupanja za izbrane percentile (P90 ter P95). Podatke smo prikazali v tabeli. Podatke smo prikazali tudi z box-plot grafi. Parametre smo izračunali tudi po spolu (za moške in ženske), po starostnih skupinah (za otroke stare 7-10 let ter 12-15 let) ter za geografska območja (Goričko, Ravninski del in Lendavske Gorice).

Vir: IBM SPSS, IBM SPSS Statistics Algorithms, dostopno 10.10.2019 na: ftp://public.dhe.ibm.com/software/analytics/spss/documentation/statistics/25.0/en/client/Manuals/IBM_SPSS_Statistics_Algorithms.pdf

2.10.2 Metode opisne statistike

V Tabeli 7 so prikazane odvisne spremenljivke, ki smo jih vključili v analizo. Prikazane so velikosti vzorcev za Cu, Zn, As, Se, Cd, Hg ter Pb, ki smo jih pridobili iz urina, krvi, plazme ter las.

Tabela 7. Odvisne spremenljivke vključene v analizo (velikost vzorca)

Parameter	Urin* (µg/L)	Urin* (µg/g kreatinina)	Urin* (µg/g SG**)	Kri (ng/g)	Plazma (ng/g)	Lasje (ng/g)
Cu	244	244	244	227	226	244
Zn	244	244	244	227	226	244
As	244	244	244	227	226	244
Se	244	244	244	227	226	244
Cd	244	244	244	227	226	244
Hg	244	244	244	227	226	244
Pb	244	244	244	227	-	244
PAH	241	244	244	-	-	-
Bisfenoli	246	246	246	-	-	-
Parabeni	246	246	246	-	-	-
Triklozan	245	245	245	-	-	-
glifosat	246	246	246	-	-	-
AMPA	246	246	246	-	-	-

*prvo in drugo vzorčenje; **SG – specifična gostota

V Tabeli 8 so prikazane neodvisne spremenljivke, ki smo jih vključili v analizo. Kot je opisano v točki 2.2.3, sta bili starostni skupini, v katerih smo vključevali otrok 6-9 in 12-15 let. V mlajši starostni skupini je bila dejanska starost otrok ob vzorčenju 7-10 let.

Tabela 8. Neodvisne spremenljivke vključene v analizo (velikost vzorca).

Spremenljivka	Kategorija	Velikost vzorca
Geografsko območje	Goričko	131
	Ravninski del	63
	Lendavske Gorice	52
Spol otroka	Moški	119
	Ženski	127
Starostni skupini	7 do 10 let	149
	12 do 15 let	97

3 REZULTATI

3.1 Rezultati anketiranja

V Prilogi 7 so v tabelah 7.1.1.-7.1.21. zbrani podatki pridobljeni iz anketiranj »Izpostavljenost otrok in mladostnikov izbranim kemikalijam preko življenjskega okolja« za vsa opazovana območja.

3.1.1 Podatki o zdravstvenem stanju in navadah otroka

V tabeli 7.1 so navedene splošne značilnosti opazovane populacije. Povprečna starost otrok je bila 10,8 let (11,1 let pri deklicah in 10,5 let pri dečkih). Povprečna telesna višina je bila 149,3 cm (151,8 cm pri dečkih in 146,8 cm pri deklicah), najnižji so bili otroci z Ravninskega dela (142 cm). Povprečna telesna masa je bila 43,4 kg (pri dečkih 44,9 kg in 41,9 kg pri deklicah), najlažji so bili otroci iz Ravninskega dela (36 kg). Povprečni indeks telesne mase je bil 18,8 kg/m² (tako pri dečkih kot pri deklicah), najnižji je bil pri otrocih iz Ravninskega dela (17,6 kg/m²).

V tabeli 7.2 je navedeno zdravstveno stanje preučevane populacije in uživanje zdravil ali prehranskih dopolnil. Od vseh opazovanih ima 22,4% otrok zdravstveno potrjeno kronično bolezen, prirojeno okvaro, alergijo ali intoleranco na hrano. 67,9% otrok je bilo sprejetih v bolnišnico, največji delež predstavljajo (84,6%) otroci iz Lendavske Gorice. 21,5 % otrok trenutno jemlje zdravila oziroma prehranska dopolnila (od tega več dečkov – 26,4% v primerjavi z deklicami – 16,8%).

3.1.2 Značilnosti bivališča in okolice

V tabeli 7.3 so navedene značilnosti tipa bivališča in okolja, kjer se nahaja bivališče. Največ otrok (87%) prebiva v enostanovanjski hiši, na podeželju oziroma vasi (72%). 26% anketiranih ima garažo skozi katero imajo neposreden dostop v/iz hišo.

V tabeli 7.4 so vprašani opredelili, ali bivajo v bližini: predelovalne industrije, delavnice; odlagališča odpadkov; sežigalnice odpadkov; bioplinarne; poljedelstva; sadjarstva; vinogradov; vrtičkov in drugo. Odgovori so pokazali, da 98,8% vprašanih biva v bližini vrtičkov (lastni, sosedovi), 93,5% v poljedelske dejavnosti, 66,7% je navedlo drugo (igrišče, železnica,...) in 45,7% v bližini sadjarske dejavnosti ter 35,1 v bližini vinograda.

V tabeli 7.5 so opredeljene značilnosti bivališča in okolice: sežiganje odpadkov v soseščini; uporaba žara na oglje ali drva; uporaba dodatne peči ali grelce na katere se kuri z lesom ali premogom. Od vprašanih 22% uporablja žar na oglje ali drva in 23% anketiranih uporablja za ogrevanje še dodatne grelce oziroma peči na drva oziroma premog.

V tabeli 7.6 so navedene značilnosti zgradbe v kateri biva preučevana populacija (starost, uporaba materialov, prenova). Večinoma (v 47%) so bile stavbe zgrajene med leti 1951 in 1990. Azbest je bil kot gradbeni material uporabljen pri 35% vprašanih. Pri 59% anketiranih, je bila hiša / stanovanje od izgradnje obnovljena/o, 65% navaja, da v zadnjih dveh letih.

V tabeli 7.7 so opisani materiali, ki ga uporabljajo za talne obloge v zgradbi, kjer biva preučevana populacija. Največ anketirancev ima v hiši / stanovanju keramične ali kamnite ploščice (98%).

V tabeli 7.8 je navedena opremljenost prostorov v zgradbi, kjer biva preučevana populacija. Večina anketiranih oseb 98% ima v hiši / stanovanju oblazinjeno pohištvo, 67% ima zavese in le manjši delež (3%) tapete iz umetnih mas.

V tabeli 7.9 je predstavljen način in pogostost čiščenja hiše / stanovanja, kjer biva preučevana populacija. Anketirani pretežno (81,3%) izvajajo tako mokro kot suho čiščenje stanovanja. Večina vprašanih (28,9%), ki čisti večkrat na teden za čiščenje uporablja sesalec z vodnim ali HEPA filtrom.

18,7% vprašanih čisti tla z vodo večkrat na teden, 14,6% tla večkrat na teden čisti z detergentom, 45,1% pa 1x na teden. 14,6 % večkrat na teden pometajo, 33,7% pa jih navaja, da pometajo vsak dan. 21,5 % vprašanih večkrat na teden obriše prah z mokro krpo 57,3% pa jih to naredi 1x na teden. S suho krpo prah večkrat na teden briše 15,9% vprašanih.

V *tabeli 7.10* so opisane navade v hiši / stanovanju, kjer biva proučevana populacija. Večina anketiranih (97%) se doma preobuva in uporablja predpražnike (93%). Malo anketiranih pa ima v stanovanju psa ali mačka (32 %).

V *tabeli 7.11* je opredeljen način prezračevanja v hiši / stanovanju, kjer biva proučevana populacija. Pri načinu prezračevanja doma prevladuje naravni način prezračevanja z odpiranjem oken (91 %), 7 % anketirancev uporablja tako naravni kot mehanski način prezračevanja. 80 % vprašanih pri kuhanju uporablja kuhinjsko napo.

3.1.3 Potencialna izpostavljenost

V *tabeli 7.12* je predstavljeno ustno zdravje otrok. Pri 3,3% otrocih so zobozdravniki že odstranili amalgamsko zalivko. 60,2% vprašanih navaja, da imajo njihovi otroci bele zobne zalivke, 56,8% navaja, da so otroci belo zalivko dobili v zadnjem letu. Prav tako 15,4% otrok žveči žvečilni gumi vsak dan.

V *tabeli 7.13* je opredeljena potencialna izpostavljenost zaradi razbitja naprave, ki vsebuje živo srebro; energijsko varčne sijalke in ukvarjanjem s spajkanjem kovin. 22% vprašanih navaja, da se je doma razbil termometer oziroma katera druga naprava, ki vsebuje živo srebro, 12,6% pa, da se je doma razbila energetska varčna sijalka. Pri 15,4% vprašanih se doma kdo redno ukvarja s spajkanjem kovin.

V *tabeli 7.14* so predstavljene navade zaradi uporabe kozmetičnih proizvodov. Rezultati so pokazali, da 40,7% vprašanih staršev navaja, da njihov otrok uporablja ličila (šminka, lip-gloss, puder), 14,2% otrok uporablja ličila za oči, 37,4% balzam za lase, 42,3% izdelke za oblikovanje pričeske, 87,0% jih uporablja losjon za telo / kreme (npr. kreme za roke, krema za sončenje), 56,5% dišave, parfume, toaletne vodice itd., 43,5% uporablja dezodorante, 4,9% olja za masažo in 38,6% otrok uporablja lak za nohte.

V *tabeli 7.15* je naveden čas, ki ga otroci preživijo v avtu. 50% vprašanih navaja, da njihovi otroci preživijo manj kot 30 min v avtomobilu, 35% pa navaja, da preživijo v avtomobilu od 30 min do 1h.

V *tabeli 7.16* je opredeljena potencialna izpostavljenost zaradi igre z igračami, ki so narejene iz gumi podobne plastike ali pa jo vsebujejo. Rezultati kažejo, da je 63,8% vprašanih staršev navedlo, da se njihov otrok v zadnjem tednu ni igral z igračami, ki so narejene iz gumi podobne plastike, 11,4% pa jih navaja, da so se igrali vsak dan.

V *tabeli 7.17* je navedena potencialna izpostavljenost zaradi uporabe sredstev za zatiranje škodljivcev. 71,1% vprašanih navaja, da pri delu doma oziroma v njihovi okolici uporabljajo sredstva za zatiranje škodljivcev in razkužila, 79,7% pa navaja uporabo repelentov oziroma sredstva proti mrčesu.

3.1.4 Socio-demografski podatki

V *tabeli 7.18* je opredeljena stopnja dosežene izobrazbe staršev otrok. Najpogostejša izobrazba, ki so jo dosegle matere otrok je srednješolska izobrazba (31%), prav tako je srednješolska izobrazba najpogostejša pri očetih (41,2%) medtem, ko ima 53,4% mater in 31,3% očetov višjo kot, oziroma enako višješolski izobrazbi.

V tabeli 7.19 je navedena zaposlitev staršev otrok. Tako matere kot očetje so najpogosteje zaposlene poln delovni čas (78,5% in 95,1%).

V tabeli 7.20 je opredeljen poklic staršev otrok. Najpogostejši poklic, ki ga opravljajo matere je pisarniški poklic (31,1%), očetje pa najpogosteje opravljajo tehnični poklic (31,4%).

V tabeli 7.21 so opisane navade glede službenih delovnih oblačil staršev. Rezultati so pokazali, da 66,4% mater in 38% očetov navaja, da ne uporabljajo delovne obleke, 20,2% mater in 48% očetov pa obleko perejo doma.

3.1.5 Prehranska anamneza

V tabeli 7.22 je predstavljena pogostost uživanja rib pri otrocih. 74% vprašanih staršev navaja, da otroci ribe uživajo več kot 3x mesečno. Nekoliko večji delež dečkov (79,3%) v primerjavi z deklicami (68,8%). Glede na starostne razrede in geografsko območje so razlike med opazovanimi skupinami relativno majhne.

V tabeli 7.23 sta opredeljeni uporaba vode za pitje in kuhanje. Največji delež vprašanih za pitje in kuhanje uporablja vodo iz večjega javnega vodovoda (68,7% in 88,6%). Vodo za pitje komercialnega dobavitelja uporablja 19,9% vprašanih. Kapnico pa za pitje in kuhanje uporablja 6,5 % oziroma 6,1% vprašanih.

3.1.6 Izpostavljenost živemu srebru preko amalgamskih zalivk

V tabeli 7.24 je navedena uporaba amalgamskih zalivk pri otrocih. 9,3% vprašanih staršev navaja, da imajo njihovi otroci vsaj eno amalgamsko zalivko. Amalgamsko zalivko so odstranili pri 3,3% proučevanih otrok.

3.1.7 Izpostavljenost pasivnemu kajenju

V tabeli 7.25 je navedena izpostavljenost pasivnemu kajenju. 22% vprašanih poroča o izpostavljenosti cigaretnemu dimu zaradi pasivnega kajenja. Glede na geografsko območje je največji delež proučevanih otrok izpostavljenih pasivnemu kajenju v Lendavskih Goricah (30,8%), sledi Goričko (23,7%) in najmanj Ravninski del (11,1%).

3.2 Potencialno strupene kovine in drugi kemijski elementi

Podpoglavja so razdeljena tako, da so najprej rezultati za toksične elemente: živo srebro, kadmij, svinec in arzen. Nato pa sledijo poglavja za elemente, ki so esencialni za človeka: selen, baker in cink.

3.2.1 Živo srebro

Živo srebro (Hg) spada med najbolj strupene kovine (ATSDR 2013 Hazardous Substance Priority List), njegova strupenost pa je odvisna od kemijskih oblik Hg in načina vnosa v organizem. V naravi se Hg nahaja predvsem v treh oblikah: elementarni Hg (Hg^0), anorganski Hg (Hg^{2+}) in organski Hg (monometil živo srebro, ki ga na kratko označujemo kot MeHg). Glavna pot izpostavitve elementarnemu Hg je preko vdihanega zraka - v zraku je Hg prisoten v nekaterih zaprtih prostorih, kjer so ga v preteklosti uporabljali ali pa je prišlo do nenamenskih nesreč, kot je razbitje termometra, ipd. Pri ljudeh z amalgamskimi zalivkam prihaja do sproščanja elementarnega Hg v ustno votlino in direktnega vnosa le-tega v krvni obtok. Splošno znano je, da so amalgamske zalivke glavni vir nepoklicne izpostavljenosti elementnemu Hg. Poglavitna pot vnosa je torej z inhalacijo, kjer se v pljučih absorbira 80 % vdihanega Hg^0 . V krvi se zadrži okrog 10 % Hg^0 , ki se absorbira v pljučih, vendar pa je delež absorbiranega Hg^0 odvisen od stopnje izpostavljenosti. Hg^0 dobro prehaja biološke membrane in prehaja v tkiva, kjer se oksidira v dvovalentno obliko. Tarčna organa za Hg^0 in Hg^{2+} sta centralni živčni sistem, ledvica in žleze z notranjim izločanjem (Horvat in sod., 2012).

Za razliko od elementarnega Hg, pa je glavna pot izpostavljenosti anorganskemu Hg in MeHg prehrana. Anorganski Hg^{2+} se v glavnem izloči iz organizma, medtem ko je absorpcija MeHg skoraj 100 %. MeHg z lahkoto prehaja biološke membrane, zato predstavlja najbolj strupeno obliko Hg. Poškoduje lahko predvsem razvoj centralnega živčnega sistema na najbolj občutljivi stopnji razvoja. Splošna populacija je MeHg izpostavljena preko uživanja rib. Le-te namreč MeHg, ki v naravi nastaja iz anorganskega Hg akumulirajo in biomagnificirajo, zato so zlasti problematične ribe na vrhu prehranjevalnih verig (npr. tuna, mečarica, morski pes, ščuke, itd.) (Horvat in sod., 2012).

Pri ljudeh uporabljamo različne kazalnike za oceno izpostavljenosti različnim oblikam Hg. Koncentracija v urinu in plazmi pomeni skupno živo srebro (elementarno in organsko), vendar je v glavnem odraz izpostavljenosti Hg^0 , medtem ko koncentracija v rdečih krvničkah predstavlja organsko živo srebro oz. MeHg. Lasje predstavljajo dober matriks za oceno izpostavljenosti MeHg.

Geometrijska sredina (GM) za **živo srebro v krvi** pri preiskovani populaciji (N=227) otrok starih 7 – 15 let je 0,43 ng/g krvi, 95. percentil 1,43 ng/g krvi, minimum <MZ in maksimum 3,86 ng/g krvi (Tabela 9, Slika 1). Nihče izmed vključenih otrok (v obeh starostnih skupinah) ni presegel HBM I vrednosti 5 $\mu\text{g/L}$ Hg v krvi, ki je meja, pod katero po trenutno dostopnih podatkih ni pričakovati negativnih učinkov Hg na zdravje otrok in odraslih. Mejo je postavila nemška komisija za humani biomonitoring (Schulz in sod., 2011). Vsebnost živega srebra se je razlikovala med območji, najvišja je bila v ravninskem delu Prekmurja. Med spoloma so bile razlike minimalne, razlike pa so bile nekoliko bolj izražene glede na starostno skupino in sicer je bila geometrijska sredina višja pri mlajši starostni skupini (Tabela 9, Slika 1).

Na vsebnost živega srebra v krvi je vplivala pogostnost uživanja morske hrane. Pričakovano s pogostostjo uživanja morske hrane vsebnost živega srebra v krvi raste. Uživanje svežih rib manj kot 3 krat mesečno GM 0,33 ng/g krvi (95% IZ 0,28 - 0,39 ng/g krvi), več kot 3 krat mesečno GM 0,47 ng/g krvi (95% IZ 0,43 - 0,52 ng/g krvi). Prisotnost amalgamskih zalivk je vplivala na

koncentracijo živega srebra v krvi in sicer je bila koncentracija pri otrocih brez amalgamskih zalivk nižja kot pri tistih z njimi. Geometrijska sredina pri prvih je bila 0,42 ng/g krvi (95% IZ 0,39 - 0,47 ng/g krvi), pri tistih z amalgamskimi zalivkami pa 0,53 ng/g krvi (95% IZ 0,40 - 0,72 ng/g krvi) (Tabela 10).

Primerjava rezultatov za **živo srebro v krvi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Ameriška nacionalna raziskava US NHANES v letih 2015-2016, N=1048, starost 6-11 let, mediana=0,31 µg/L, 95. percentil=1,40 µg/L. Starost 12-19 let N=565, GM=0,40 µg/L, 95. percentil=1,89 µg/L. (CDC, 2018)
- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=139, GM=0,48 ng/g, 95. percentil= 2,59 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Geometrijska sredina za **živo srebro v plazmi** pri preiskovani populaciji (N=227) otrok starih 7 – 15 let je 0,33 ng/g plazme, 95. percentil 1,04 ng/g plazme, minimum <MZ in maksimum 1,73 ng/g plazme (Tabela 15, Slika 5). Vsebnost živega srebra je bila nekoliko nižja na območju Goriškega. Med spoloma in glede na starostne skupine so razlike minimalne (Tabela 15, Slika 5).

Uživanje morske hrane ni vplivalo na koncentracijo živega srebra v plazmi. Je pa na koncentracijo vplivala prisotnost amalgamskih zalivk in sicer je bila geometrijska sredina ob odsotnosti le-teh bistveno nižja kot ob njihovi prisotnosti. Otroci brez amalgamskih zalivk so imeli GM 0,32 ng/g plazme (95% IZ 0,29 – 0,35 ng/g plazme), tisti z amalgamskimi zalivkami pa 0,44 (0,35 – 0,56 ng/g plazme) (Tabela 16).

Primerjava rezultatov za **živo srebro v plazmi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=139, GM=0.11 ng/g, 95. percentil= 0.51 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Geometrijska sredina za **živo srebro v laseh** pri preiskovani populaciji (N=244) otrok starih 7 – 15 let je 107 ng/g krvi, 95. percentil 431 ng/g krvi, minimum 10 ng/g, maksimum 1225 ng/g. Vsebnost živega srebra v laseh se je razlikovala med območji, bistveno višja je bila na območju Lendavskih goric (Tabela 11, Slika 2). Med spoloma so bile razlike minimalne, razlike pa so bile nekoliko bolj izražene glede na starostne skupine in sicer je bila GM višja pri mlajši starostni skupini (Tabela 11, Slika 2).

Na vsebnost živega srebra v laseh je vplivala pogostnost uživanja morske hrane. Pričakovano s pogostostjo uživanja morske hrane (rib) vsebnost živega srebra v laseh raste. Uživanje rib in ribjih izdelkov manj kot 3 krat mesečno GM 68 ng/g (95% IZ 55 – 82 ng/g), več kot 3 krat mesečno GM 126 ng/g (95% IZ 111 – 142 ng/g). Prisotnost amalgamskih zalivk je vplivala na koncentracijo živega srebra v laseh in sicer je bila koncentracija pri otrocih in mladostnikih brez amalgamskih zalivk nižja kot pri tistih z njimi. Geometrijska sredina pri prvih je bila 93 ng/g (95% IZ 60 - 143 ng/g), pri tistih z amalgamskimi zalivkami pa 108 ng/g (95% IZ 97 – 121 ng/g) (Tabela 12).

Primerjava rezultatov za **živo srebro v laseh** z rezultati nekaterih drugih študij:

- EU (17 držav), v letu 2012, starost 6-11 let, N=1836, GM=0,145 µg/g, 90. percentil = 0,800 µg/g (študija DEMOCOPHES; Den Hond in sod., 2014).
- US NHANES (1999-2000) starost 1-5 let: N=838, GM=0,12 µg/g, 90. percentil = 0,41 µg/g (McDowell in sod., 2004).
- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=179, GM=155 ng/g, 95. percentil = 744 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Geometrijska sredina za **živo srebro v urinu** pri preiskovani populaciji (N=244) otrok je 0,19 µg/g kreatinina pri prvem vzorčenju (minimum <MZ in maksimum 3,97) in 0,16 µg/g kreatinina pri drugem vzorčenju (minimum <MZ in maksimum 4,13), vrednost 95. percentila je bila pri prvem vzorčenju 0,74 µg/g kreatinina in pri drugem vzorčenju 1,04 µg/g kreatinina (Tabela 13, Sliki 3 in 4).

Vsebnost živega srebra v urinu se ni pomembno razlikovala med območji, le pri drugem vzorčenju je bila nekoliko višja na območju Goriškega v primerjavi z ostalima območjema. Razlika je med prvim in drugim merjenjem, pri drugem so vrednosti povsod nižje (Tabela 13).

Prav tako je na vsebnost živega srebra v urinu (µg/g kreatinina) vplivala pogostost uživanja morske hrane (rib), in sicer bolj pomembno pri drugem vzorčenju, kjer so bile koncentracije nižje kot pri prvem vzorčenju. S količino zaužite morske hrane (rib) je koncentracija živega srebra v urinu (µg/g kreatinina) dosegla višje vrednosti (Tabela 14):

- Prvo vzorčenje: pri uživanju morske hrane (rib) manj kot 3 krat mesečno je GM 0,17µg/g kreatinina (95% IZ 0,14 – 0,20 µg/g kreatinina), pri uživanju morske hrane več kot 3 krat mesečno je geometrijska sredina 0,20 µg/g kreatinina (95% IZ 0,18 – 0,22 µg/g kreatinina).
- Drugo vzorčenje: pri uživanju morske hrane (rib) manj kot 3 krat mesečno je GM 0,12 (95% IZ 0,10 – 0,16 µg/g kreatinina), pri uživanju morske hrane (rib) več kot 3 krat mesečno je geometrijska sredina 0,18 µg/g kreatinina (95% IZ 0,15 – 0,20 µg/g kreatinina).

Tudi s prisotnostjo amalgamskih zalivk je koncentracija živega srebra v urinu (µg/g kreatinina) dosegla višje vrednosti, pomembno višje so bile pri prvem vzorčenju.

- Prvo vzorčenje: ni amalgamske zalivke 0,18 µg/g kreatinina (95% IZ 0,16 – 0,20 µg/g kreatinina); je amalgamska zalivka 0,31 µg/g kreatinina (95% IZ 0,20 - 0,47 µg/g kreatinina).
- Drugo vzorčenje: ni amalgamske zalivke 0,16 µg/g kreatinina (0,14 – 0,18 µg/g kreatinina); je amalgamska zalivka 0,20 µg/g kreatinina (0,12 – 0,34 µg/g kreatinina).

Primerjava rezultatov za **živo srebro v urinu** z rezultati nekaterih drugih študij:

- US NHANES v letih 2011-2012, starost 6 do 11 let, N=401, GM=0,241 µg/L, 95. percentil=1,37 µg/L; starost 12-19 let, N=390, GM=0,257 µg/L, 95. percentil=1,31 µg/L. (CDC 2018)
- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=175, GM=0,08 ng/mL, 95. percentil= 0,96 ng/mL (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Tabela 9. Vsebnosti živega srebra v krvi (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

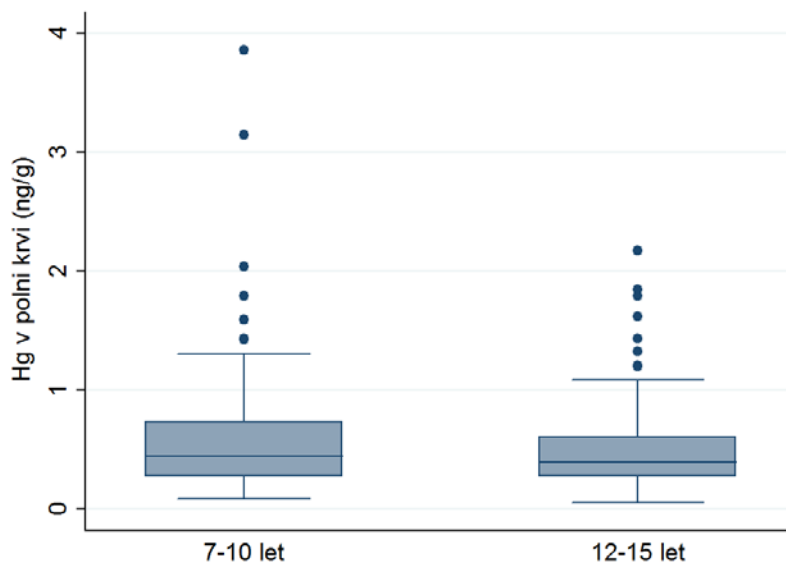
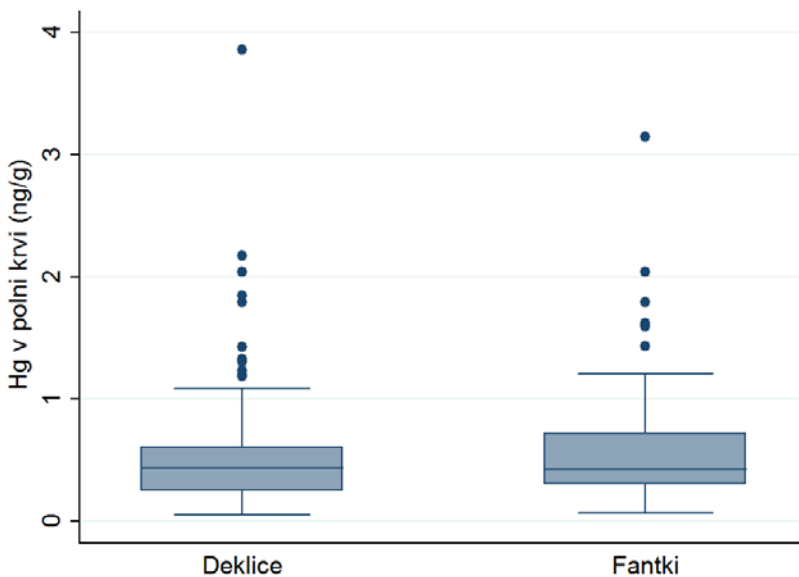
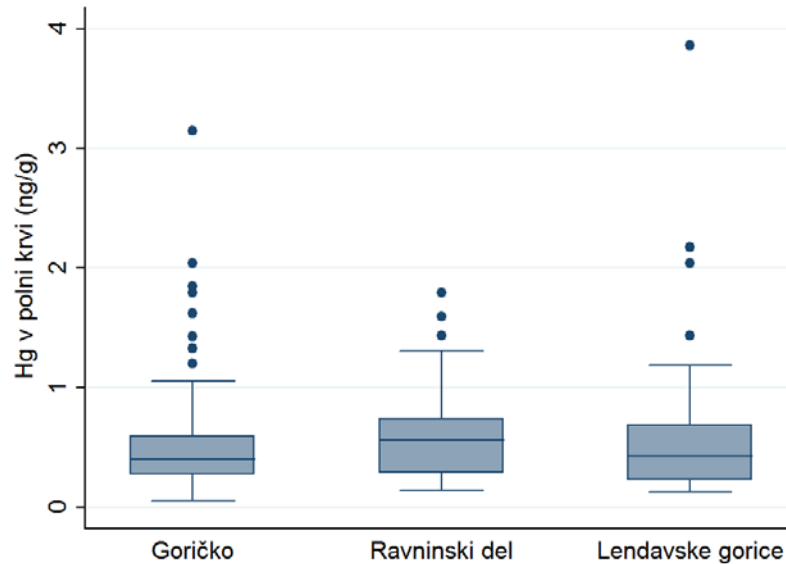
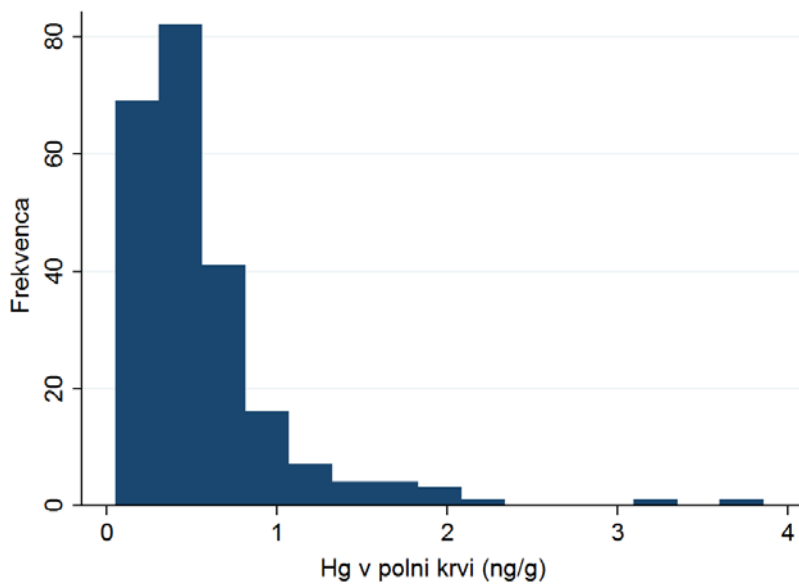
		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		227	0,43	0,43	<MZ	3,86	0,15	0,18	1,05	1,43
Geografsko območje	Goričko	120	0,41	0,40	<MZ	3,15	0,13	0,18	0,89	1,38
	Ravninski del	60	0,48	0,56	0,14	1,79	0,16	0,18	1,15	1,36
	Lendavske Gorice	47	0,42	0,42	0,13	3,86	0,17	0,19	1,19	2,04
Spol otroka	Moški	112	0,44	0,42	0,07	3,15	0,13	0,18	1,00	1,43
	Ženski	115	0,43	0,43	<MZ	3,86	0,16	0,19	1,09	1,43
Starostna skupina	7-10 let	135	0,45	0,45	0,09	3,86	0,17	0,19	1,04	1,43
	12-15 let	92	0,40	0,39	<MZ	2,17	0,13	0,17	1,06	1,43

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. percentil – mediana, MZ – meja zaznavnosti

Tabela 10. Vsebnosti živega srebra v krvi (ng/g) glede na pogostost uživanja rib, morskih sadežev in ribjih izdelkov ter glede na amalgamske zobne zalivke.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		229	0,43 (0,40-0,48)	0,43 (0,39-0,47)	<MZ	3,86	0,15	0,18 (0,17-0,20)	1,05 (0,89-1,30)	1,43 (1,20-1,85)
Ribe in ribji izdelki	Manj kot 3 x mesečno	55	0,33 (0,28-0,39)	0,35 (0,26-0,42)	0,10	1,85	0,15	0,17 (0,15-0,19)	0,66 (0,53-1,79)	1,21 (0,85-1,85)
	Več kot 3 x mesečno	174	0,47 (0,43-0,52)	0,46 (0,43-0,56)	<MZ	3,86	0,14	0,19 (0,17-0,25)	1,09 (0,90-1,43)	1,43 (1,20-2,04)
Amalgamske zalivke	Ne	207	0,42 (0,39-0,47)	0,43 (0,39-0,48)	<MZ	3,15	0,15	0,18 (0,17-0,20)	1,05 (0,88-1,33)	1,43 (1,20-1,85)
	Da	22	0,53 (0,40-0,72)	0,45 (0,38-0,83)	0,23	3,86	0,24	0,25 (0,23-0,38)	1,19 (0,83-3,86)	1,30 (0,88-3,86)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja; MZ – meja zaznavnosti



Slika 1: Porazdelitev vsebnosti živega srebra v krvi (ng/g) ter vsebnost glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 11. Vsebnosti **živega srebra v laseh** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

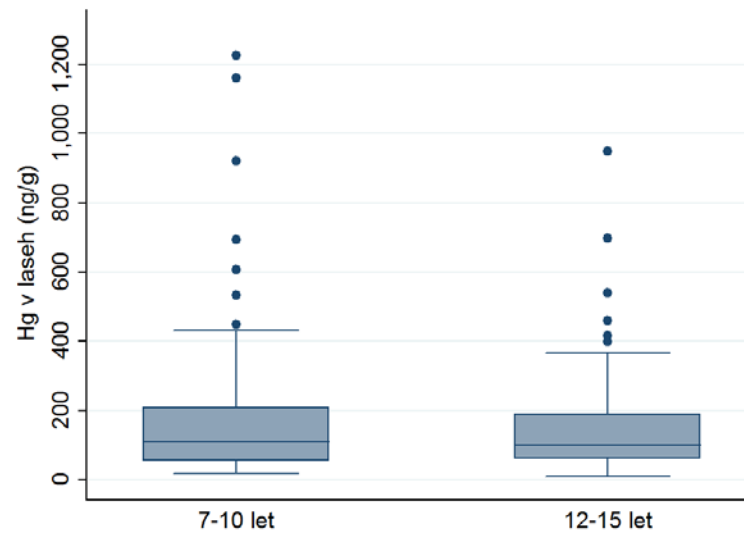
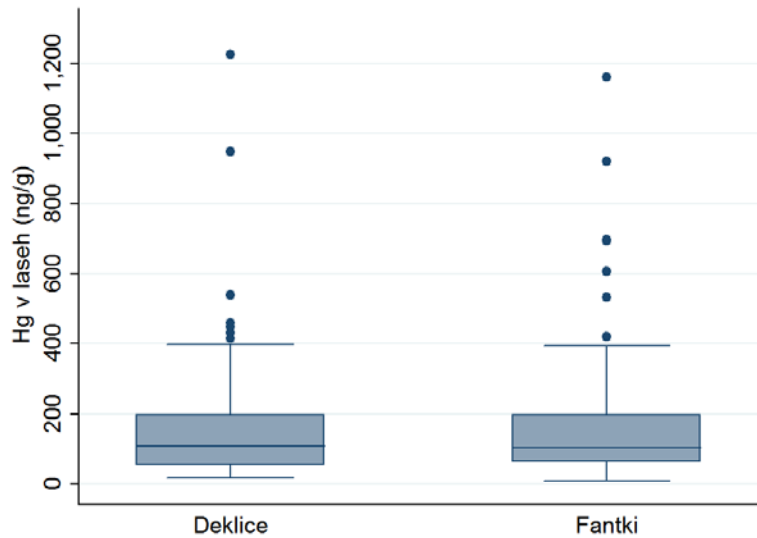
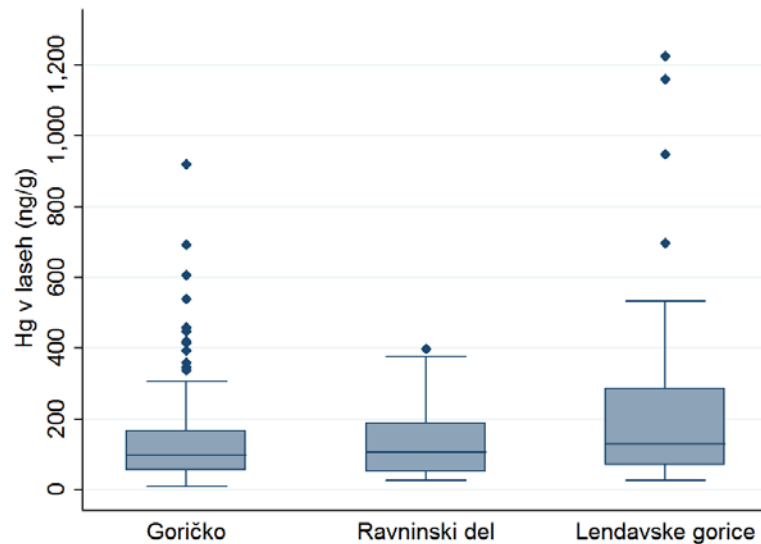
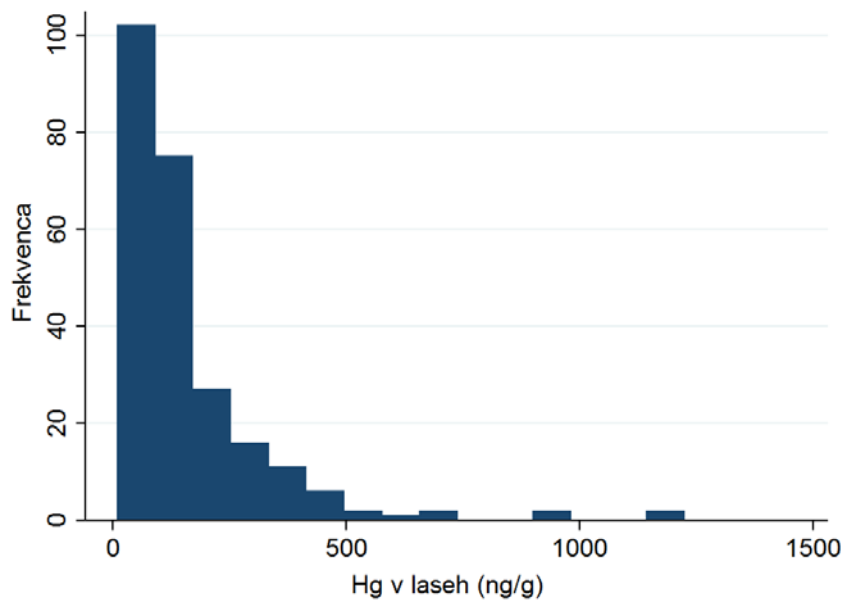
		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		244	107	108	10	1225	26	35	346	431
Geografsko območje	Goričko	130	97,6	99	10	920	21	27	295	420
	Ravninski del	63	102	108	27	399	32	37	268	311
	Lendavske Gorice	51	145	131	26	1225	35	48	449	949
Spol otroka	Moški	119	108	105	10	1160	26	31	361	533
	Ženski	125	107	109	17	1225	27	35	346	431
Starostno območje	7-10 let	149	111	109	17	1225	27	34	361	448
	12-15 let	95	101	99	10	949	26	35	269	417

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

Tabela 12. Vsebnosti **živega srebra v laseh** (ng/g) glede na pogostost uživanja rib, morskih sadežev in ribjih izdelkov ter glede na amalgamske zobne zalivke.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95
SKUPAJ		246	107 (95,9-119)	108 (96,0-123)	10,0	1225	26,0	34,8 (28,0-41,0)	346 (272-395)	431 (371-607)
Ribe in ribji izdelki	Manj kot 3 x mesečno	64	67,3 (55,1-82,2)	59,5 (52,0-94,0)	10,0	540	19,0	26,0 (19,0-34,8)	167 (136-269)	254 (156-540)
	Več kot 3 x mesečno	182	126 (111-142)	122 (107-140)	15,0	1225	31,0	41,0 (35,0-52,4)	366 (300-431)	449 (378-699)
Amalgamske zalivke	Ne	223	108 (96,9-121)	108 (96-130)	10,0	1160	26,0	35,0 (28,0-43,0)	339 (272-394)	420 (361-607)
	Da	23	93,1 (60,5-143)	88,0 (54,0-139)	15,0	1225	30,0	34,0 (15,0-54,0)	395 (146-1225)	431 (167-1225)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja



Slika 2: Porazdelitev vsebnosti živega srebra v lasih (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 13. Vsebnosti **živega srebra v urinu** ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

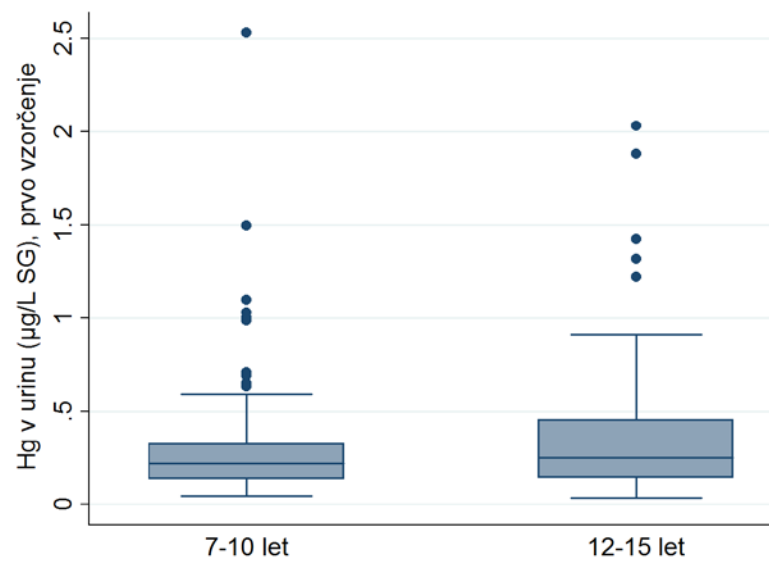
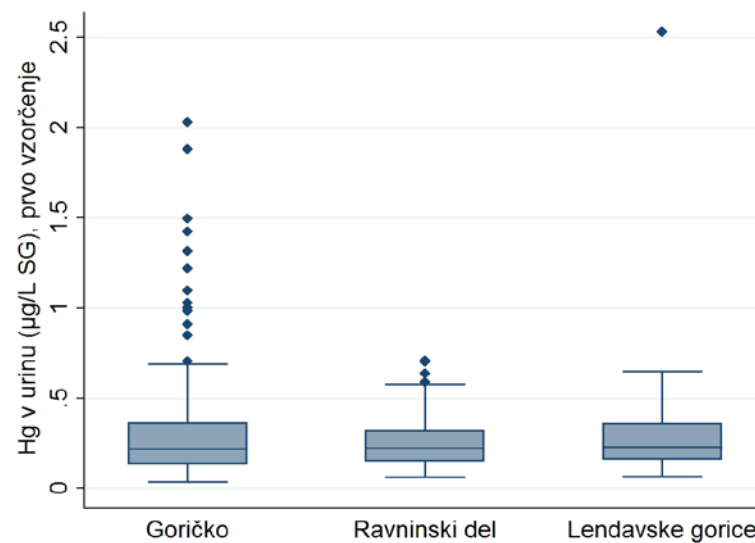
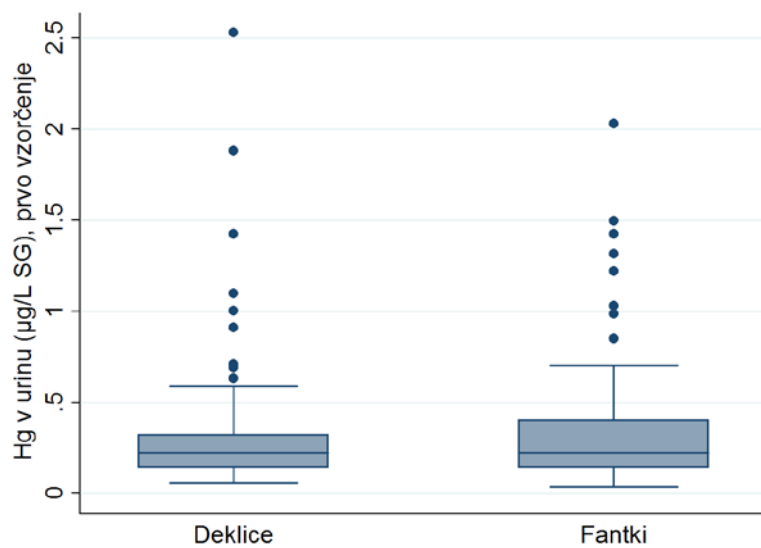
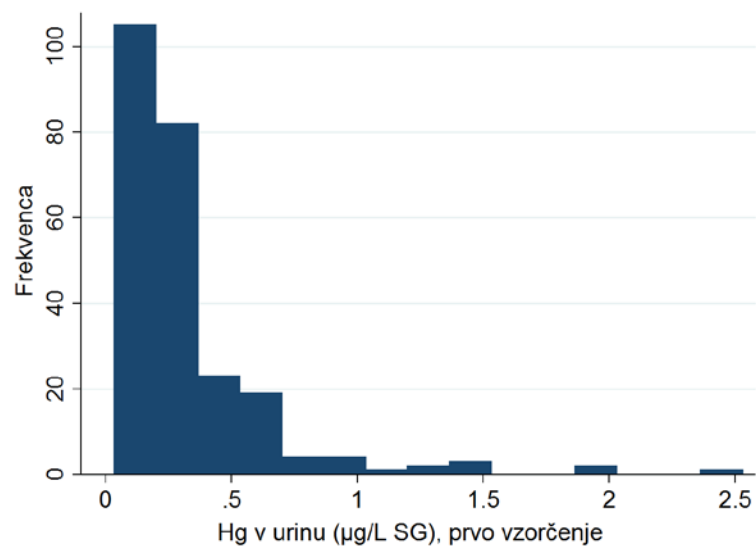
	N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95	
PRVO VZORČENJE										
SKUPAJ		244	0,19	0,18	<MZ	3,97	0,06	0,07	0,49	0,74
Geografsko območje	Goričko	130	0,18	0,16	<MZ	1,58	0,05	0,06	0,55	0,86
	Ravninski del	63	0,20	0,19	0,05	0,69	0,07	0,09	0,47	0,61
	Lendavske Gorice	51	0,22	0,20	0,05	3,97	0,07	0,10	0,41	0,88
Spol otroka	Fantki	119	0,20	0,19	<MZ	1,58	0,06	0,07	0,62	0,86
	Deklice	125	0,18	0,18	<MZ	3,97	0,06	0,07	0,39	0,59
Starostna skupina	7-10 let	149	0,21	0,20	0,05	3,97	0,07	0,08	0,51	0,76
	12-15 let	95	0,17	0,16	<MZ	1,33	0,05	0,06	0,45	0,74
DRUGO VZORČENJE										
SKUPAJ		224	0,16	0,15	<MZ	4,13	0,05	0,05	0,51	1,04
Geografsko območje	Goričko	122	0,18	0,18	<MZ	3,73	0,05	0,05	0,69	1,18
	Ravninski del	60	0,14	0,11	<MZ	3,83	0,05	0,06	0,39	0,73
	Lendavske Gorice	42	0,13	0,13	<MZ	4,13	0,04	0,05	0,46	0,84
Spol otroka	Fantki	109	0,17	0,16	<MZ	3,83	0,04	0,05	0,60	1,04
	Deklice	115	0,16	0,13	<MZ	4,13	0,05	0,05	0,51	1,05
Starostna skupina	7-10 let	139	0,17	0,15	<MZ	4,13	0,05	0,05	0,51	0,91
	12-15 let	85	0,16	0,13	<MZ	3,73	0,04	0,05	0,69	1,21

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MZ – meja zaznavnosti

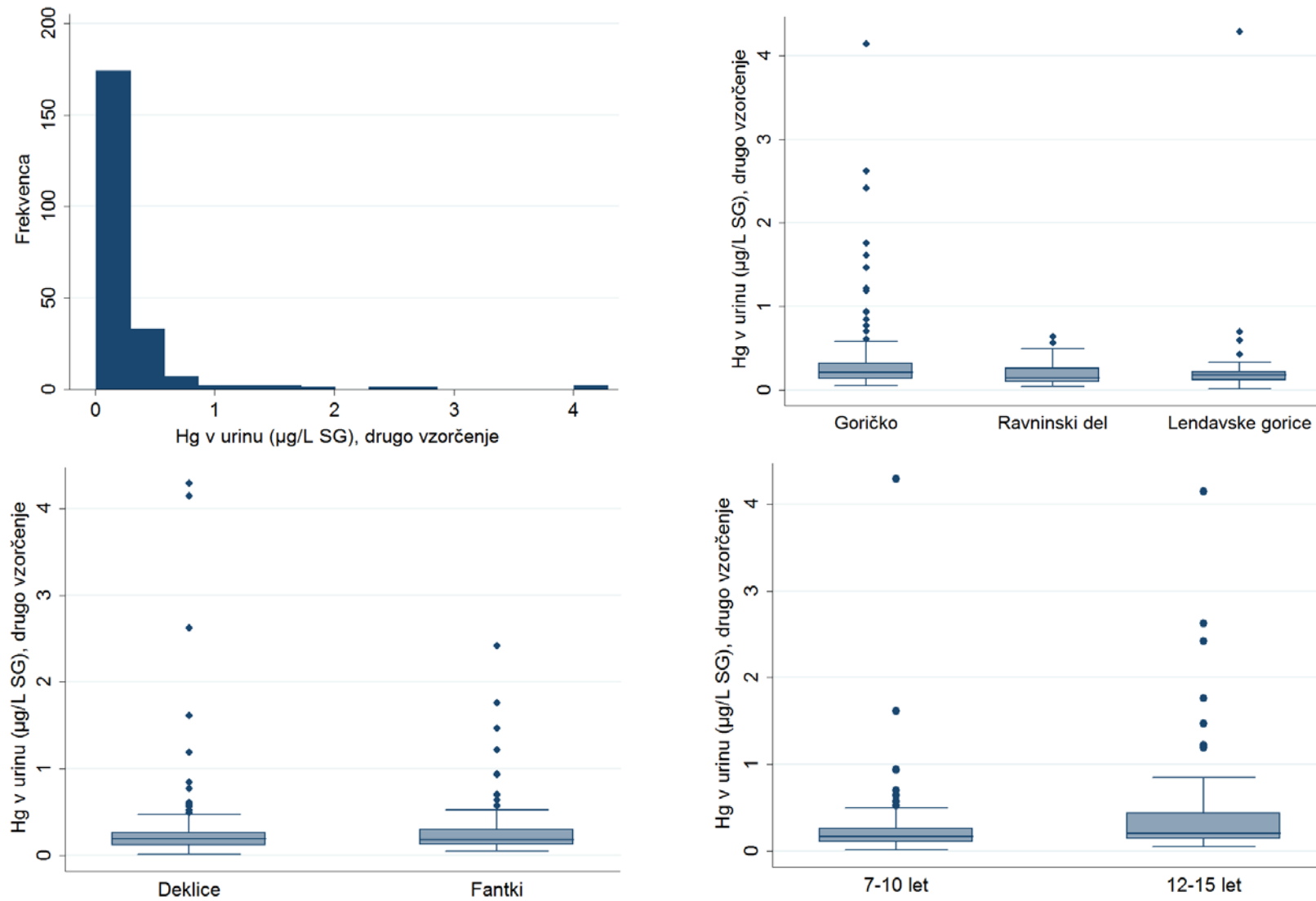
Tabela 14. Vsebnosti živega srebra v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) glede na pogostost uživanja rib, morskih sadežev in ribjih izdelkov ter glede na amalgamske zobne zalivke.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		246	0,19 (0,17-0,21)	0,18 (0,16-0,21)	<MZ	3,97	0,06	0,07 (0,06-0,08)	0,49 (0,41-0,64)	0,74 (0,59-0,93)
Ribe in ribji izdelki	Manj kot 3 x mesečno	64	0,17 (0,14-0,20)	0,16 (0,14-0,18)	0,04	1,58	0,05	0,07 (0,05-0,09)	0,39 (0,27-0,86)	0,67 (0,36-1,58)
	Več kot 3 x mesečno	182	0,20 (0,18-0,22)	0,20 (0,16-0,22)	<MZ	3,97	0,06	0,07 (0,07-0,09)	0,50 (0,43-0,69)	0,74 (0,55-1,00)
Amalgamske zalivke	Ne	223	0,18 (0,16-0,20)	0,18 (0,15-0,20)	<MZ	1,37	0,06	0,07 (0,06-0,08)	0,47 (0,39-0,59)	0,64 (0,49-0,88)
	Da	23	0,31 (0,20-0,47)	0,27 (0,18-0,39)	<MZ	3,97	0,12	0,14 (0,03-0,18)	0,93 (0,49-3,97)	1,58 (0,70-3,97)
SKUPAJ		225	0,16 (0,14-0,18)	0,15 (0,13-0,17)	<MZ	4,13	0,04	0,05 (0,05-0,06)	0,51 (0,38-0,88)	1,04 (0,69-1,59)
Ribe in ribji izdelki	Manj kot 3 x mesečno	59	0,12 (0,10-0,16)	0,13 (0,08-0,16)	<MZ	1,63	0,04	0,05 (0,04-0,05)	0,51 (0,23-1,50)	1,04 (0,29-1,63)
	Več kot 3 x mesečno	166	0,18 (0,15-0,20)	0,17 (0,14-0,19)	<MZ	4,13	0,05	0,07 (0,05-0,08)	0,58 (0,41-0,93)	1,05 (0,69-2,31)
Amalgamske zalivke	Ne	202	0,16 (0,14-0,18)	0,14 (0,13-0,17)	<MZ	3,83	0,04	0,05 (0,05-0,06)	0,49 (0,37-0,84)	0,91 (0,51-1,21)
	Da	23	0,20 (0,12-0,34)	0,16 (0,10-0,31)	0,05	4,13	0,05	0,05 (0,05-0,10)	1,04 (0,32-4,13)	1,59 (0,75-4,13)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja; MZ – meja zaznavnosti



Slika 3: Porazdelitev vsebnosti **živega srebra v urinu** ($\mu\text{g/L SG}$) za prvo vzorčenje ter vsebnost za prvo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.



Slika 4: Porazdelitev vsebnosti **živega srebra v urinu** ($\mu\text{g/L SG}$) za drugo vzorčenje ter vsebnost za drugo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 15. Vsebnosti **živega srebra v plazmi** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

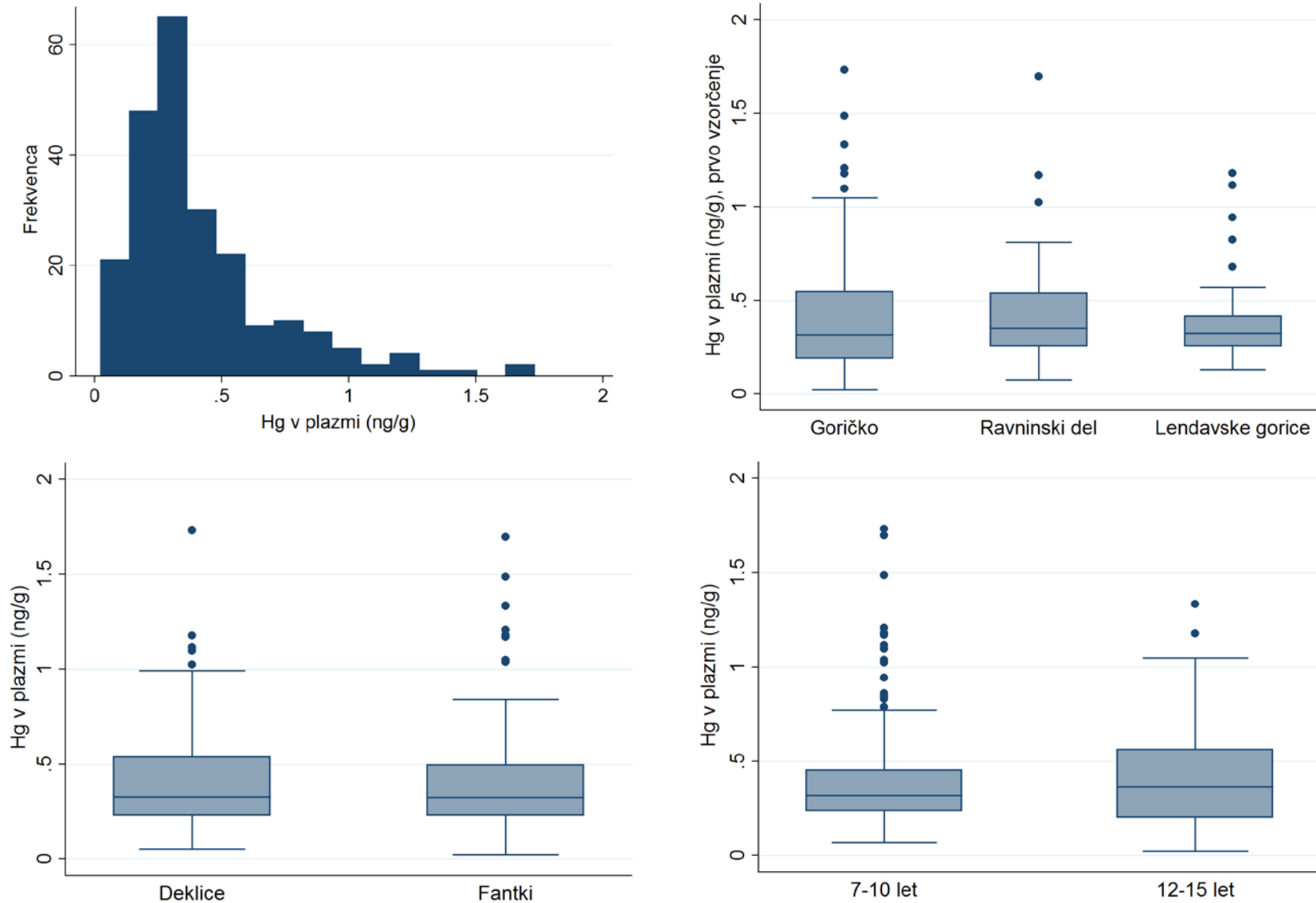
		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		226	0,33	0,33	0,02	1,73	0,10	0,15	0,83	1,04
Geografsko območje	Goričko	120	0,31	0,32	0,02	1,73	0,07	0,10	0,85	1,07
	Ravninski del	59	0,37	0,35	0,07	1,70	0,16	0,18	0,71	1,02
	Lendavske Gorice	47	0,35	0,33	0,13	1,18	0,19	0,21	0,68	0,94
Spol otroka	Moški	112	0,33	0,32	0,02	1,70	0,13	0,15	0,76	1,17
	Ženski	114	0,33	0,33	0,05	1,73	0,09	0,13	0,84	0,99
Starostno območje	7-10 let	134	0,34	0,32	0,07	1,73	0,11	0,17	0,84	1,11
	12-15 let	92	0,33	0,37	0,02	1,33	0,07	0,13	0,80	0,87

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

Tabela 16. Vsebnosti **živega srebra v plazmi** (ng/g) glede na pogostost uživanja rib, morskih sadežev in ribjih izdelkov ter glede na amalgamske zobne zalivke.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		228	0,33 (0,30-0,36)	0,33 (0,32-0,36)	0,02	1,73	0,10	0,15 (0,13-0,19)	0,83 (0,74-0,99)	1,04 (0,85-1,18)
Ribe in ribji izdelki	Manj kot 3 x mesečno	55	0,35 (0,30-0,41)	0,32 (0,30-0,41)	0,10	1,73	0,13	0,18 (0,13-0,22)	0,86 (0,57-1,49)	1,18 (0,83-1,73)
	Več kot 3 x mesečno	173	0,33 (0,29-0,36)	0,34 (0,32-0,37)	0,02	1,70	0,09	0,13 (0,10-0,17)	0,80 (0,69-0,99)	1,04 (0,84-1,18)
Amalgamske zalivke	Ne	207	0,32 (0,29-0,35)	0,32 (0,30-0,35)	0,02	1,73	0,10	0,13 (0,11-0,18)	0,81 (0,69-0,99)	1,04 (0,84-1,18)
	Da	21	0,44 (0,35-0,56)	0,48 (0,33-0,63)	0,15	1,11	0,16	0,28 (0,15-0,34)	0,83 (0,63-1,11)	0,87 (0,64-1,11)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja



Slika 5: Porazdelitev vsebnosti živega srebra v plazmi (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

3.2.2 Svinec

Svinec (Pb) je kovina modro sive barve, ki je naravno prisotna v zemeljski skorji večinoma kot mineral v kombinaciji z drugimi elementi. Zaradi antropogenih dejavnosti se svinec v manjših količinah lahko nahaja skoraj povsod - v zraku, vodi in tleh. Svinec se je v preteklosti uporabljal kot dodatek bencinu, v barvah, za vodovodne cevi. Danes se uporablja v proizvodnji baterij, streliva, za spajanje materialo (ATSDR 2007, Jakubowski 2012).

Svinec spada med strupene kovine. Na ATSDR prioritetni listi zaseda 2. mesto (ATSDR 2013 Hazardous Substance Priority List). Splošna populacija je svincu izpostavljena predvsem z uživanjem kontaminirane hrane in pitne vode, lahko pa tudi z vnosom kontaminiranega prahu, preko barv, ki vsebujejo svinec, svinčenih vodovodnih cevi, pri spajkanju.... V preteklosti so bili pomemben vir avtomobilski izpusti zaradi uporabe ovinčenega bencina. Absorpcija preko prebavil znaša do 20 % (pri otrocih do 50 %), preko dihal 10-60 %, medtem ko je prehajanje skozi kožo majhno. Po absorpciji se svinec razporedi v jetrih, ledvicah in kosteh. V slednjih se tudi kopiči. Izloča se v glavnem z urinom in blatom. Koncentracije v mleku so nižje kot v krvi, vendar višje kot v plazmi. Otroci in nosečnice so najbolj občutljiva populacija. Dolgotrajna izpostavljenost svincu lahko poškoduje krvotvorne organe, centralni živčni sistem, ledvice, prebavila, srčno-žilni sistem, reproduktivne organe (ATSDR 2007, Jakubowski 2012).

Koncentracije v krvi in urinu so primerni biomarkerji izpostavljenosti. Najpogosteje uporabljeno biomarker pa je koncentracija v krvi. Določitev zaznavnih vsebnosti svinca v vzorcu še ne pomeni, da bo nujno prišlo do zdravju škodljivih učinkov.

Geometrijska sredina (GM) za **svinec v krvi** pri preiskovani populaciji (N=227) otrok starih 7 – 15 let je 8,42 ng/g krvi, 95. percentil 18,0 ng/g krvi, minimum 1,60 ng/g krvi in maksimum 53,0 ng/g krvi (Tabela 17, Slika 6). 8% posameznikov je presegalo referenčno vrednost 35 ng/mL določeno za otroke stare 3 – 14 let (Shultz in sod., 2011).

Vsebnost svinca se je razlikovala med območji, nekoliko višja je bila v ravninskem delu. Med spoloma so bile majhne razlike, prav tako pri starostnih skupinah (Tabela 17, Slika 6). Na vsebnost **svinca v krvi** ni pomembno vplival način pridobitve vode za pitje in kuhanje, vrednosti so bile nekoliko nižje le pri uporabi kapnice in pri komercialnem dobavitelju vode za pitje (Tabela 18).

Primerjava rezultatov za **svinec v krvi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija (Ljubljana z okolico) v letu 2016, N=138, starost 7-8 let, oba spola, GM=9,72 ng/g, 95.percentil = 17,5 ng/g (neobjavljeni podatki CROME študije)
- ZDA v letih 2015 – 2016, N = 1023, starost 6 – 11 let, oba spola, GM = 5,7 ng/mL, 95.percentil = 15,9 ng/mL (CDC, 2018)
- ZDA v letih 2015 – 2016, N = 565, starost 12 – 19 let, oba spola, GM = 4,7 ng/mL, 95.percentil = 11,7 ng/mL (CDC, 2018)
- Japonska v letih 2008 – 2009, N = 229, starost 9 -10 let, oba spola, GM = 9,6 ng/mL (Ilmiawati in sod., 2015).

Geometrijska sredina za **svinec v urinu** pri preiskovani populaciji (N=234 pri prvem vzorčenju in N=218 pri drugem vzorčenju) otrok je 0,48 µg/g kreatinina pri prvem vzorčenju (minimum <MZ in maksimum 3,08) in 0,47 µg/g kreatinina pri drugem vzorčenju (minimum <MZ in maksimum 12,11), vrednost 95. percentila je bila pri prvem vzorčenju 1,36 in pri drugem vzorčenju 2,15 µg/g kreatinina (Tabela 21, Sliki 8 in 9).

Vsebnost svinca v urinu se ni pomembno razlikovala med območji pri prvem merjenju; pri drugem pa je navzgor bistveno izstopal ravninski del. Spol ni imel pomembnega vpliva, je pa imela mlajša starostna skupina skoraj 2 krat višjo koncentracijo v primerjavi s starejšo in to pri obeh vzorčenjih (Tabela 21, Sliki 8 in 9).

Na vsebnost **svinca v urinu** je pomembno vplival način oskrbe z vodo za pitje in kuhanje, vrednosti so bile pomembno višje, kjer je bila oskrba z vodo organizirana preko manjšega javnega vodovoda (Tabela 22).

Primerjava rezultatov za **svinec v urinu** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija (Ljubljana z okolico) v letu 2016, N=175, starost 7-8 let, oba spola, GM=0,24 ng/mL, 95.percentil = 1,51 ng/mL (neobjavljeni podatki CROME študije)
- ZDA v letih 2013 – 2014, N = 402, starost 6 – 11 let, oba spola, GM = 0,22 ng/mL, 95.percentil = 0,87ng/mL (CDC, 2018)
- ZDA v letih 2013 – 2014, N = 451, starost 12 – 19 let, oba spola, GM = 0,20 ng/mL, 95.percentil = 0,75ng/mL (CDC, 2018)
- Španija (okolica Valencije) v letu 2010 , N = 120, starost 6 – 11 let, GM = 1,16 µg/g kreatinin, 95.percentil = 2,88 µg/g kreatinin (Roca in sod. 2016).

Geometrijska sredina za **svinec v laseh** pri preiskovani populaciji (N=244) otrok starih 7 – 15 let je 287 ng/g las, 95. percentil 1047 ng/g las, minimum 35 ng/g, maksimum 2563 ng/g. Vsebnost svinca v laseh se je razlikovala med območji, bistveno je bila višja na ravninskem delu (Tabela 19, Slika 7). Med spoloma in glede na starostno skupino so bile pomembne razlike, geometrijska sredina je bila precej višja pri dečkih in mlajših otrocih (Tabela 19).

Na vsebnost **svinca v laseh** je vplival način oskrbe z vodo za pitje in kuhanje. Bistveno višje vrednosti so bile, kjer je bila oskrba z vodo organizirana preko manjšega javnega vodovoda (Tabela 20).

Primerjava rezultatov za **svinec v laseh** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija (Ljubljana z okolico) v letu 2016, N=179, starost 7-8 let, oba spola, GM=619 ng/g, 95. percentil = 3389 ng/g (neobjavljeni podatki CROME študije)
- ZDA (Ohio) v letih 2009 - 2010, N=222, starost 6 - 12 let, oba spola, mediana =152 ng/g (Jursa in sod., 2018).

Tabela 17. Vsebnosti **svince v krvi** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

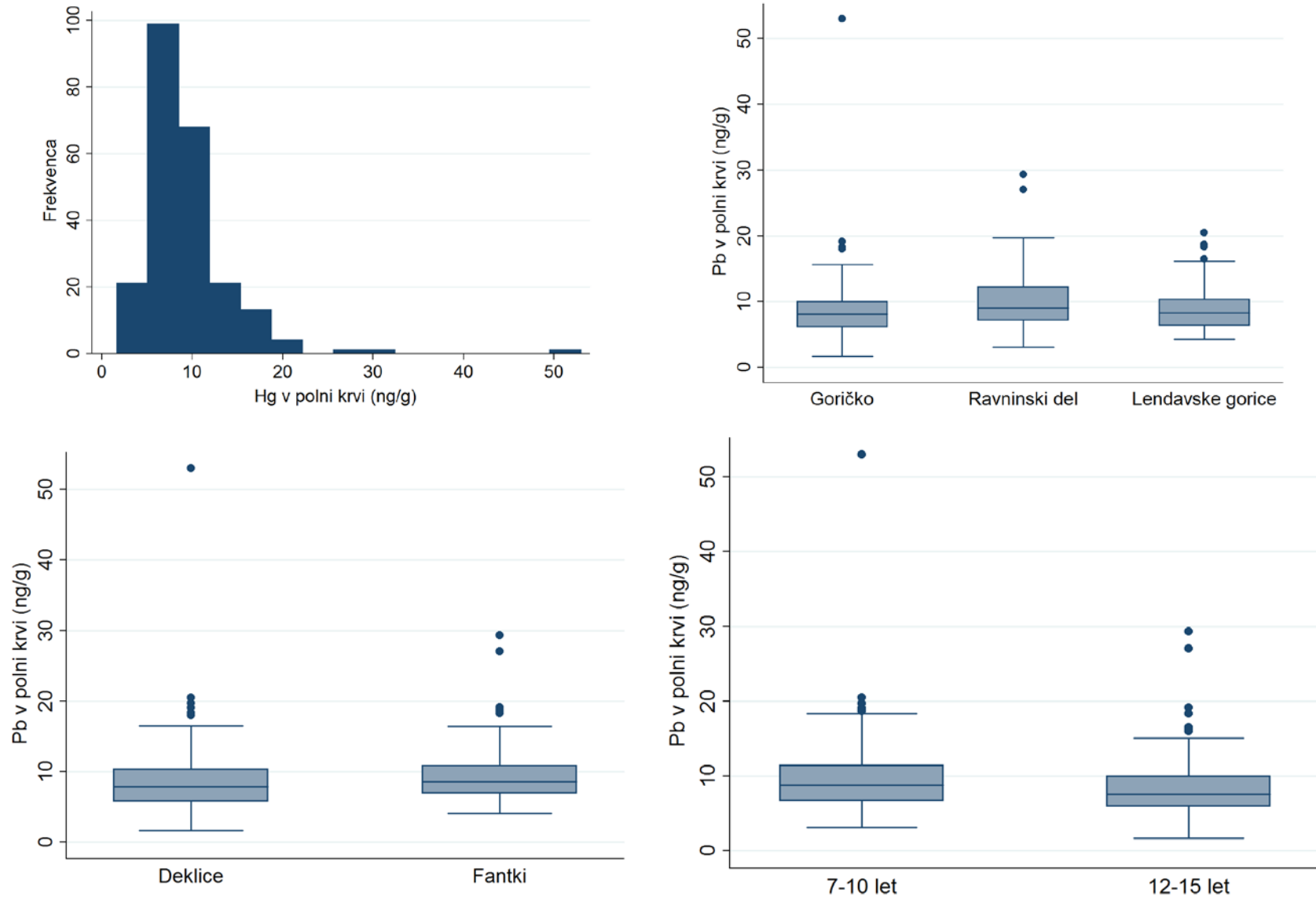
		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		227	8,42	8,20	1,60	53,00	4,50	5,10	14,70	18,00
Geografsko območje	Goričko	120	8,01	8,10	1,60	53,00	4,10	4,80	13,75	15,20
	Ravninski del	60	9,27	9,05	3,10	29,40	4,60	5,65	16,10	19,35
	Lendavske Gorice	47	8,46	8,20	4,30	20,50	5,00	5,40	16,10	18,30
Spol otroka	Dečki	112	8,88	8,55	4,10	29,40	4,70	5,60	14,70	18,30
	Deklice	115	8,00	7,90	1,60	53,00	3,50	4,80	14,50	18,00
Starostna skupina	7-10 let	135	8,88	8,80	3,10	53,00	4,50	5,50	15,30	18,30
	12-15 let	92	7,79	7,55	1,60	29,40	4,10	4,80	14,20	16,50

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

Tabela 18. Vsebnosti **svince v krvi** (ng/g) glede na uporabo vode za pitje in kuhanje.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		229	8,42 (7,96-8,91)	8,30 (7,90-8,80)	1,60	53,0	4,50	5,10 (4,80-5,60)	14,7 (13,5-16,1)	18,0 (15,6-19,1)
Uporaba vode za pitje	Večji javni vodovod	158	8,65 (8,10-9,24)	8,40 (7,90-9,00)	1,60	29,4	4,70	5,30 (5,10-6,00)	15,4 (13,5-18,0)	18,3 (15,7-19,7)
	Manjši javni vodovod	10	8,80 (5,18-14,9)	8,45 (5,70-9,40)	3,20	53,0	3,20	4,27 (3,20-6,20)	26,6 (9,10-53,0)	53,0 (9,40-53,0)
	Komercialni dobavitelj	45	7,88 (7,02-8,85)	8,00 (6,80-9,40)	3,10	18,3	4,30	4,90 (4,10-5,60)	13,2 (10,5-16,4)	15,1 (11,7-18,3)
	Kapnica	16	7,62 (5,99-9,70)	7,95 (6,20-9,50)	3,40	18,3	3,40	4,10 (3,40-6,40)	14,0 (9,50-18,3)	18,3 (11,3-18,3)
Uporaba vode za kuhanje	Večji javni vodovod	203	8,45 (7,98-8,95)	8,40 (7,90-8,90)	1,60	29,4	4,60	5,20 (4,80-5,60)	14,7 (13,3-16,1)	16,5 (15,4-19,0)
	Manjši javni vodovod	10	8,80 (5,18-14,9)	8,45 (5,70-9,40)	3,20	53,0	3,20	4,27 (3,20-6,20)	26,6 (9,10-53,0)	53,0 (9,40-53,0)
	Komercialni dobavitelj	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	Kapnica	15	7,63 (5,93-9,82)	7,90 (6,20-10,4)	3,40	18,3	3,40	4,10 (3,40-6,40)	14,0 (9,50-18,3)	18,3 (11,3-18,3)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja



Slika 6: Porazdelitev vsebnosti **svinca krvi** (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 19. Vsebnosti **svinca v laseh** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

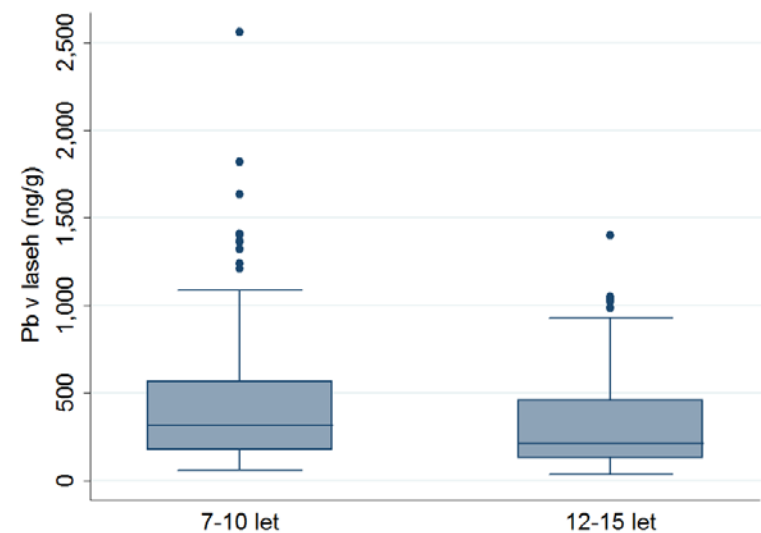
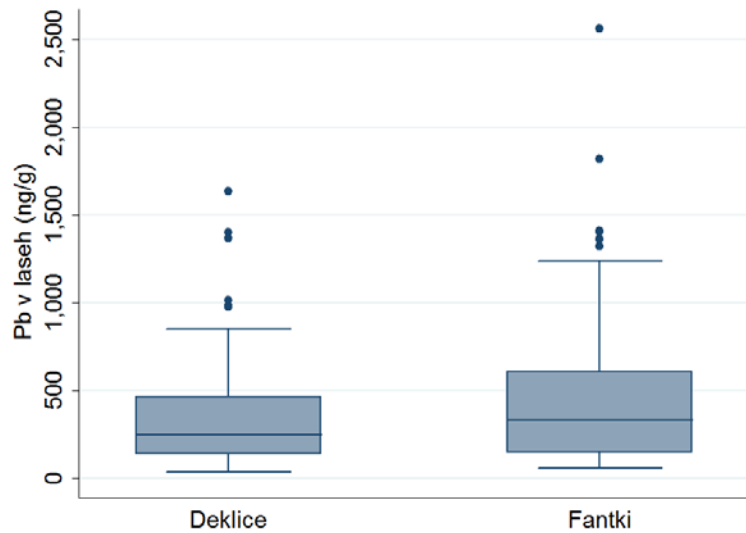
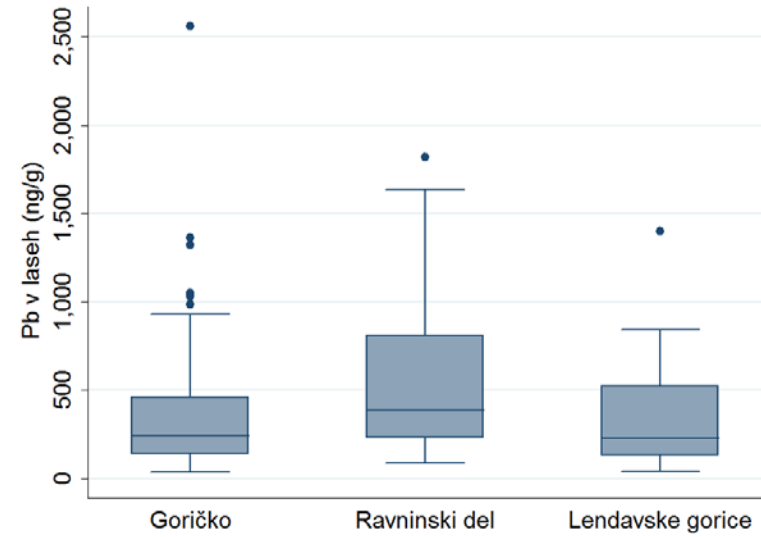
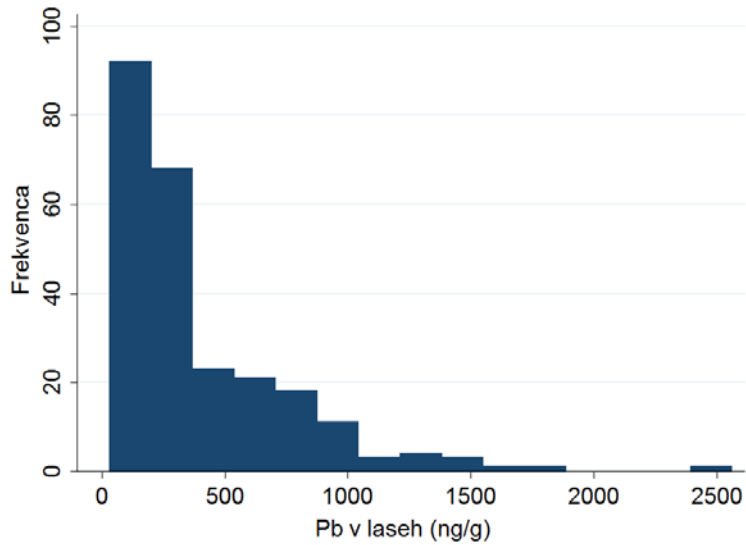
		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		244	287	288	35,0	2563	88,0	100	851	1047
Geografsko območje	Goričko	130	259	242	35,0	2563	81,0	96	817	931
	Ravninski del	63	413	388	86,0	1819	116	143	1212	1406
	Lendavske Gorice	51	240	235	40,0	1399	71,0	96	688	752
Spol otroka	Dečki	119	323	335	59,0	2563	90,0	102	1032	1320
	Deklice	125	257	246	35,0	1636	88,0	98,0	778	851
Starostno območje	7-10 let	149	314	315	59,0	2563	88,0	103	940	1320
	12-15 let	95	250	212	35,0	1399	71,0	96,0	816	984

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

Tabela 20. Vsebnosti **svinca v laseh** (ng/g) glede na uporabo vode za pitje in kuhanje.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		246	285 (257-316)	284 (239-323)	35,0	2563	88,0	99,0 (93,0-116)	851 (785-1010)	1047 (940-1370)
Uporaba vode za pitje	Večji javni vodovod	169	292 (258-330)	288 (241-356)	40,0	1636	88,0	100 (90,0-119)	898 (785-1022)	1032 (931-1363)
	Manjši javni vodovod	12	420 (264-667)	395 (239-565)	185	2563	185,0	197 (185-338)	816 (510-2560)	2560 (565-2563)
	Komercialni dobavitelj	49	256 (200-326)	246 (147-315)	78,0	1819	88,0	95 (86,0-116)	1039 (561-1410)	1406 (851-1819)
	Kapnica	16	230 (145-365)	181 (149-539)	35,0	781	35,0	96 (35,0-155)	710 (539-781)	781 (626-781)
Uporaba vode za kuhanje	Večji javni vodovod	217	281 (252-314)	269 (230-323)	40,0	1819	88,0	98 (93,0-112)	898 (790-1022)	1084 (940-1366)
	Manjši javni vodovod	13	411 (269-629)	338 (243-565)	185,0	2563	185,0	197 (185-323)	816 (510-2560)	2563 (565-2563)
	Komercialni dobavitelj	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	Kapnica	15	235 (143-387)	204 (149-555)	35,0	781	35,0	78,0 (35-155)	710 (539-781)	781 (626-781)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja

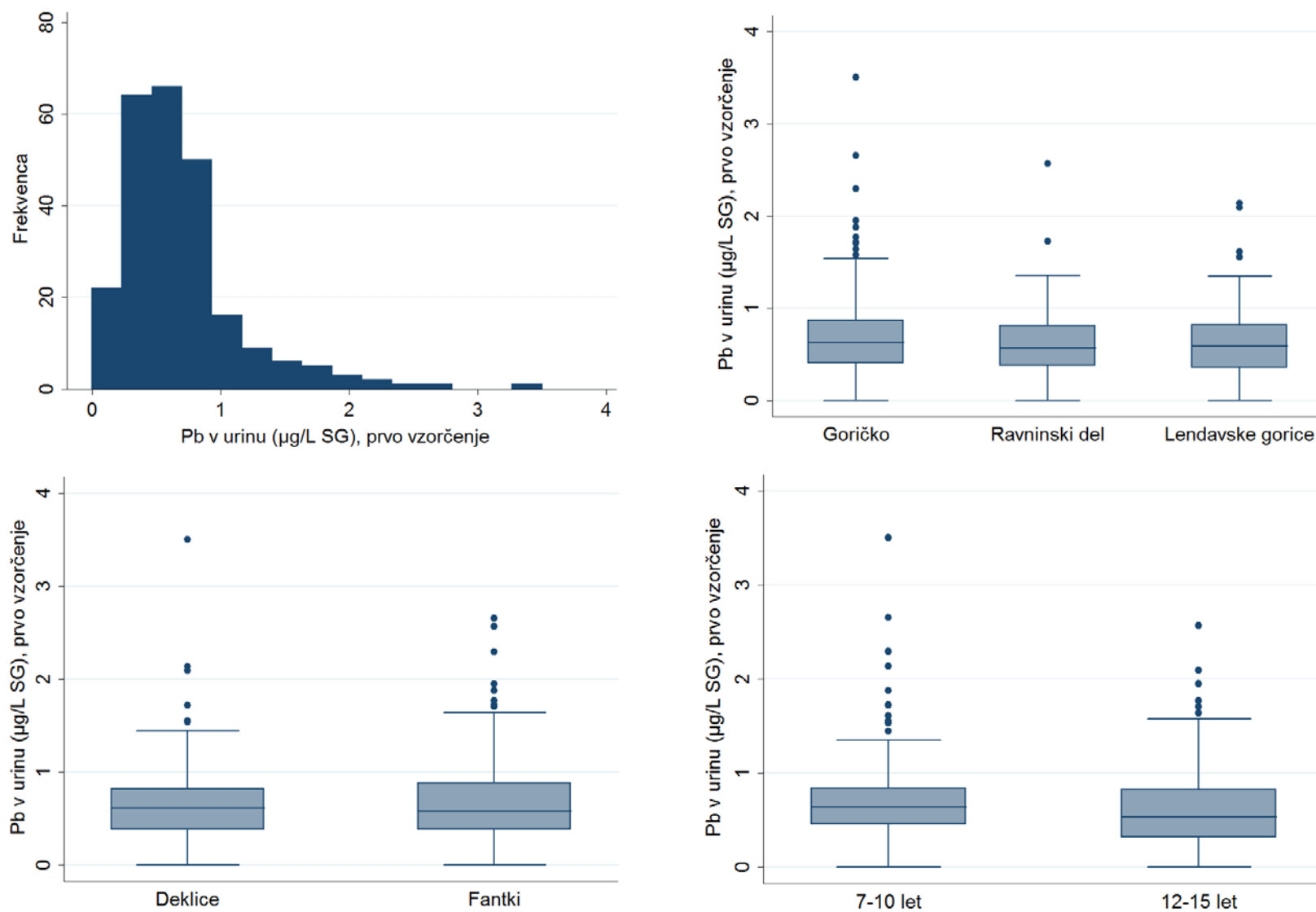


Slika 7: Porazdelitev vsebnosti **svinca v lasih** (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

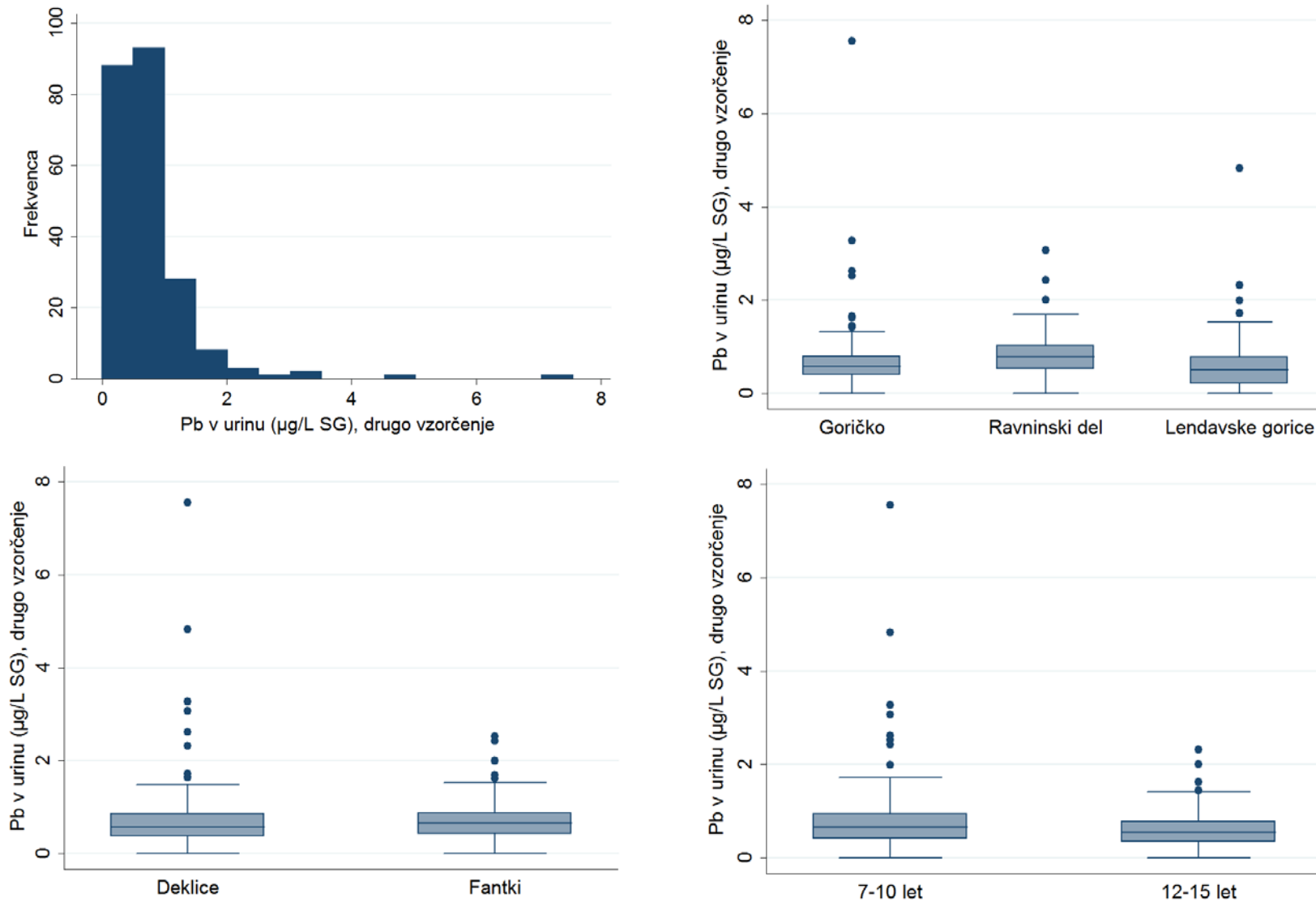
Tabela 21. Vsebnosti **svinca v urinu** ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) glede na geografskem območje, spol in starostni skupini.

	N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95	
PRVO VZORČENJE										
SKUPAJ	234	0,48	0,50	0,05	3,08	0,16	0,20	1,11	1,36	
Geografsko območje	Goričko	126	0,46	0,46	0,05	3,08	0,16	0,20	1,09	1,17
	Ravninski del	61	0,50	0,53	0,14	1,70	0,17	0,20	1,04	1,24
	Lendavske Gorice	47	0,53	0,53	0,16	1,98	0,18	0,19	1,43	1,56
Spol otroka	Dečki	113	0,47	0,47	0,05	2,80	0,14	0,20	1,17	1,36
	Deklice	121	0,49	0,50	0,10	3,08	0,17	0,19	0,96	1,20
Starostna skupina	7-10 let	145	0,60	0,61	0,18	3,08	0,25	0,29	1,17	1,70
	12-15 let	89	0,34	0,36	0,05	1,56	0,10	0,14	0,97	1,15
DRUGO VZORČENJE										
SKUPAJ	218	0,47	0,49	0,01	12,11	0,12	0,15	1,56	2,15	
Geografsko območje	Goričko	121	0,42	0,43	0,01	12,11	0,12	0,15	1,39	2,08
	Ravninski del	58	0,71	0,72	0,12	5,72	0,14	0,26	1,80	2,51
	Lendavske Gorice	39	0,36	0,41	0,01	4,64	0,03	0,03	1,64	2,12
Spol otroka	Dečki	108	0,47	0,50	0,01	5,72	0,12	0,16	1,56	1,78
	Deklice	110	0,48	0,48	0,01	12,11	0,12	0,14	1,51	2,54
Starostna skupina	7-10 let	137	0,61	0,66	0,03	12,11	0,13	0,18	1,80	2,80
	12-15 let	81	0,31	0,34	0,01	2,51	0,08	0,12	0,89	1,23

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana



Slika 8: Porazdelitev vsebnosti **svinca v urinu** ($\mu\text{g/L SG}$) za prvo vzorčenje ter vsebnost za prvo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.



Slika 9: Porazdelitev vsebnosti **svinca v urinu** ($\mu\text{g/L SG}$) za drugo vzorčenje ter vsebnost za drugo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 22. Vsebnosti svinca v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) glede na uporabo vode za pitje in kuhanje.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
PRVO VZORČENJE										
SKUPAJ		236	0,48 (0,44-0,52)	0,50 (0,43-0,54)	0,05	3,08	0,16	0,19 (0,17-0,24)	1,11 (0,95-1,24)	1,36 (1,17-1,97)
Uporaba vode za pitje	Večji javni vodovod	160	0,48 (0,43-0,54)	0,53 (0,44-0,58)	0,07	2,80	0,14	0,18 (0,16-0,24)	1,13 (0,95-1,31)	1,40 (1,15-1,97)
	Manjši javni vodovod	12	0,62 (0,38-1,00)	0,43 (0,37-1,17)	0,30	3,08	0,30	0,34 (0,30-0,40)	2,00 (0,83-3,08)	3,08 (1,17-3,08)
	Komercialni dobavitelj	49	0,45 (0,38-0,55)	0,46 (0,40-0,56)	0,05	1,96	0,19	0,21 (0,18-0,27)	1,04 (0,78-1,24)	1,16 (0,89-1,96)
	Kapnica	15	0,43 (0,31-0,60)	0,42 (0,34-0,68)	0,16	1,09	0,16	0,17 (0,16-0,39)	0,95 (0,54-1,09)	1,09 (0,87-1,09)
Uporaba vode za kuhanje	Večji javni vodovod	208	0,47 (0,43-0,51)	0,50 (0,44-0,56)	0,05	2,80	0,16	0,19 (0,17-0,24)	1,08 (0,94-1,24)	1,27 (1,12-1,56)
	Manjši javni vodovod	13	0,58 (0,36-0,92)	0,40 (0,37-1,17)	0,27	3,08	0,27	0,30 (0,27-0,38)	2,00 (0,83-3,08)	3,08 (1,17-3,08)
	Komercialni dobavitelj	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	Kapnica	14	0,48 (0,32-0,72)	0,45 (0,34-0,87)	0,16	1,96	0,16	0,17 (0,16-0,39)	1,09 (0,54-1,96)	1,96 (0,95-1,96)
DRUGO VZORČENJE										
SKUPAJ		219	0,47 (0,41-0,54)	0,49 (0,43-0,58)	0,01	12,1	0,12	0,15 (0,12-0,18)	1,56 (1,28-1,94)	2,15 (1,75-3,79)
Uporaba vode za pitje	Večji javni vodovod	148	0,45 (0,38-0,54)	0,44 (0,39-0,57)	0,01	12,1	0,09	0,14 (0,12-0,18)	1,48 (1,22-2,12)	2,15 (1,56-3,79)
	Manjši javni vodovod	11	0,77 (0,43-1,38)	0,62 (0,47-1,64)	0,29	4,89	0,29	0,30 (0,29-0,62)	2,08 (0,74-4,89)	4,89 (1,64-4,89)
	Komercialni dobavitelj	45	0,51 (0,38-0,67)	0,57 (0,39-0,70)	0,03	4,64	0,12	0,17 (0,12-0,28)	1,48 (0,96-2,77)	1,80 (1,28-4,64)
	Kapnica	15	0,45 (0,27-0,75)	0,55 (0,25-0,89)	0,06	1,64	0,06	0,15 (0,06-0,41)	1,39 (0,86-1,64)	1,64 (1,03-1,64)
Uporaba vode za kuhanje	Večji javni vodovod	192	0,46 (0,40-0,54)	0,47 (0,42-0,58)	0,01	12,1	0,12	0,14 (0,12-0,18)	1,48 (1,23-1,78)	2,12 (1,64-3,79)
	Manjši javni vodovod	12	0,75 (0,44-1,27)	0,58 (0,47-1,64)	0,29	4,89	0,29	0,30 (0,29-0,55)	2,08 (0,74-4,89)	4,89 (1,64-4,89)
	Komercialni dobavitelj	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	Kapnica	14	0,42 (0,23-0,77)	0,45 (0,17-0,89)	0,06	2,77	0,06	0,15 (0,06-0,25)	1,39 (0,86-2,77)	2,77 (1,03-2,77)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja

3.2.3 Kadmij

Kadmij (Cd) je mehka srebrno-bela kovina, ki je naravno prisotna v zemeljski skorji. Pogosto se pojavlja kot mineral v kombinaciji z drugimi elementi. V okolju najdemo kadmij v manjših količinah v zraku, vodi in tleh. Vir so lahko naravni procesi, bistveno več pa je v okolju kadmija antropogenega izvora: rudarstvo, kovinska industrija, kurišča, sežigalnice in odlagališča odpadkov, umetna gnojila in cigaretni dim. Kadmij se uporablja v številnih izdelkih kot so: zlitine, plastika, baterije, barve (ATSDR 2008).

Kadmij (Cd) spada med strupene kovine. Na ATSDR prioritetni listi zaseda 7. mesto (ATSDR 2013 Hazardous Substance Priority List). Splošna populacija je kadmiju izpostavljena predvsem preko aktivnega pa tudi pasivnega kajenja. Glavni vir kadmija pri nekadilcih (95 %) predstavljajo živila, predvsem ribe, jetra, ledvička in določene vrste zelenjave. Absorpcija preko prebavil znaša približno 5 %, absorpcija preko dihal je precej večja (do 35 %), medtem ko je prehajanje skozi kožo majhno. Akumulira se v ledvicah (predvsem v ledvični skorji) in jetrih. Kadmij ima dolg razpolovni čas izločanja (več desetletij). Izloča se v glavnem skozi ledvica. Izločanje z materinim mlekom je minimalno. Dolgotrajna izpostavljenost kadmiju povzroča poškodbe ledvic, okvare srčno-žilnega sistema in povečano tveganje za raka, negativno vpliva na kostno gostoto (Liu in sod. 2008, ATSDR 2008).

Najpogosteje uporabljena biomarkerja izpostavljenosti kadmiju sta koncentracija v krvi in v urinu. Koncentracijo kadmija v krvi bolje odraža nedavno izpostavljenost kot celotno obremenjenost, kadmij v urinu pa ravno obratno bolje odraža dolgotrajno izpostavljenost in celotno obremenjenost organizma. Določitev zaznavnih vsebnosti kadmija v vzorcu še ne pomeni, da bo nujno prišlo do zdravju škodljivih učinkov.

Geometrijska sredina (GM) za **kadmij v krvi** pri preiskovani populaciji (N=227) otrok starih 7 – 15 let je 0,13 ng/g krvi, 95. percentil 0,26 ng/g krvi, minimum <MZ in maksimum 0,44 ng/g krvi (Tabela 23, Slika 10). 12% posameznikov je presegalo referenčno vrednost 0,3 ng/mL določeno za otroke stare 3-14 let (Schulz in sod., 2011).

Vsebnost kadmija v krvi se ni pomembno razlikovala med območji. Med spoloma so bile minimalne razlike, prav tako glede na starostne skupine. (Tabela 23). Na vsebnost kadmija v krvi ni vplivala izpostavljenost pasivnemu kajenju (Tabela 24).

Primerjava rezultatov za **kadmij v krvi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija (Ljubljana z okolico) v letu 2016, N=138, starost 7-8 let, oba spola, GM=0,12 ng/g, 95.percentil = 0,35 ng/g (neobjavljeni podatki CROME študije)
- ZDA v letih 2015-2016, N = 1023, starost 6-11 let oba spola, mediana = 0,10 µg/L, 95. percentil = 0,20 µg/L (NHANES, 2018)
- ZDA v letih 2015-2016, N = 565, starost 12-19 let oba spola, GM = 0,13 µg/L, 95. percentil = 0,33 µg/L (NHANES, 2018)
- Koreja v letih 2010 – 2013, N = 473, starost 10 -12 let, oba spola, GM = 0,25 µg/L, 95. percentil = 0,54 µg/L (Ahn in sod., 2017)
- Koreja v letih 2010 – 2013, N = 522, starost 13 -15 let, oba spola, GM = 0,33 µg/L, 95. percentil = 0,74 µg/L (Ahn in sod., 2017).

Geometrijska sredina za **kadmij v plazmi** pri preiskovani populaciji (N=216) otrok starih 7 – 15 let je 0,03 ng/g plazme, 95. percentil 0,11 ng/g plazme, minimum <MZ in maksimum 0,20 ng/g plazme (Tabela 29, Slika 14). Vsebnost kadmija se ni razlikovala med geografskimi območji. Tudi

med spoloma in glede na starostne skupine so razlike minimalne (Tabela 29). Na vsebnost **kadmija v plazmi** ni vplivala izpostavljenost pasivnemu kajenju (Tabela 30).

Primerjava rezultatov za **kadmij v plazmi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- V Sloveniji (Ljubljana z okolico) v letih 2016, N = 135, starost 7-8 let, oba spola, GM = 0,01 ng/g, 95. percentil = 0,14 ng/g (neobjavljeni podatki CROME študije).

Geometrijska sredina za **kadmij v urinu** pri preiskovani populaciji (N=244 pri prvem vzorčenju in N=223 pri drugem vzorčenju) otrok je 0,10 µg/g kreatinina pri prvem vzorčenju (minimum 0,03 in maksimum 0,58) in 0,10 µg/g kreatinina pri drugem vzorčenju (minimum <MZ in maksimum 1,40), vrednost 95. percentila je bila pri prvem vzorčenju 0,22 in pri drugem vzorčenju 0,29 µg/g kreatinina (Tabela 27, Sliki 12 in 13). HBM I vrednost sta pri prvem vzorčenju presejala samo dva posameznika in pri drugem vzorčenju 23 posameznikov (10 %).

Vsebnost kadmija v urinu se ni pomembno razlikovala med območji, le pri drugem vzorčenju je bila višja na ravninskem delu v primerjavi z ostalima območjema. Glede na spol ni pomembnih razlik, je pa koncentracija pri mlajši starostni skupini pri obeh vzorčenjih nekoliko nižja kot pri starejši (Tabela 27). Na vsebnost **kadmija v urinu** ni pomembno vplivala izpostavljenost pasivnemu kajenju (Tabela 28).

Primerjava rezultatov za **kadmij v urinu** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija (Ljubljana z okolico) v letih 2016, N=175, starost 7-8 let, oba spola, GM=0,06 ng/mL, 95. percentil = 0,31 ng/mL (neobjavljeni podatki CROME študije)
- Evropa (16 držav) v letih 2011 – 2012, N = 1689, starost 5 – 12, oba spola, GM = 0,07 µg/g kreatinin, 95. percentil = 0,23 µg/g kreatinin (Berglund in sod., 2015)
- ZDA v letih 2013-2014, N = 402, starost 6-11 let oba spola, GM = <MZ (0.036 ng/mL), 95. percentil = 0,11 ng/mL (NHANES, 2018)
- ZDA v letih 2013-2014, N = 451, starost 12-19 let oba spola, GM = 0,06 ng/mL, 95. percentil = 0,29 ng/mL (NHANES, 2018)
- Španija (okolica Valencije) v letu 2010, N = 120, starost 6 – 11 let, GM = 0,18 µg/g kreatinin, 95. percentil = 0,44 µg/g kreatinin (Roca in sod., 2016).

Geometrijska sredina za **kadmij v laseh** pri preiskovani populaciji (N=244) otrok starih 7 – 15 let je 8,84 ng/g, 95. percentil 41,70 ng/g, minimum 1,10 ng/g, maksimum 715 ng/g. Vsebnost kadmija v laseh se je razlikovala med območji, precej višja je bila na območju Lendavskih gor in ravninskega dela v primerjavi z Goričkim (Tabela 25, Slika 11). Med spoloma so bile pomembne razlike, dečki so imeli precej višje vrednosti, razlike pa so bile izražene tudi glede na starostne skupine in sicer je bila geometrijska sredina višja pri mlajši starostni skupini (Tabela 25). Na vsebnost kadmija v laseh izpostavljenost pasivnemu kajenju ni pomembno vplivala (Tabela 26).

Tabela 23. Vsebnosti **kadmija v krvi** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

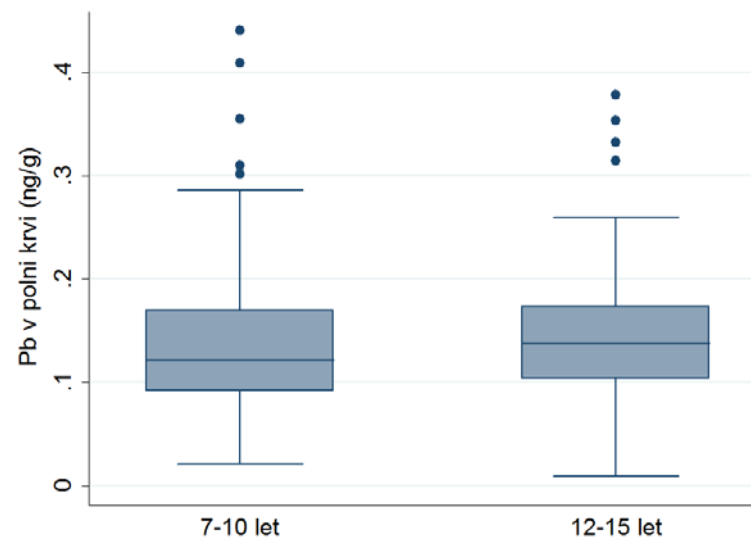
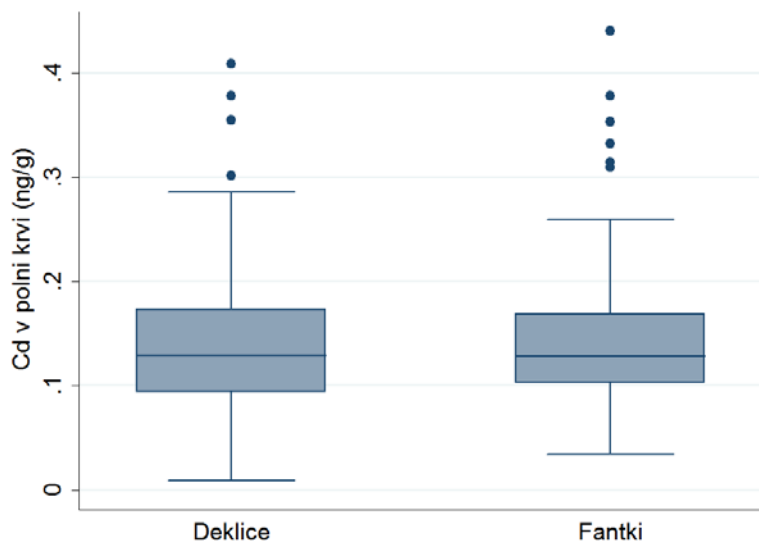
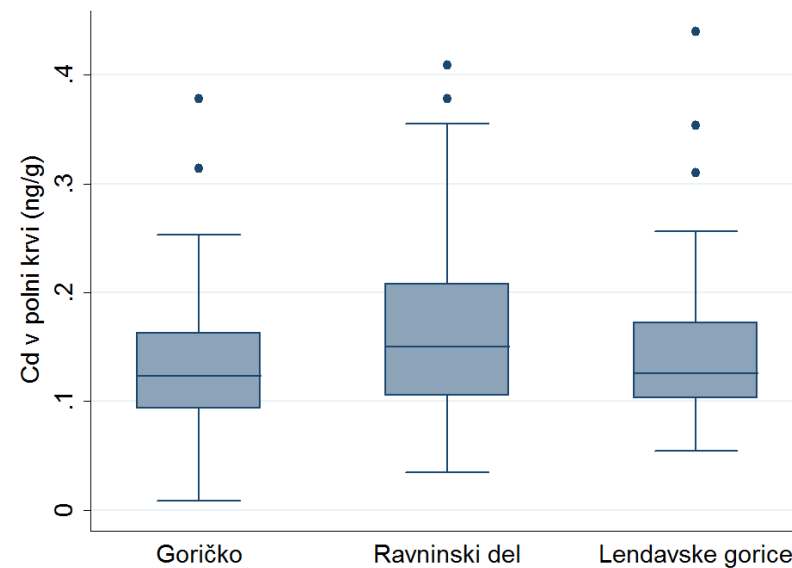
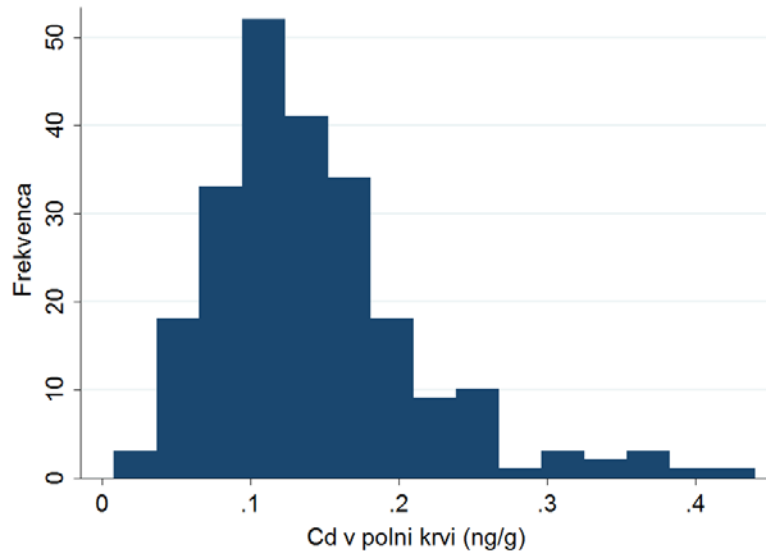
		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		227	0,13	0,13	0,01	0,44	0,06	0,07	0,23	0,26
Geografsko območje	Goričko	120	0,12	0,12	0,01	0,38	0,05	0,07	0,21	0,23
	Ravninski del	60	0,14	0,15	0,04	0,41	0,05	0,07	0,27	0,34
	Lendavske Gorice	47	0,13	0,12	0,05	0,44	0,07	0,08	0,24	0,31
Spol otroka	Dečki	112	0,13	0,13	0,04	0,44	0,05	0,07	0,25	0,31
	Deklice	115	0,12	0,13	0,01	0,41	0,06	0,07	0,23	0,26
Starostna skupina	7-10 let	135	0,12	0,12	0,02	0,44	0,05	0,06	0,23	0,26
	12-15 let	92	0,14	0,14	0,01	0,38	0,07	0,09	0,24	0,31

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

Tabela 24. Vsebnosti **kadmija v krvi** (ng/g) glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju proučevanih otrok.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		229	0,13 (0,12-0,14)	0,13 (0,12-0,14)	0,01	0,44	0,06	0,07 (0,06-0,08)	0,23 (0,21-0,26)	0,26 (0,24-0,35)
Pasivno kajenje	Ne	180	0,13 (0,12-0,14)	0,13 (0,12-0,14)	0,02	0,44	0,06	0,07 (0,06-0,08)	0,24 (0,22-0,29)	0,31 (0,25-0,36)
	Da	49	0,11 (0,10-0,13)	0,13 (0,10-0,15)	0,01	0,26	0,04	0,07 (0,04-0,09)	0,20 (0,18-0,23)	0,23 (0,19-0,26)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja



Slika 10: Porazdelitev vsebnosti **kadmija krvi** (ng/g) ter vsebnost glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 25. Vsebnosti **kadmija v laseh** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

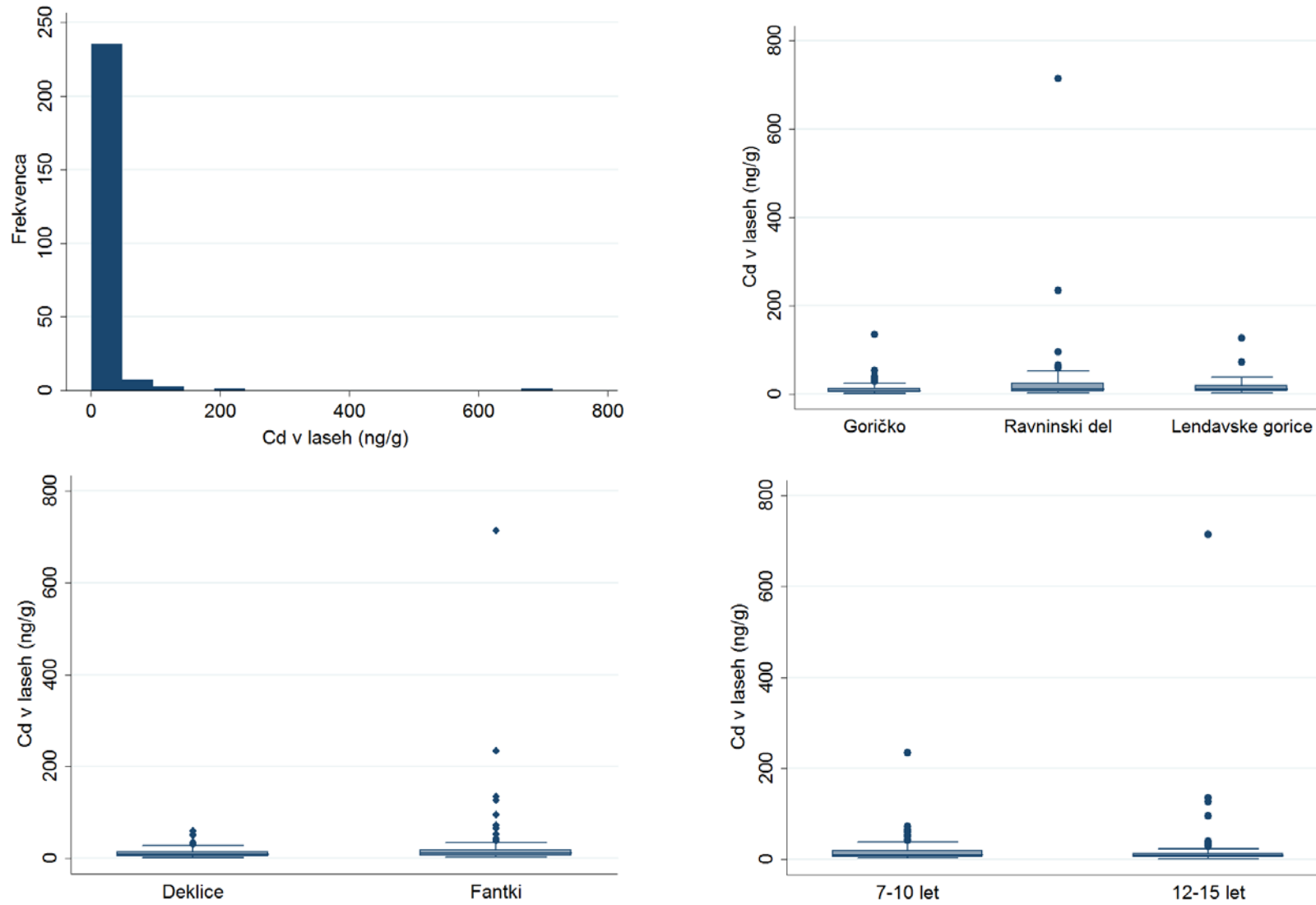
		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		244	8,84	7,95	1,10	715	2,10	2,80	28,6	41,7
Geografsko območje	Goričko	130	7,20	7,00	1,10	135	2,00	2,70	19,5	24,1
	Ravninski del	63	11,7	10,7	1,50	715	1,90	3,00	50,5	65,0
	Lendavske Gorice	51	10,6	10,4	1,80	126	2,50	4,10	33,9	37,2
Spol otroka	Dečki	119	10,8	9,50	1,60	715	2,70	3,30	37,2	71,3
	Deklice	125	7,32	7,20	1,10	59,7	1,80	2,30	22,6	33,9
Starostno območje	7-10 let	149	9,61	9,20	1,60	234	2,20	3,00	31,8	43,3
	12-15 let	95	7,76	7,10	1,10	715	1,80	2,30	23,2	38,6

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

Tabela 26. Vsebnosti **kadmija v laseh** (ng/g) glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju proučevanih otrok.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		246	8,85 (7,86-9,98)	8,10 (7,20-9,90)	1,10	715,2	2,10	2,80 (2,30-3,40)	28,6 (22,0-34,9)	41,7 (33,8-65,0)
Pasivno kajenje	Ne	192	8,68 (7,65-9,85)	8,10 (7,00-9,90)	1,10	134,7	2,10	2,80 (2,30-3,40)	28,6 (21,5-34,9)	38,6 (32,9-52,5)
	Da	54	9,49 (6,92-13,0)	7,90 (5,50-12,1)	1,60	715,2	2,00	2,80 (2,00-4,30)	24,3 (18,4-234)	126 (23,3-715)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja

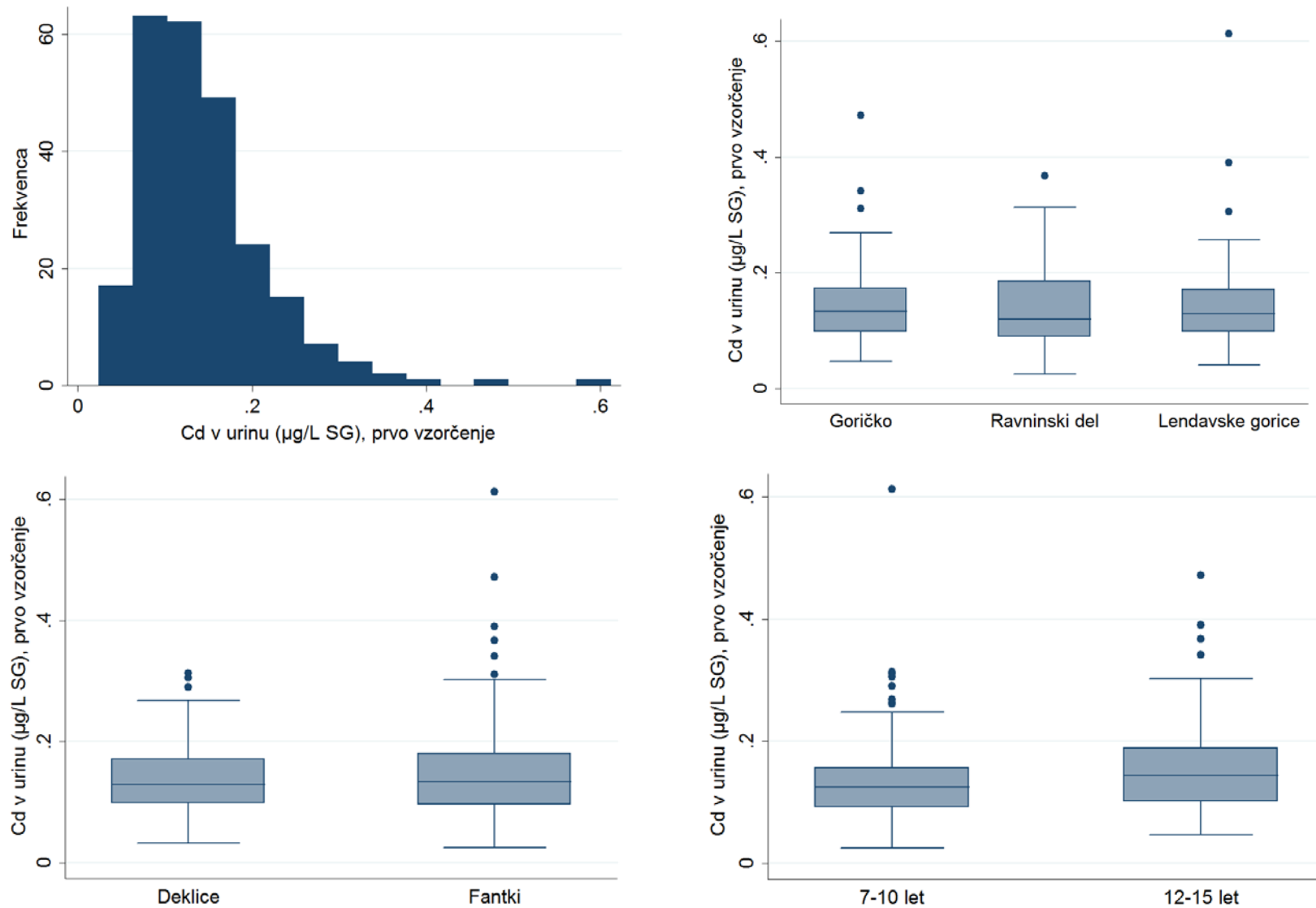


Slika 11: Porazdelitev vsebnosti **kadmija v lasih** (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

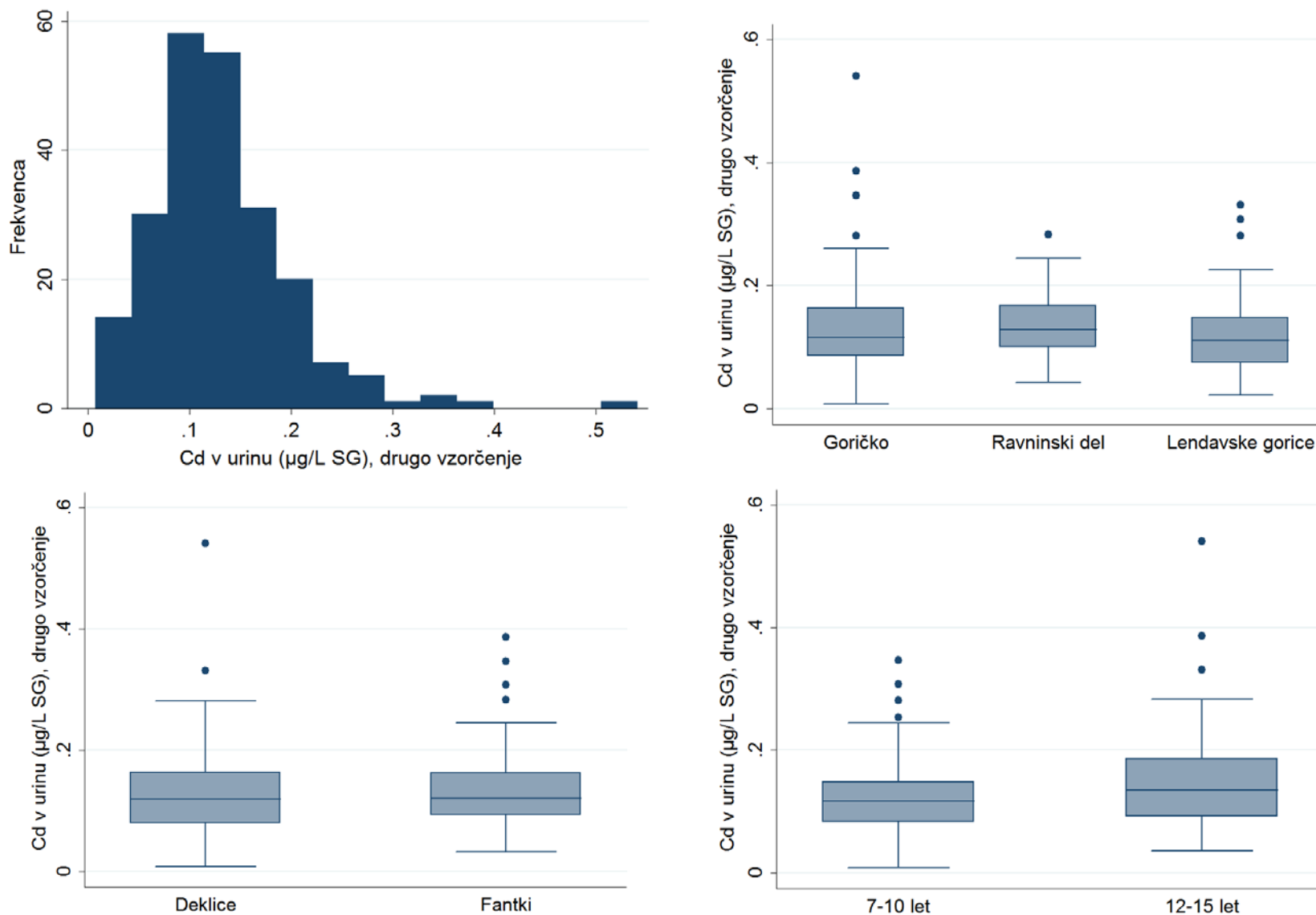
Tabela 27. Vsebnosti **kadmija v urinu** ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
PRVO VZORČENJE										
SKUPAJ		244	0,10	0,10	0,03	0,58	0,05	0,06	0,18	0,22
Geografsko območje	Goričko	130	0,10	0,10	0,03	0,27	0,05	0,06	0,16	0,18
	Ravninski del	63	0,11	0,11	0,03	0,30	0,05	0,05	0,21	0,22
	Lendavske Gorice	51	0,11	0,11	0,04	0,58	0,05	0,06	0,21	0,27
Spol otroka	Dečki	119	0,10	0,11	0,03	0,58	0,04	0,06	0,20	0,22
	Deklice	125	0,10	0,10	0,03	0,27	0,05	0,06	0,18	0,20
Starostna skupina	7-10 let	149	0,11	0,12	0,03	0,58	0,05	0,07	0,20	0,23
	12-15 let	95	0,09	0,09	0,03	0,30	0,04	0,06	0,13	0,17
DRUGO VZORČENJE										
SKUPAJ		223	0,10	0,10	0,01	1,40	0,03	0,04	0,21	0,29
Geografsko območje	Goričko	121	0,09	0,09	0,01	1,40	0,03	0,04	0,22	0,27
	Ravninski del	60	0,12	0,13	0,03	0,83	0,04	0,06	0,20	0,40
	Lendavske Gorice	42	0,08	0,08	0,01	0,74	0,03	0,03	0,20	0,27
Spol otroka	Dečki	109	0,10	0,10	0,02	0,83	0,03	0,04	0,20	0,37
	Deklice	114	0,09	0,10	0,01	1,40	0,03	0,04	0,22	0,29
Starostna skupina	7-10 let	138	0,11	0,11	0,01	1,40	0,03	0,04	0,25	0,34
	12-15 let	85	0,08	0,08	0,01	0,70	0,02	0,03	0,21	0,27

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana



Slika 12: Porazdelitev vsebnosti **kadmija v urinu** ($\mu\text{g/L SG}$) za prvo vzorčenje ter vsebnosti za prvo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.



Slika 13: Porazdelitev vsebnosti **kadmija v urinu** (µg/L SG) za drugo vzorčenje ter vsebnosti za drugo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 28. Vsebnosti **kadmija v urinu** ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju proučevanih otrok.

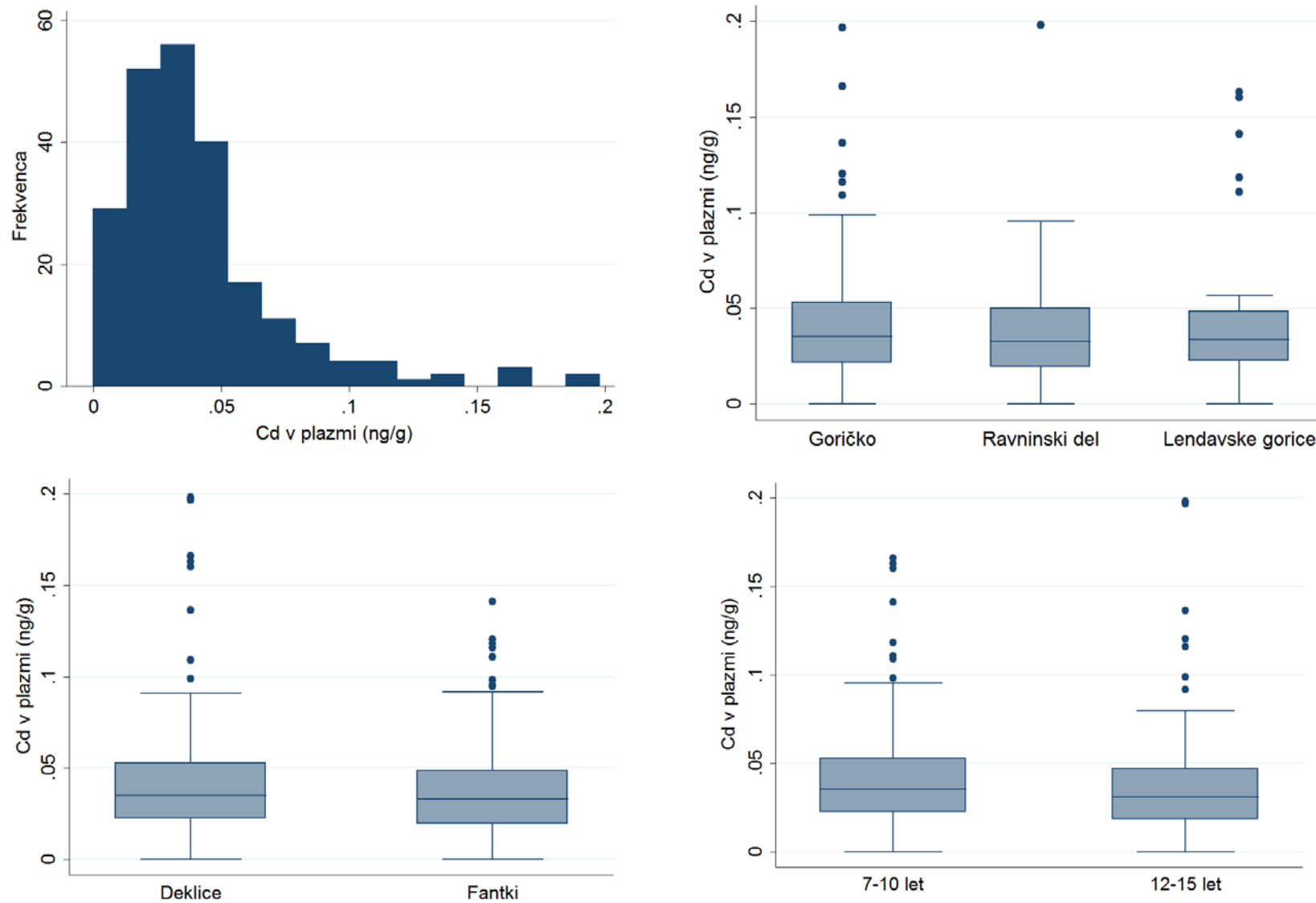
		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
PRVO VZORČENJE										
SKUPAJ		246	0,10 (0,10-0,11)	0,10 (0,10-0,11)	0,03	0,58	0,05	0,06 (0,05-0,07)	0,18 (0,16-0,21)	0,22 (0,19-0,23)
Pasivno kajenje	Ne	192	0,10 (0,10-0,11)	0,10 (0,10-0,11)	0,03	0,58	0,05	0,06 (0,05-0,07)	0,18 (0,16-0,21)	0,22 (0,18-0,23)
	Da	54	0,11 (0,09-0,12)	0,10 (0,09-0,12)	0,04	0,46	0,06	0,06 (0,06-0,08)	0,20 (0,16-0,27)	0,24 (0,18-0,46)
DRUGO VZORČENJE										
SKUPAJ		224	0,10 (0,09-0,11)	0,10 (0,09-0,11)	0,01	1,40	0,03	0,04 (0,03-0,05)	0,21 (0,19-0,27)	0,29 (0,25-0,43)
Pasivno kajenje	Ne	175	0,09 (0,08-0,10)	0,10 (0,08-0,11)	0,01	0,74	0,03	0,04 (0,04-0,05)	0,21 (0,18-0,27)	0,29 (0,22-0,43)
	Da	49	0,10 (0,08-0,13)	0,12 (0,09-0,14)	0,01	1,40	0,02	0,03 (0,02-0,05)	0,26 (0,20-0,83)	0,34 (0,22-1,40)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja

Tabela 29. Vsebnosti kadmija v plazmi (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		216	0,03	0,04	0,00	0,20	0,01	0,02	0,08	0,11
Geografsko območje	Goričko	115	0,03	0,04	0,00	0,20	0,01	0,02	0,08	0,11
	Ravninski del	56	0,03	0,04	0,00	0,20	0,00	0,01	0,09	0,10
	Lendavske Gorice	45	0,03	0,03	0,01	0,16	0,01	0,02	0,11	0,14
Spol otroka	Dečki	109	0,03	0,03	0,00	0,14	0,00	0,01	0,08	0,10
	Deklice	107	0,04	0,04	0,00	0,20	0,01	0,02	0,09	0,14
Starostno območje	7-10 let	129	0,04	0,04	0,00	0,17	0,01	0,02	0,09	0,11
	12-15 let	87	0,03	0,03	0,00	0,20	0,01	0,01	0,07	0,12

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana



Slika 14: Porazdelitev vsebnosti **kadmija v plazmi** (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 30. Vsebnosti **kadmija v plazmi** (ng/g) glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju proučevanih otrok.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		218	0,03 (0,03-0,04)	0,04 (0,03-0,04)	0,00	0,20	0,01	0,02 (0,01-0,02)	0,08 (0,07-0,10)	0,11 (0,09-0,14)
Pasivno kajenje	Ne	170	0,03 (0,03-0,04)	0,03 (0,03-0,04)	0,00	0,20	0,01	0,01 (0,01-0,02)	0,08 (0,07-0,10)	0,12 (0,09-0,16)
	Da	48	0,03 (0,03-0,04)	0,04 (0,03-0,04)	0,00	0,16	0,01	0,02 (0,01-0,02)	0,09 (0,06-0,11)	0,11 (0,08-0,16)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja

3.2.4 Arzen

Arzen (As) je strupena polkovina, ki na ATSDR prioritetni listi zaseda 1. mesto (ATSDR 2013 Hazardous Substance Priority List). V okolju najdemo arzen povsod in sicer v različnih anorganskih in organskih oblikah, ki imajo različno stopnjo strupenosti. Splošna populacija je arzenu izpostavljena v glavnem preko hrane, v manjši meri pa lahko tudi preko pitne vode. Nekateri drugi načini izpostavljenosti so povezani z različnimi oblikami uporabe arzena, kot je npr. industrijska uporaba v steklarstvu ter uporaba zdravil, ki vsebujejo arzen (Horvat in sod. 2012).

Najbolj pomemben vir arzena za ljudi, ki niso poklicno izpostavljeni, je morska hrana (Hughes 2006; Horvat et al 2012). Najvišje koncentracije arzena so v ribah in školjkah, vendar je tu arzen večinoma prisoten v netoksičnih organskih oblikah (večinoma arzenobetain - AB, lahko tudi dimetil arzenova kislina - DMA), ki so veliko manj škodljive za človeka kot anorganski arzena. Delež anorganskega arzena je nizek (<1 %). V drugih živilih (meso, perutnina, mlečni izdelki in žita) je delež anorganskega arzena sicer večji, a je skupna koncentracija arzena nizka. Sladkovodne ribe vsebujejo veliko nižje koncentracije arzena kot morske ribe (Horvat in sod. 2012).

Organske oblike arzena so torej glavna oblika pri vnosu s hrano, glavni vir anorganskega arzena pa je lahko pitna voda zaradi geološke sestave tal (Hughes 2006). Koncentracija arzena v naravnih površinskih in podzemnih voda je v splošnem nižja od 10 µg/L, lahko pa v določenih predelih, kjer je vrednost arzena v tleh visoka, presega 1 mg/L (Horvat in sod. 2012). V Sloveniji arzen v pitni vodi ne predstavlja problema, omeniti pa velja, da obstaja nekaj izvirov pitne in mineralne vode s povišano vsebnostjo anorganskega arzena, npr. pitna voda pod Pohorjem, neprečiščena mineralna voda iz nekaterih vrtin v Rogaški Slatini (Van Eltern, 2002).

Najpogosteje uporabljeno merilo za ocenjevanje izpostavljenosti je merjenje koncentracije celotnega arzena v urinu. Speciatijska analiza za določitev oblike, v kateri je arzen prisoten v urinu, je nujna v primeru višjih vrednosti. Meja je lahko referenčna vrednost za nemško populacijo, ki je 15 ng/mL za odrasle in otroke (3 – 14 let), ki 48 ur pred vzorčenjem niso jedli rib. Določili so jo na podlagi rezultatov nemškega humanega biomonitoringa 1997-1999 (Schultz 2012). V študiji smo določili oblike arzena v urinu iz prvega vzorčenja (glej sekcijo 3.13).

Geometrijska sredina za **arzen v urinu** pri preiskovani populaciji (N=244 pri prvem vzorčenju in N=224 pri drugem vzorčenju) otrok je 5,86 µg/g kreatinina pri prvem vzorčenju (minimum 1,34 in maksimum 72,79) in 6,01 µg/g kreatinina pri drugem vzorčenju (minimum 1,34 in maksimum 160,55), vrednost 95. percentila je bila pri prvem vzorčenju 29,3 µg/g kreatinina in pri drugem vzorčenju 36,4 µg/g kreatinina (Tabela 35, Sliki 17 in 18). Zgoraj omenjeno referenčno vrednostjo 15 ng/mL je v prvem vzorčenju preseglo 37 posameznikov (15%) ter v drugem vzorčenju 50 posameznikov (22%).

Vsebnost arzena v urinu se je pomembno razlikovala med območji, pri prvem vzorčenju je imelo Goričko precej nižjo vrednost, kot drugi dve območji, pri drugem vzorčenju je bilo obratno precej višja vrednost je bila na območju Goriškega v primerjavi z ostalima območjema. Razlika je med prvim in drugim merjenjem, vrednosti so razporejene ravno obratno. Spol in starostna skupina sta vplivali na rezultate, dečki so imeli nekoliko višjo vsebnost arzena, pomembno višja vsebnost pa je bila pri mlajši starostni skupini (Tabela 35, Sliki 17 in 18).

Prav tako je na **vsebnost arzena v urinu** (µg/g kreatinina) vplivala pogostost uživanja morske hrane (rib), in sicer podobno pri obeh vzorčenjih. S količino zaužite morske hrane (rib) je koncentracija arzena v urinu (µg/g kreatinina) dosegla višje vrednosti (Tabela 32):

- Prvo vzorčenje: pri uživanju morske hrane (rib) manj kot 3 krat mesečno je GM 4,43 µg/g kreatinina (95% IZ 3,70 – 5,30 µg/g kreatinina), pri uživanju morske hrane več kot 3 krat mesečno je GM 6,48 µg/g kreatinina (95% IZ 5,69 – 7,39 µg/g kreatinina).
- Drugo vzorčenje: pri uživanju morske hrane (rib) manj kot 3 krat mesečno je GM 5,03 (95% IZ 4,01 – 6,31 µg/g kreatinina), pri uživanju morske hrane (rib) več kot 3 krat mesečno je GM 6,34 µg/g kreatinina (95% IZ 5,51 – 7,30 µg/g kreatinina).

Primerjava rezultatov za **arzen v urinu** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija (Ljubljana z okolico) v letu 2016, N=175, starost 7-8 let, oba spola, GM = 3,57 ng/g, 95.percentil = 3,67 ng/g (neobjavljeni podatki CROME študije)
- ZDA v letih 2013-2014, N = 402, starost 6-11 let oba spola, GM = 5,21 ng/mL , 95. percentil = 29,0 ng/mL (NHANES, 2018)
- ZDA v letih 2013-2014, N = 451, starost 12-19 let oba spola, GM = 5,79 ng/mL, 95. percentil = 44,1 ng/mL (NHANES, 2018)
- Španija (okolica Valencije) v letu 2010, N = 120, starost 6 – 11 let, GM = 33,3 µg/g kreatinin, 95. percentil = 229 µg/g kreatinin (Roca in sod., 2016)
- Urugvaj v letih 2009 – 2013, N =122 , starost 7 – 9 let, oba spola, mediana = 12,3 ng/mL SG (Desai in sod., 2019).
- Bangladeš V LETIH 2001 – 2003, N = 424, starost 9 let, mediana = 54,1 ng/mL SG, 95. percentil = 386 ng/mL SG (De Loma in sod., 2019).

Geometrijska sredina (GM) za **arzen v krvi** pri preiskovani populaciji (N=219) otrok starih 7 – 15 let je 0,45 ng/g krvi, 95. percentil 1,45 ng/g krvi, minimum <MZ in maksimum 7,82 ng/g krvi (Tabela 31, Slika 15). Vrednosti so bile znotraj referenčnega intervala 2 -23 ng/mL ki je določen za splošne populacije brez znane visoke izpostavitve arzenu (International Programme on Chemical Safety, 2004).

Vsebnost arzena se je le malo razlikovala med območji, najnižja je bila v Lendavskih Goricah. Med spoloma so bile minimalne razlike, prav tako glede na starostne skupine (Tabela 31). Na vsebnost arzena v krvi je vplivala pogostnost uživanja morske hrane. Pričakovano s pogostostjo uživanja morske hrane vsebnost živega srebra v krvi raste. Uživanje svežih rib manj kot 3 krat mesečno GM 0,34 ng/g krvi (95% IZ 0,28 – 0,43 ng/g krvi), več kot 3 krat mesečno GM 0,48 ng/g krvi (95% IZ 0,43 - 0,54 ng/g krvi) (Tabela 32).

Primerjava rezultatov za **arzen v krvi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija (Ljubljana z okolico) v letu 2016, N=138, starost 7-8 let, oba spola, GM=0,38 ng/g, 95.percentil = 2,59 ng/g (neobjavljeni podatki CROME študije).

Geometrijska sredina za **arzen v plazmi** pri preiskovani populaciji (N=226) otrok starih 7 – 15 let je 0,25 ng/g plazme, 95. percentil 1,25 ng/g plazme, minimum 0,03 ng/g plazme in maksimum 10,70 ng/g plazme (Tabela 3.2.4.7., Slika 3.2.4.7). Vsebnost arzena se ni bistveno razlikovala med območji, prav tako glede na spol in starostno skupino (Tabela 37, Slika 19).

Uživanje morske hrane je nekoliko vplivalo na koncentracijo arzena v plazmi. S količino zaužite morske hrane (rib) je koncentracija arzena v plazmi dosegla nekoliko višje vrednosti. Pri uživanju rib manj kot 3 krat mesečno je bila GM 0,20 ng/g plazme (95% IZ 0,16 – 0,24 ng/g plazme), pri uživanju rib več kot 3 krat mesečno pa je bila GM 0,27 (95% IZ 0,23 – 0,30 ng/g plazme) (Tabela 38).

Primerjava rezultatov za **arzen v plazmi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija (Ljubljana z okolico) v letu 2016, N=133, starost 7-8 let, oba spola, GM = 0,15 ng/g, 95.percentil = 1,07 ng/g (neobjavljeni podatki CROME študije).

Geometrijska sredina za **arzen v laseh** pri preiskovani populaciji (N=244) otrok starih 7 – 15 let je 20,4 ng/g krvi, 95. percentil 92,0 ng/g krvi, minimum 6,00 ng/g, maksimum 1649 ng/g. Vsebnost arzena v laseh se je razlikovala med območji, bistveno je bila višja na Ravnskem delu (Tabela 33, Slika 16). Med spoloma so bile pomembne razlike, dečki so imeli precej večjo koncentracijo, razlike pa so bile izražene tudi glede na starostne skupine in sicer je bila GM višja pri mlajši starostni skupini (Tabela 33). Na vsebnost **arzena v laseh** pogostnost uživanja morske hrane ni vplivala (Tabela 34).

Primerjava rezultatov za **arzen v laseh** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija (Ljubljana z okolico) v letu 2016, N=179, starost 7-8 let, oba spola, GM = 21,8 ng/g, 95. percentil = 61,0 ng/g (neobjavljeni podatki CROME študije).
- ZDA (Ohio) v letih 2009 - 2010, N=222, starost 6 - 12 let, oba spola, mediana =18,0 ng/g (Jursa in sod., 2018).

Tabela 31. Vsebnosti **arzena v krvi** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

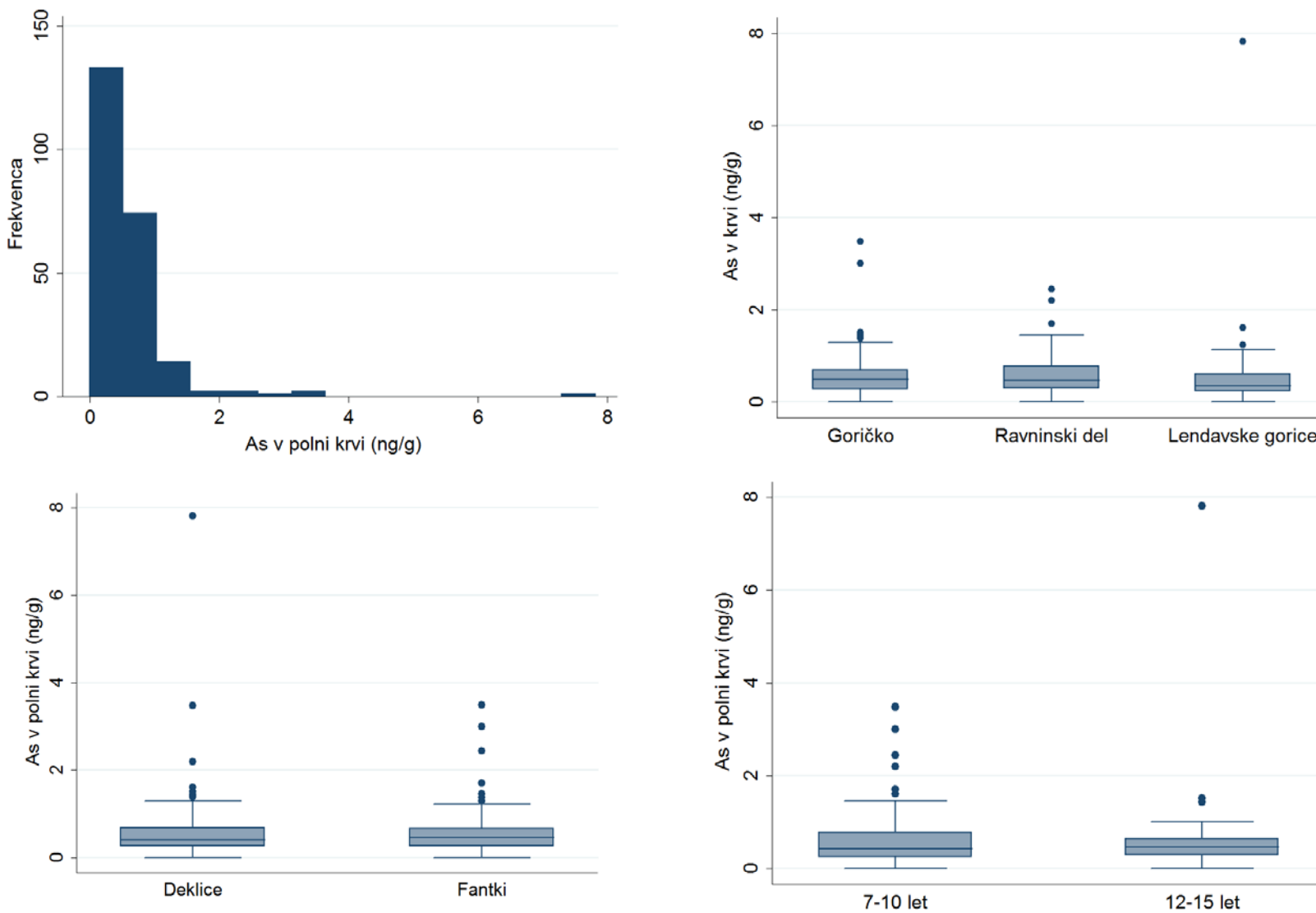
		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		219	0,45	0,46	0,04	7,82	0,13	0,18	1,12	1,45
Geografsko območje	Goričko	118	0,45	0,49	0,04	3,48	0,12	0,16	1,12	1,42
	Ravninski del	58	0,47	0,50	0,07	2,44	0,12	0,19	1,13	1,70
	Lendavske Gorice	43	0,40	0,36	0,14	7,82	0,16	0,17	0,90	1,23
Spol otroka	Dečki	109	0,44	0,48	0,06	3,48	0,12	0,16	1,00	1,38
	Deklice	110	0,45	0,44	0,04	7,82	0,15	0,19	1,13	1,45
Starostna skupina	7-10 let	129	0,46	0,44	0,04	3,48	0,12	0,17	1,29	1,61
	12-15 let	90	0,43	0,48	0,07	7,82	0,14	0,19	0,81	0,94

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

Tabela 32. Vsebnosti **arzena v krvi** (ng/g) glede na uživanje rib in ribjih izdelkov.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		221	0,45 (0,40-0,49)	0,46 (0,40-0,52)	0,04	7,82	0,14	0,18 (0,15-0,22)	1,04 (0,93-1,29)	1,42 (1,14-2,19)
Uživanje rib	Manj kot 3 x mesečno	49	0,34 (0,28-0,43)	0,35 (0,26-0,43)	0,07	3,47	0,11	0,12 (0,09-0,19)	0,89 (0,64-1,42)	1,16 (0,80-3,47)
	Več kot 3 x mesečno	172	0,48 (0,43-0,54)	0,52 (0,44-0,59)	0,04	7,82	0,15	0,20 (0,17-0,24)	1,13 (0,94-1,38)	1,45 (1,23-2,44)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja



Slika 15: Porazdelitev vsebnosti **arzena krvi** (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 33. Vsebnosti **arzena v laseh** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

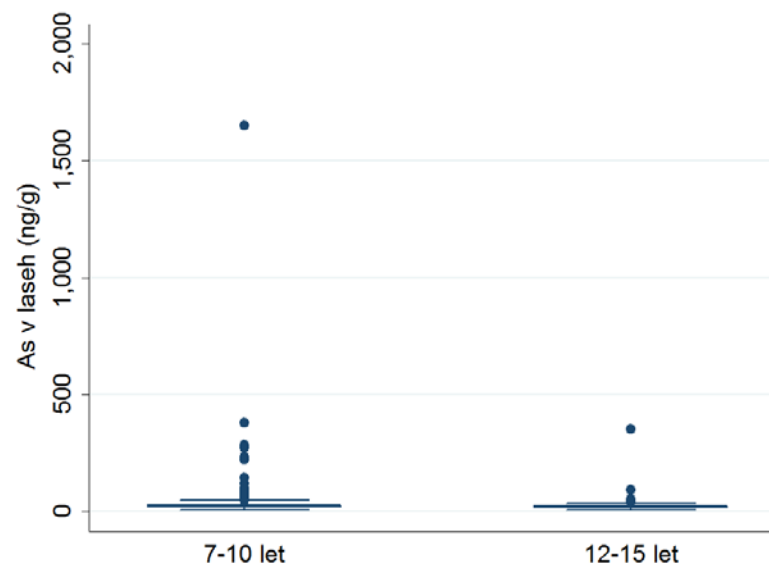
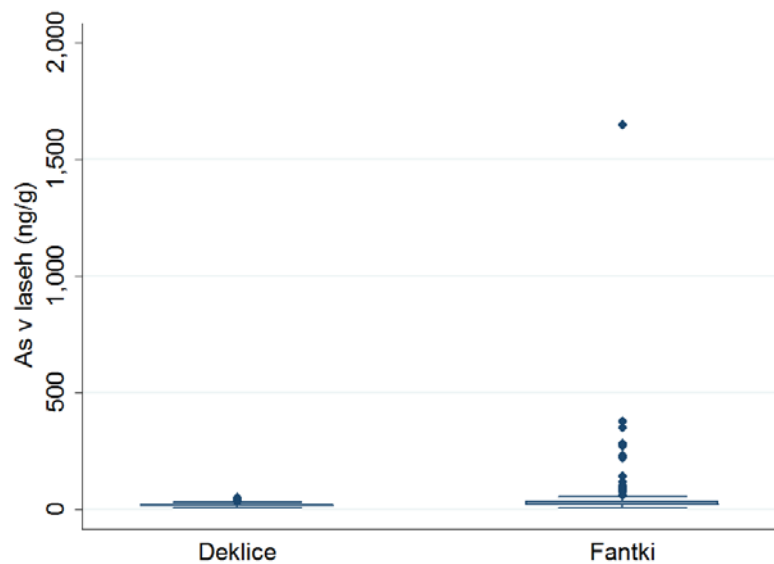
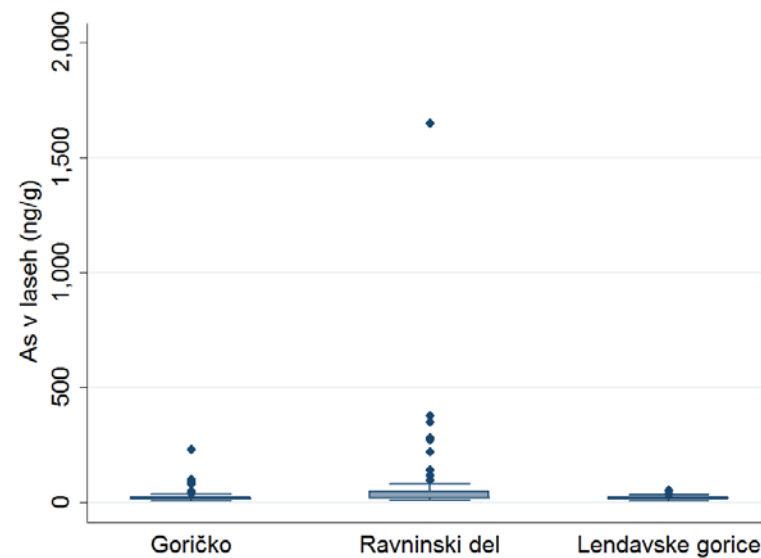
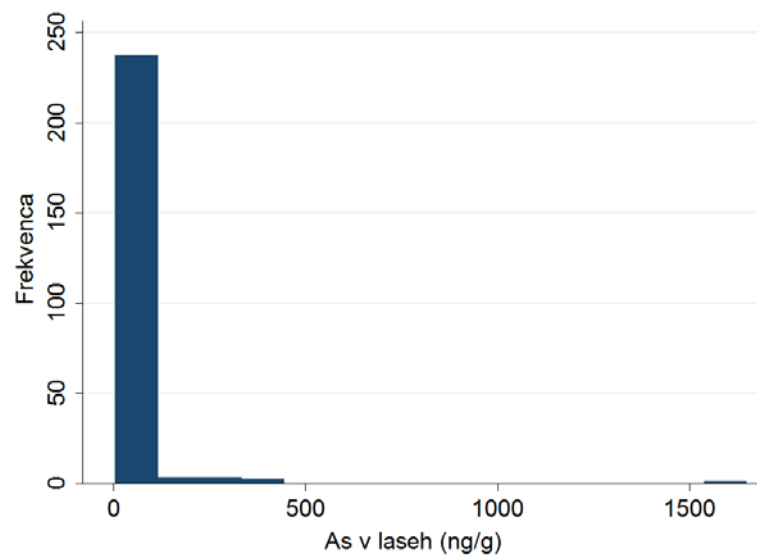
		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		244	20,4	18,0	6,00	1649	9,00	10,0	46,0	92,0
Geografsko območje	Goričko	130	17,8	17,0	6,00	231	8,00	9,0	32,0	46,0
	Ravninski del	63	31,2	20,0	9,00	1649	12,0	13,0	142	283,0
	Lendavske Gorice	51	17,2	17,0	7,00	52,0	8,00	10,0	30,0	36,0
Spol otroka	Dečki	119	25,3	19,0	7,00	1649	8,00	11,0	98,0	231,0
	Deklice	125	16,7	17,0	6,00	49,0	9,00	10,0	28,0	31,0
Starostno območje	7-10 let	149	22,9	18,0	7,00	1649	9,00	10,1	74,0	116
	12-15 let	95	17,0	17,0	6,00	349	8,00	9,0	29,0	32,0

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

Tabela 34. Vsebnosti **arzena v laseh** (ng/g) glede na uživanje rib in ribjih izdelkov.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		246	20,4 (18,5-22,3)	18,0 (18,0-20,0)	6,00	1649	9,00	10,0 (9,00-12,0)	46,0 (32,0-74,0)	92,0 (54,0-222)
Uživanje rib	Manj kot 3 x mesečno	64	20,3 (17,2-23,9)	18,0 (17,0-21,0)	7,00	349	9,00	11,0 (9,00-14,0)	42,0 (31,0-142)	84,0 (40,0-349)
	Več kot 3 x mesečno	182	20,4 (18,2-22,8)	18,0 (18,0-20,0)	6,00	1649	8,94	10,0 (9,00-12,0)	49,0 (32,0-81,0)	98,0 (55,0-273)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja

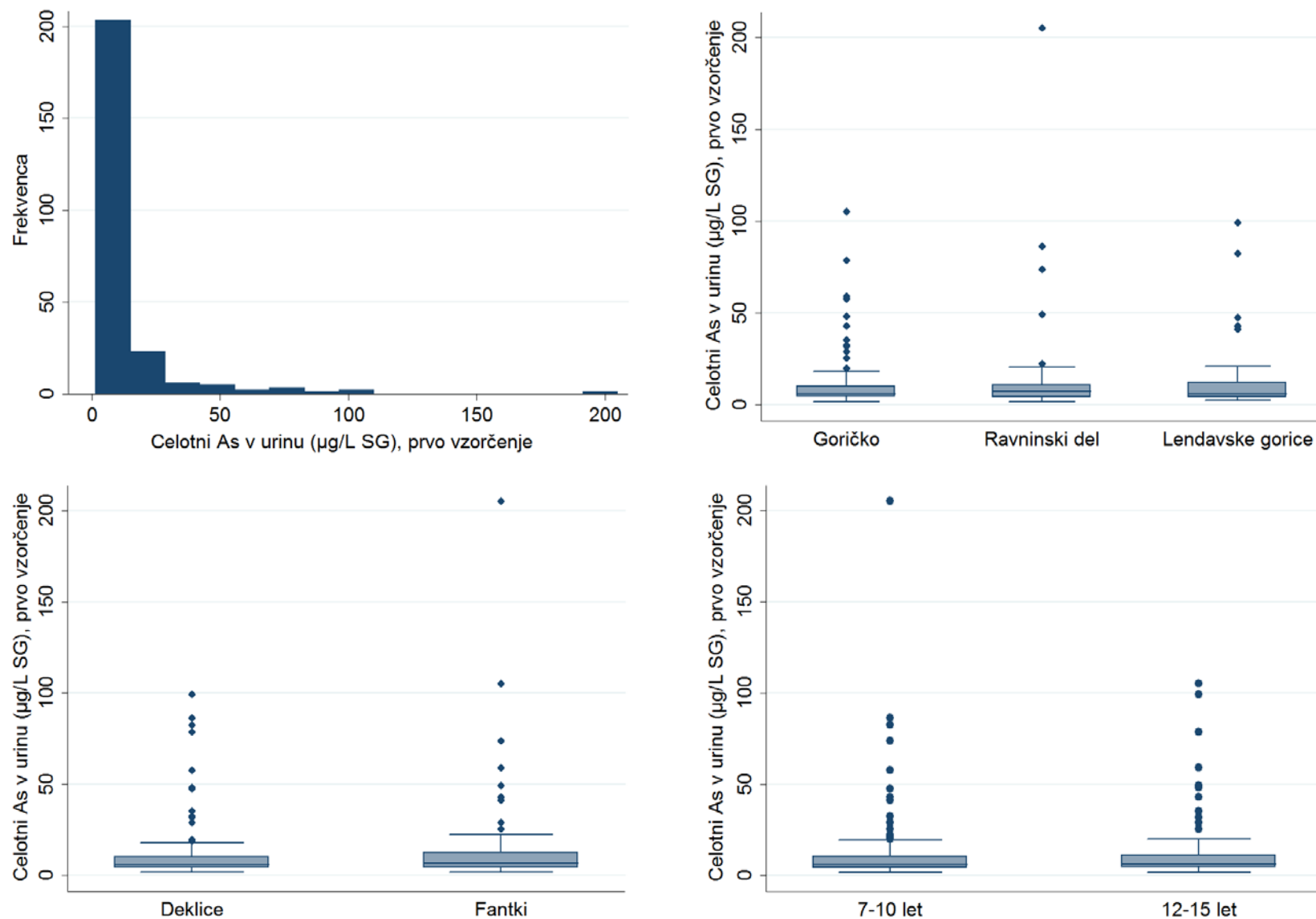


Slika 16: Porazdelitev vsebnosti **arzena v laseh** (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

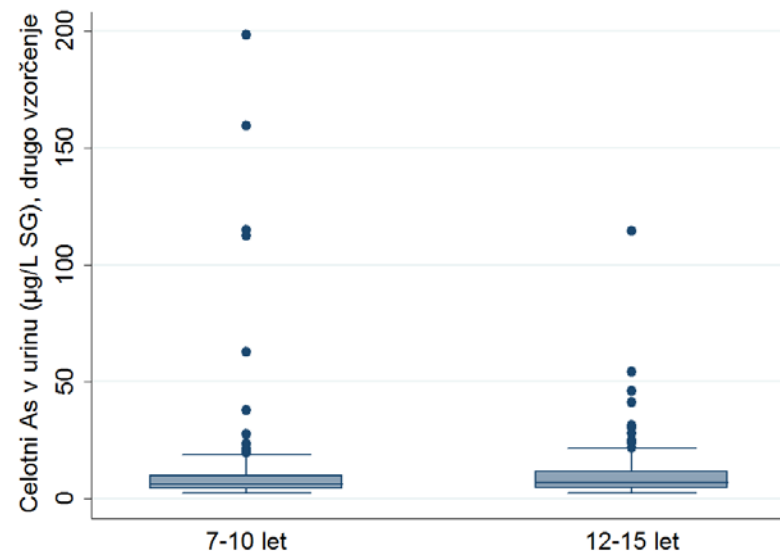
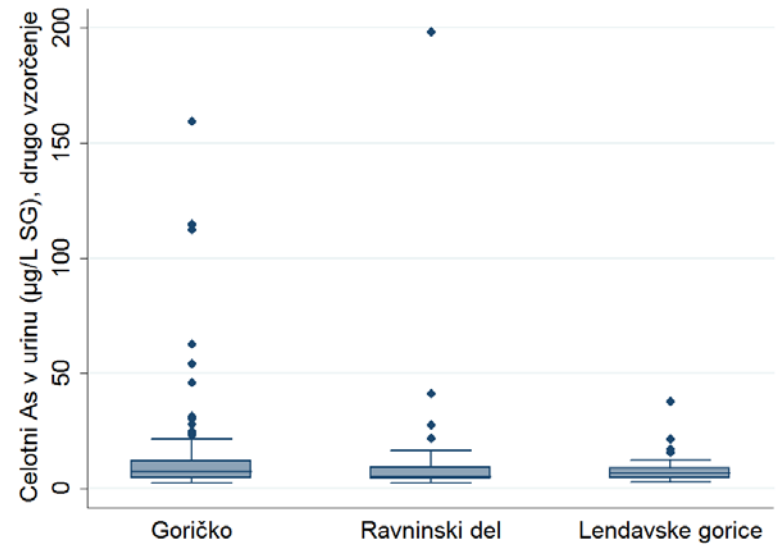
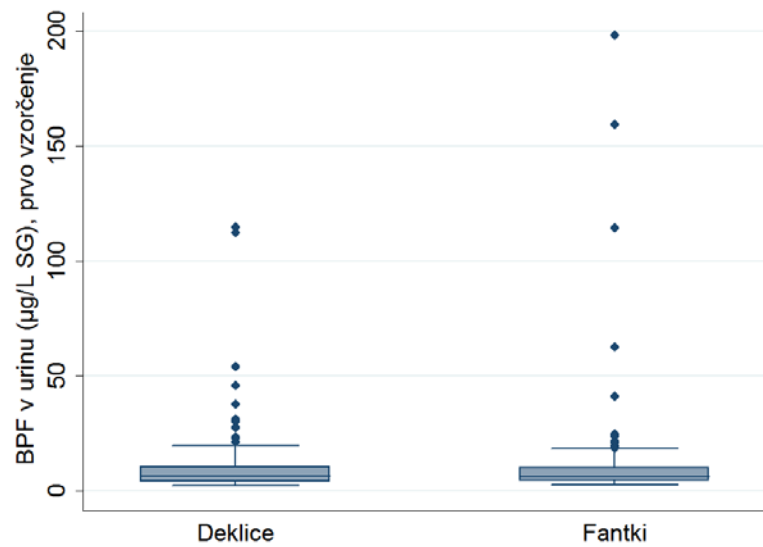
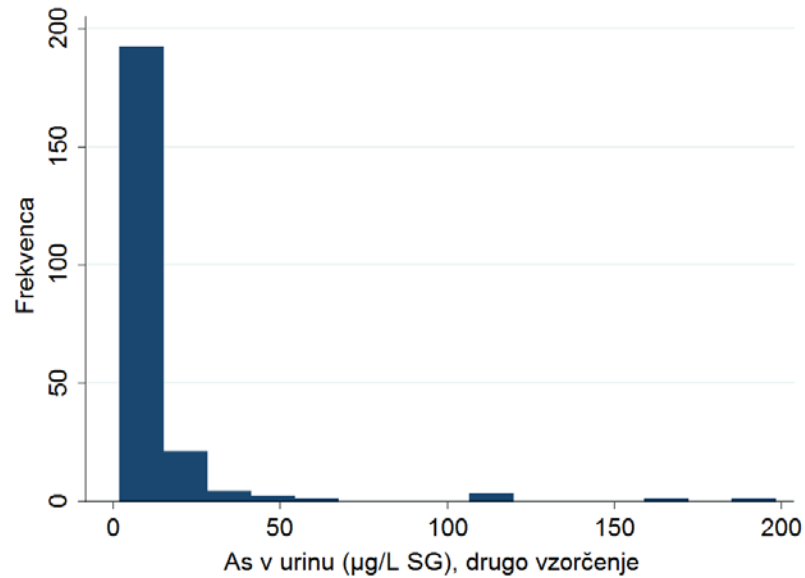
Tabela 35. Vsebnosti **arzena v urinu** ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
PRVO VZORČENJE										
SKUPAJ		244	5,86	4,77	1,34	160,55	1,80	2,35	19,13	29,29
Geografsko območje	Goričko	130	5,43	4,40	1,34	72,79	1,99	2,31	17,21	26,57
	Ravninski del	63	6,42	5,11	1,57	160,55	1,72	2,71	19,13	29,29
	Lendavske Gorice	51	6,35	5,19	1,46	74,61	1,80	2,41	28,01	43,75
Spol otroka	Dečki	119	6,05	4,76	1,46	160,55	1,80	2,17	19,65	29,29
	Deklice	125	5,69	4,95	1,34	78,13	1,82	2,47	17,74	29,03
Starostna skupina	7-10 let	149	6,64	5,44	1,57	160,55	2,08	2,79	21,07	29,29
	12-15 let	95	4,82	3,99	1,34	72,79	1,58	1,99	14,66	29,03
DRUGO VZORČENJE										
SKUPAJ		224	6,01	5,48	1,34	160,55	1,80	2,35	18,32	36,38
Geografsko območje	Goričko	122	6,40	5,71	1,34	72,79	1,99	2,31	24,11	45,01
	Ravninski del	60	5,81	4,62	1,57	160,55	1,72	2,71	18,05	25,41
	Lendavske Gorice	42	5,24	5,66	1,46	74,61	1,80	2,41	12,68	14,48
Spol otroka	Dečki	109	6,26	6,21	1,46	160,55	1,80	2,17	17,63	26,15
	Deklice	115	5,78	4,76	1,34	78,13	1,82	2,47	24,11	38,38
Starostna skupina	7-10 let	139	6,76	5,93	1,57	160,55	2,08	2,79	19,55	48,39
	12-15 let	85	4,95	4,57	1,34	72,79	1,58	1,99	15,46	26,15

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana



Slika 17: Porazdelitev vsebnosti **arzena v urinu** ($\mu\text{g/L}$) za prvo vzorčenje ter vsebnosti za prvo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.



Slika 18: Porazdelitev vsebnosti **arzena v urinu** ($\mu\text{g/L}$) za drugo vzorčenje ter vsebnosti za drugo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 36. Vsebnosti **arzena v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina)** glede na uživanje rib in ribjih izdelkov.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
PRVO VZORČENJE										
SKUPAJ		246	5,87 (5,27-6,55)	4,77 (4,32-5,30)	1,34	161	1,80	2,29 (1,99-2,71)	19,3 (14,7-26,6)	29,3 (23,0-59,8)
Uživanje rib	Manj kot 3 x mesečno	64	4,43 (3,70-5,30)	3,85 (3,29-5,19)	1,34	36,6	1,66	1,80 (1,66-2,47)	10,9 (9,24-19,7)	15,8 (10,6-36,6)
	Več kot 3 x mesečno	182	6,48 (5,69-7,39)	4,99 (4,47-5,90)	1,43	161	2,10	2,60 (2,26-3,13)	22,8 (16,2-29,3)	43,8 (23,3-72,8)
DRUGO VZORČENJE										
SKUPAJ		225	5,97 (5,30-6,73)	5,47 (4,62-6,21)	1,17	140	1,66	2,00 (1,83-2,47)	18,3 (14,5-26,2)	36,4 (22,8-57,6)
Uživanje rib	Manj kot 3 x mesečno	59	5,03 (4,01-6,31)	4,23 (3,63-5,93)	1,29	57,6	1,49	1,92 (1,49-2,69)	13,2 (8,83-54,6)	43,1 (10,1-57,6)
	Več kot 3 x mesečno	166	6,34 (5,51-7,30)	6,02 (5,11-6,89)	1,17	140	1,79	2,09 (1,83-2,54)	18,9 (15,5-26,2)	35,1 (19,6-79,2)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja

Tabela 37. Vsebnosti **arzena v plazmi** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

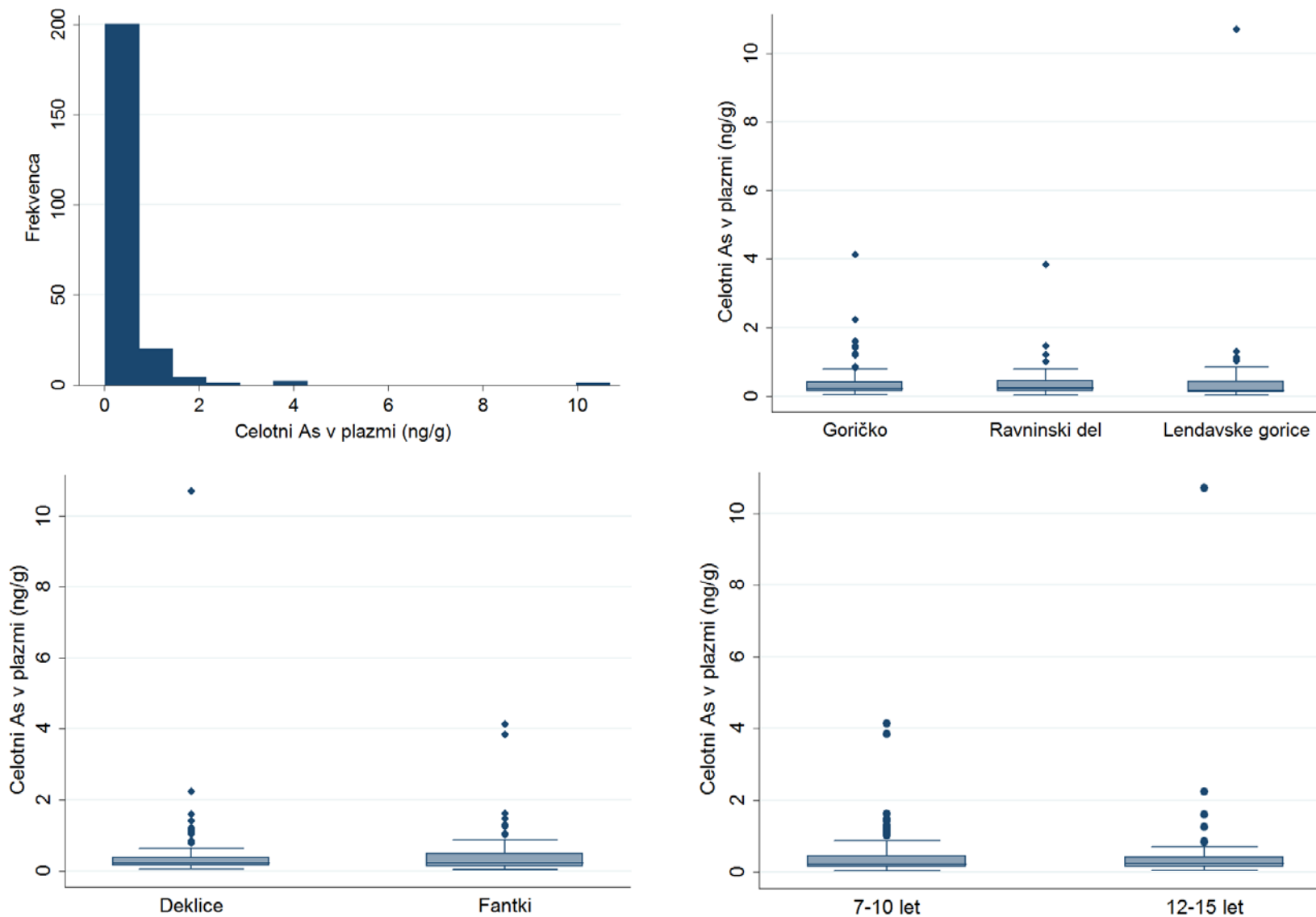
		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		226	0,25	0,21	0,03	10,70	0,08	0,10	0,83	1,25
Geografsko območje	Goričko	120	0,25	0,21	0,05	4,13	0,08	0,11	0,78	1,33
	Ravninski del	59	0,25	0,23	0,03	3,84	0,07	0,09	0,71	1,22
	Lendavske Gorice	47	0,23	0,16	0,04	10,70	0,06	0,08	1,05	1,14
Spol otroka	Dečki	112	0,25	0,22	0,03	4,13	0,07	0,09	0,83	1,30
	Deklice	114	0,24	0,21	0,05	10,70	0,08	0,10	0,79	1,21
Starostno območje	7-10 let	134	0,25	0,21	0,03	4,13	0,07	0,10	1,04	1,30
	12-15 let	92	0,24	0,22	0,05	10,70	0,08	0,10	0,59	0,83

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

Tabela 38. Vsebnosti **arzena v plazmi** (ng/g) glede na uživanje rib in ribjih izdelkov.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		228	0,25 (0,22-0,28)	0,21 (0,18-0,24)	0,03	10,7	0,08	0,10 (0,08-0,11)	0,83 (0,62-1,14)	1,25 (1,02-1,60)
Uživanje rib	Manj kot 3 x mesečno	55	0,20 (0,16-0,24)	0,17 (0,14-0,24)	0,06	2,24	0,07	0,09 (0,07-0,11)	0,60 (0,31-1,41)	1,05 (0,51-2,24)
	Več kot 3 x mesečno	173	0,27 (0,23-0,30)	0,22 (0,20-0,27)	0,03	10,7	0,08	0,10 (0,08-0,11)	0,86 (0,65-1,22)	1,25 (1,04-1,61)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; 95% IZ – interval zaupanja



Slika 19: Porazdelitev vsebnosti **arzena v plazmi** (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

3.3 Esencialni elementi

3.3.1 Selen

Selen (Se) spada med elemente v sledovih, ki so za človeka esencialni. Selen je povezan s številnimi presnovnimi funkcijami v telesu, ker se kot aminokislina selenocistein vgradi v številne selenoproteine (selenoenzime), ki sodelujejo pri antioksidativni zaščiti pred delovanjem reaktivnih kisikovih spojin, pri razstrupljanju strupenih kovin, pri regulaciji redoks procesov v celici, nekateri pa so vključeni v regulacijo presnove hormonov žleze ščitnice (Reilly 2006, ATSDR 2003).

Za odraslega človeka velja, da je priporočen dnevni vnos 55 µg/dan. Priporočen dnevni vnos je višji v obdobju nosečnosti in dojenja, 60 in 70 µg/dan, vrednosti za otroke od 0-6 mesecev pa so 15 µg/dan (DRI 2000). Glavni vir selena za človeka predstavlja hrana. Ker ima selen pomembno preventivno vlogo pri različnih obolenjih, se ga vse pogosteje uživa v obliki različnih prehranskih dopolnil. Meja med esencialnostjo in toksičnostjo pa je pri selenu zelo ozka. Tako se znaki, ki so značilni za pomanjkanje tega elementa pri ljudeh, pojavijo, če je dnevni vnos nižji od 20 µg/dan. Pri dnevnem vnosu nad 400 µg/dan pa se pojavijo znaki, povezani s toksičnostjo (Reilly 2006, Burtis in sod. 2012). Najpogosteje uporabljeno merilo dejanske preskrbljenosti organizma s selenom je koncentracija selena v krvi.

Geometrijska sredina (GM) za **selen v krvi** pri preiskovani populaciji (N=227) otrok starih 7 – 15 let je 86,6 ng/g krvi, 95. percentil 108 ng/g krvi, minimum 59,8 ng/g krvi in maksimum 135 ng/g krvi (Tabela 39, Slika 20). Vsebnosti selena so se minimalno razlikovale po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah (Tabela 39).

Primerjava rezultatov za **selen v krvi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=139, GM=82,3 ng/g, 95. percentil= 106 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).
- US NHANES v letih 2015-2016, N=1023, starost 6-11 let, GM=177 µg/L, 95. percentil=209 µg/L. Starost 12-19 let N=565, GM=192 µg/L, 95. percentil=228 µg/L.

Geometrijska sredina za **selen v plazmi** pri preiskovani populaciji (N=226) otrok starih 7 – 15 let je 68,4 ng/g plazme, 95. percentil 84,9 ng/g plazme, minimum 47,8 ng/g plazme in maksimum 103 ng/g plazme (Tabela 42, Slika 24). Primerjalne vrednosti za Se v plazmi so 60-130 µg/L (Adeli in sod., 2018). Enajst otrok (5 %) je imelo znižane vrednosti Se v plazmi. Vsebnost selena po geografskem območju in spolu so minimalne, nekoliko višja GM je bila pri mlajših otrocih (Tabela 42).

Primerjava rezultatov za **selen v plazmi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=139, GM=65.5 ng/g, 95. percentil= 82 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).
- US NHANES v letih 2013-2014 selen v serumu, N=339, starost 6-11 let, GM=118 µg/L, 95. percentil=142 µg/L. Starost 12-19 let N=418, GM=124 µg/L, 95. percentil=151 µg/L (CDC, 2018).

Geometrijska sredina za **selen v urinu** pri preiskovani populaciji (N=244) otrok je 22,1 µg/g kreatinina pri prvem vzorčenju (minimum 10,6 in maksimum 71,8) in 22,2 µg/g kreatinina pri drugem vzorčenju (minimum 3,36 in maksimum 284,94), vrednost 95. percentila je bila pri prvem vzorčenju 36,4 in pri drugem vzorčenju 58,2 µg/g kreatinina (Tabela 41, Sliki 22 in 23).

Vsebnost selena v urinu se je razlikovala po geografskih območjih pri prvem in drugem vzorčenju, najnižja GM je bila na območju Goriškega. Med spoloma so minimalne razlike, nekoliko višja GM

pri obeh vzorčenjih je bila pri dečkih. V primeru starostnih skupin, so bile višje GM vrednosti selena v urinu pri mlajših otrocih (Tabela 41).

Primerjava rezultatov za **selen v urinu** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=175, GM=11.5 ng/mL, 95. percentil= 35 ng/mL (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Geometrijska sredina za **selen v lasih** pri preiskovani populaciji (N=244) otrok starih 7 – 15 let je 396,0 ng/g krvi, 95. percentil 506 ng/g krvi, minimum 222 ng/g, maksimum 74273 ng/g. Vsebnost selena v lasih so se razlikovale med območji, višje so bile na območju Ravninskega dela in Goriškega (Tabela 40, Slika 21). Med spoloma in starostnimi skupinami so bile nekoliko izražene razlike, višja GM je bila pri deklica in pri mlajši starostni skupini (Tabela 40).

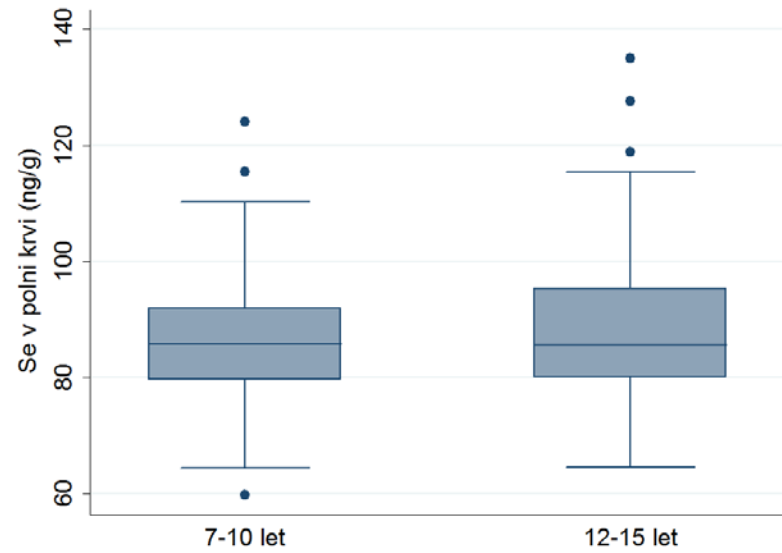
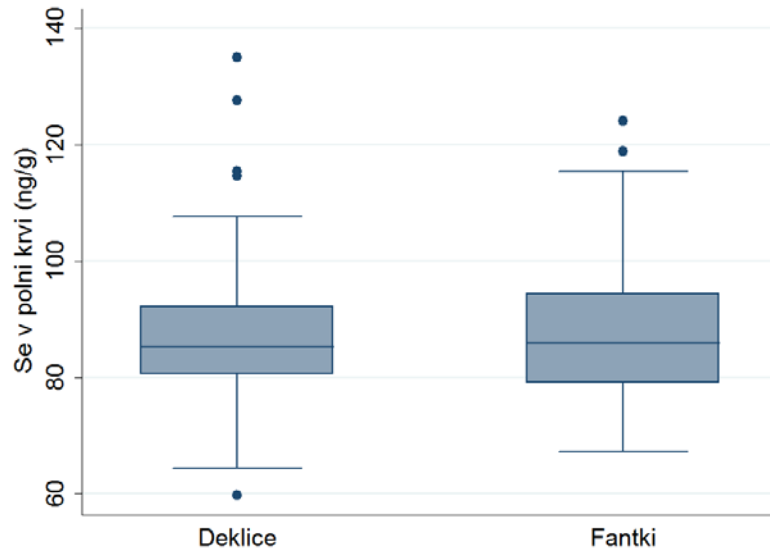
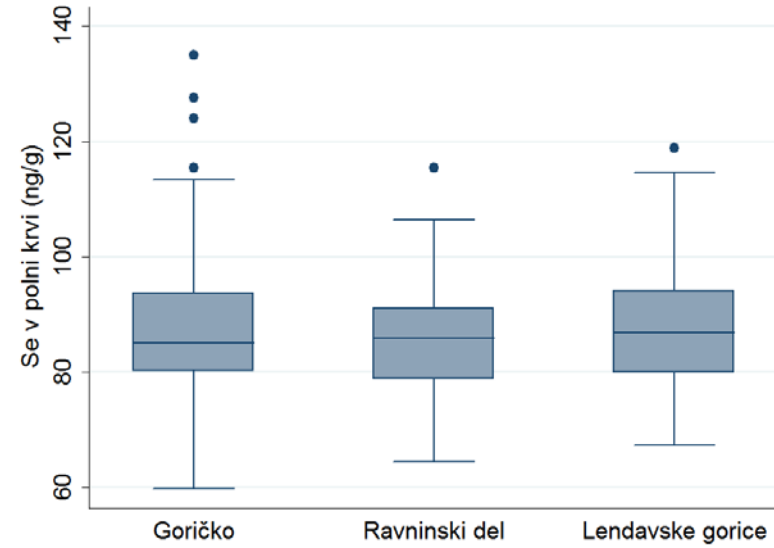
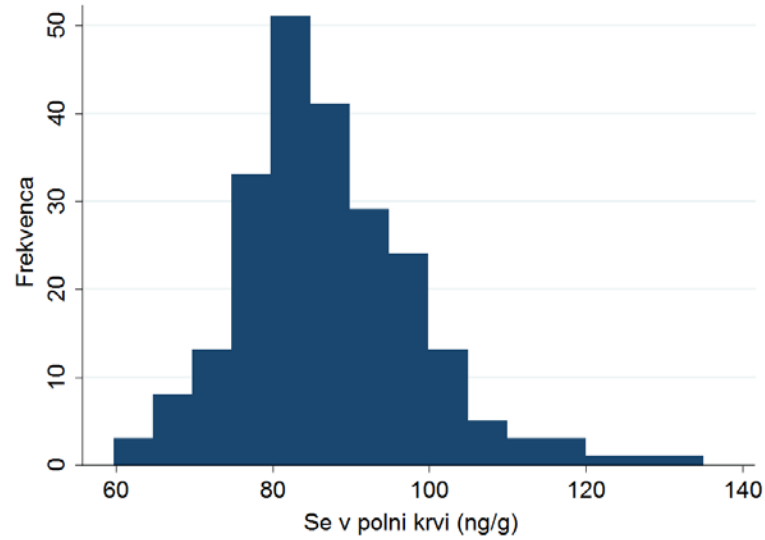
Primerjava rezultatov za **selen v lasih** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=179, GM=403 ng/g, 95. percentil= 559 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Tabela 39. Vsebnosti **sena v krvi** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		227	86,6	85,7	59,8	135	71,4	74,3	103	108
Geografsko območje	Goričko	120	86,7	85,1	59,8	135	70,2	73,9	104	109
	Ravninski del	60	85,9	85,8	64,4	115	71,0	75,3	100	104
	Lendavske Gorice	47	87,5	86,9	67,2	119	74,0	74,3	105	110
Spol otroka	Dečki	112	87,0	86,0	67,2	124	71,4	74,2	103	109
	Deklice	115	86,3	85,2	59,8	135	69,5	75,0	101	105
Starostna skupina	7-10 let	135	85,9	85,7	59,8	124	71,4	74,3	101	105
	12-15 let	92	87,7	86,0	64,5	135	70,9	75,7	104	115

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

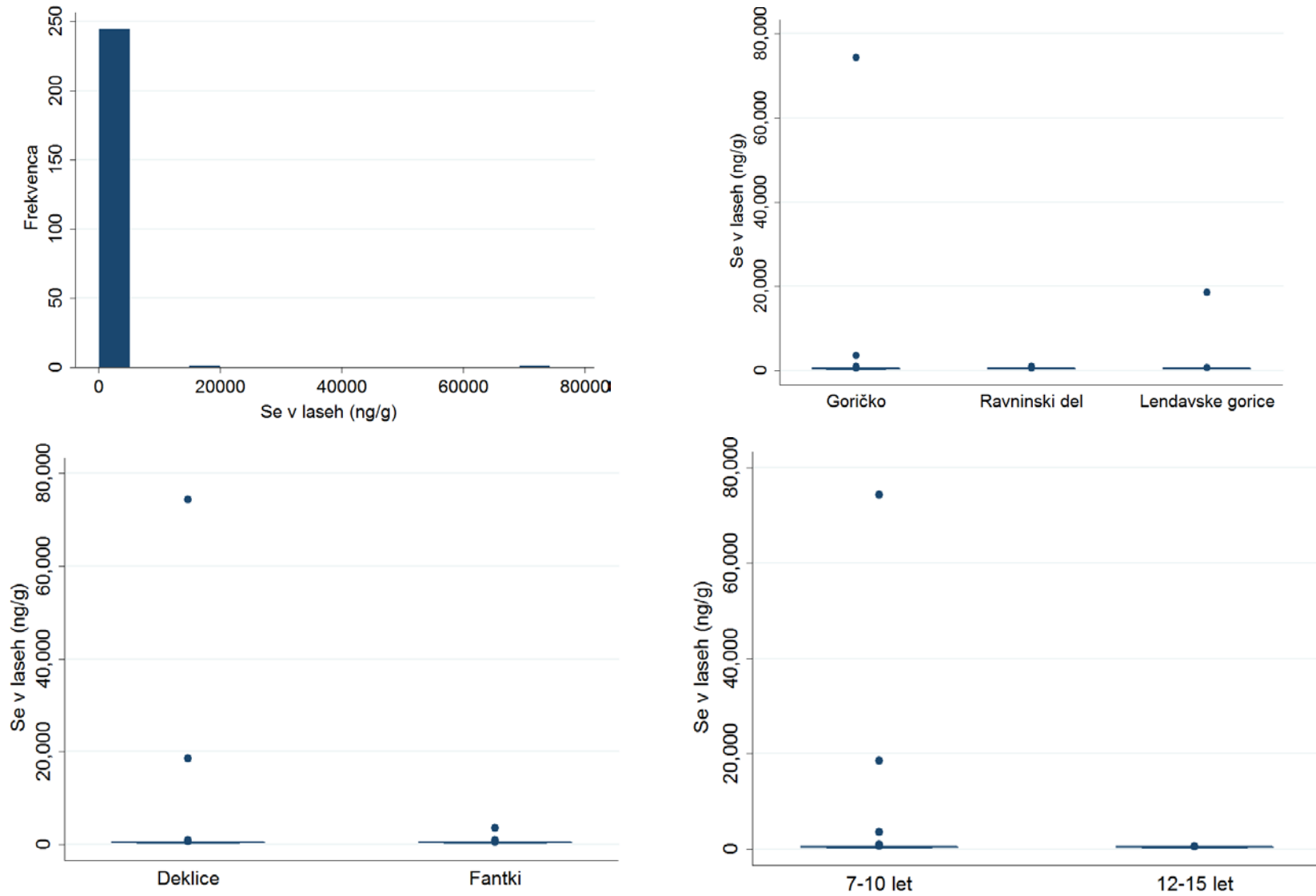


Slika 20: Porazdelitev vsebnosti selena v krvi (ng/g) ter vsebnost glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 40. Vsebnosti **slena v lasih** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		244	396	376	222	74273	294	307	471	506
Geografsko območje	Goričko	130	389	366	222	74273	281	296	466	506
	Ravninski del	63	373	361	294	925	307	316	449	471
	Lendavske Gorice	51	447	419	293	18510	330	355	491	559
Spol otroka	Dečki	119	386	377	269	3557	292	301	468	512
	Deklice	125	406	371	222	74273	296	314	472	506
Starostno območje	7-10 let	149	412	379	222	74273	294	309	471	517
	12-15 let	95	372	371	278	559	293	298	472	496

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

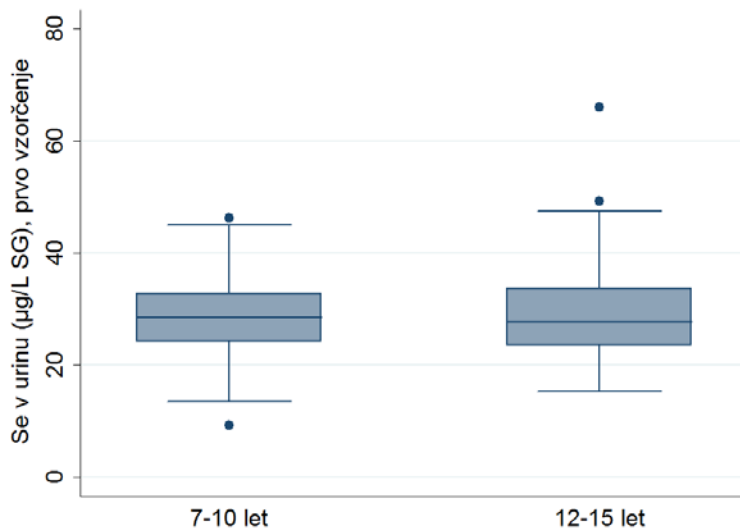
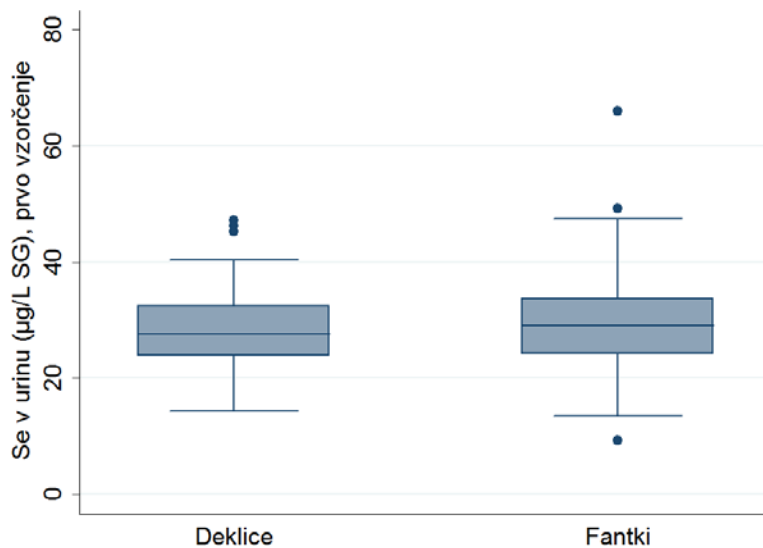
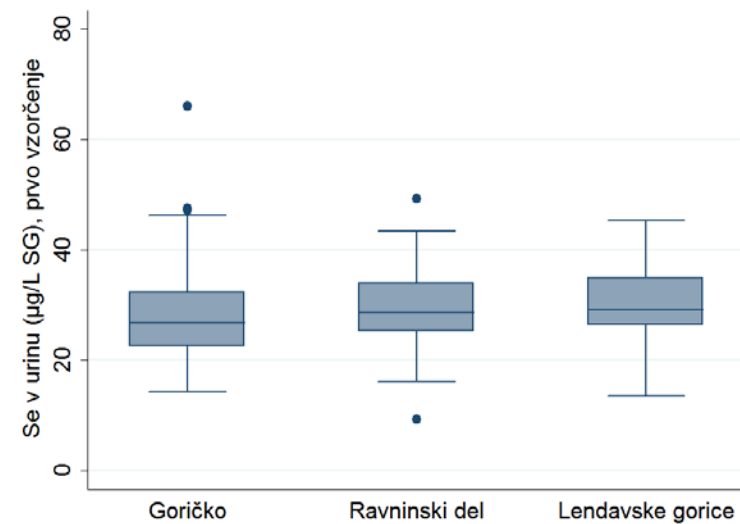
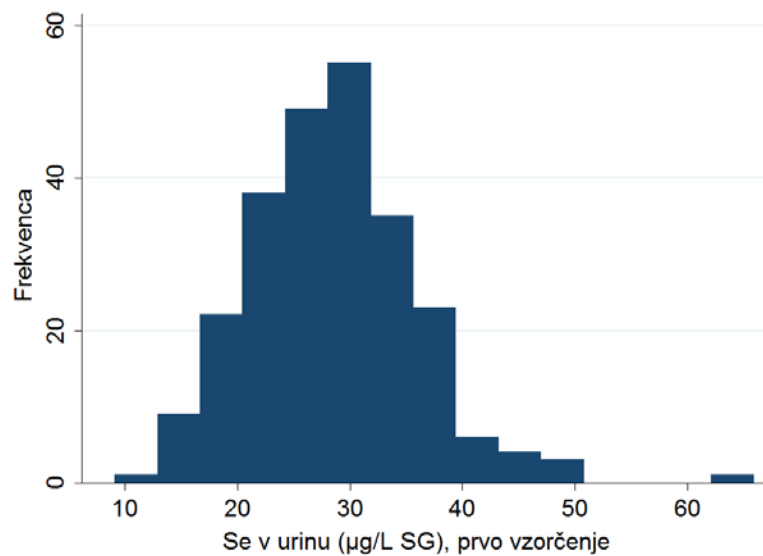


Slika 21: Porazdelitev vsebnosti selena v lasih (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

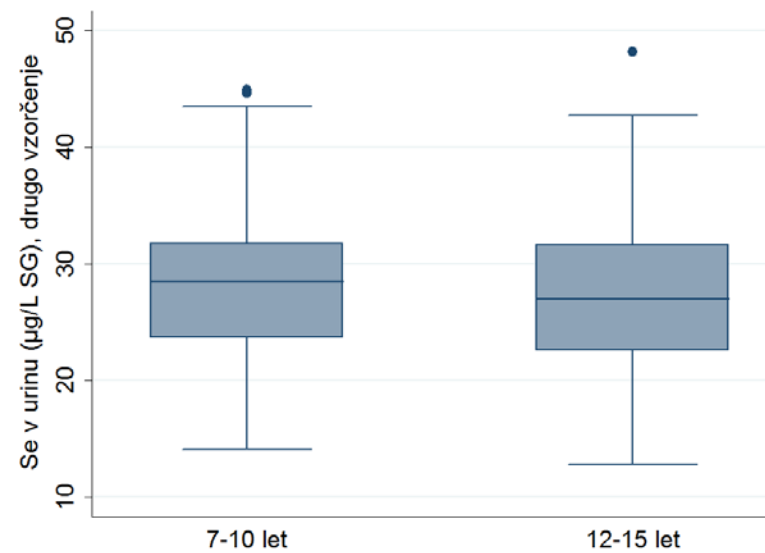
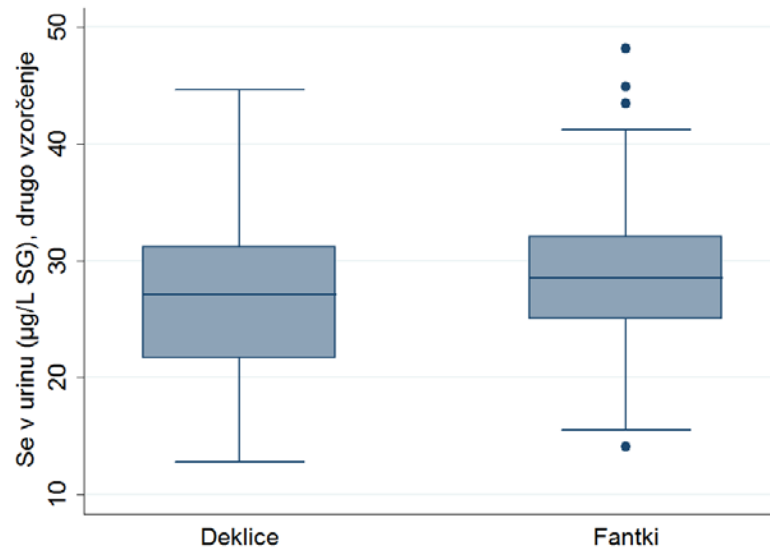
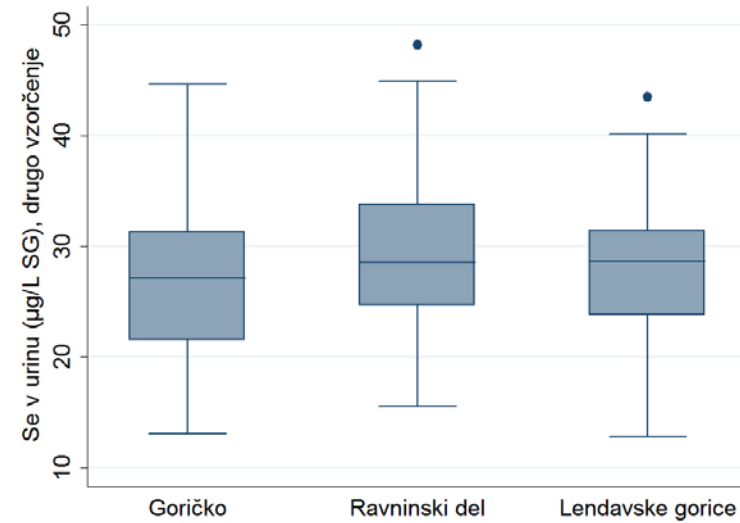
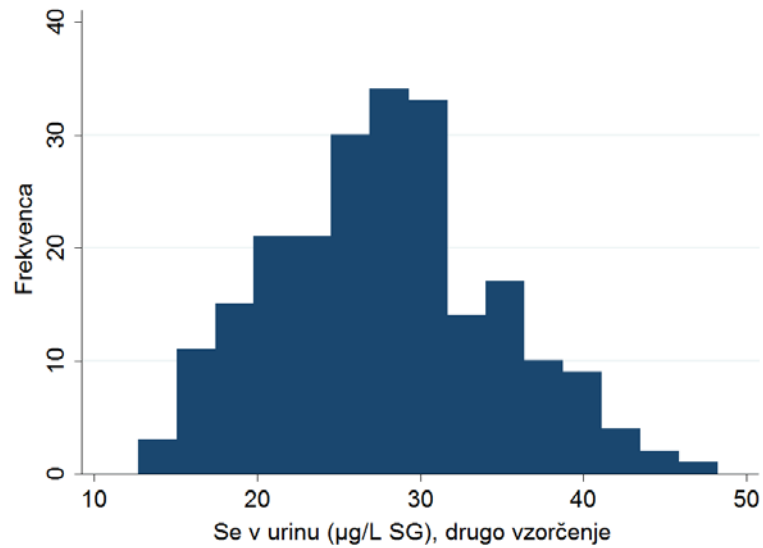
Tabela 41. Vsebnosti selena v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

	N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95	
PRVO VZORČENJE										
SKUPAJ	244	22,1	21,8	10,6	71,8	13,3	14,8	33,0	36,4	
Geografsko območje	Goričko	130	20,1	20,3	10,6	43,0	12,6	13,4	28,8	33,0
	Ravninski del	63	24,2	24,0	14,5	47,7	16,4	18,3	35,6	38,2
	Lendavske Gorice	51	25,0	24,8	13,5	71,8	16,1	17,7	36,4	38,9
Spol otroka	Dečki	119	22,2	21,3	10,6	71,8	12,9	14,3	34,7	36,4
	Deklice	125	22,0	22,1	12,2	49,7	14,1	14,9	30,0	35,4
Starostna skupina	7-10 let	149	25,7	26,0	13,2	71,8	17,3	18,9	35,7	38,9
	12-15 let	95	17,5	17,7	10,6	27,1	12,6	13,0	22,4	24,3
DRUGO VZORČENJE										
SKUPAJ	224	22,2	22,22	3,36	284,94	8,74	10,52	46,42	58,21	
Geografsko območje	Goričko	122	20,6	20,99	3,36	284,94	8,02	9,68	41,86	62,30
	Ravninski del	60	25,8	25,30	7,46	151,61	10,85	12,72	48,31	65,97
	Lendavske Gorice	42	22,1	20,95	6,47	99,96	8,74	11,29	49,20	51,95
Spol otroka	Dečki	109	23,4	23,15	7,19	151,61	8,02	10,60	46,54	55,98
	Deklice	115	21,1	21,22	3,36	284,94	8,78	10,08	46,42	63,95
Starostna skupina	7-10 let	139	26,5	25,48	8,39	284,94	10,90	12,88	51,95	65,97
	12-15 let	85	16,6	17,68	3,36	78,36	7,52	8,02	32,52	45,00

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana



Slika 22: Porazdelitev vsebnosti **arzena v urinu** ($\mu\text{g/L SG}$) za prvo vzorčenje ter vsebnosti za prvo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

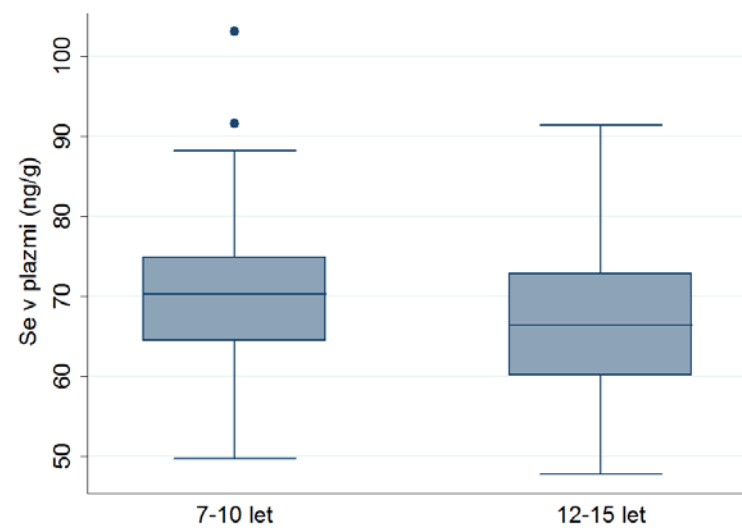
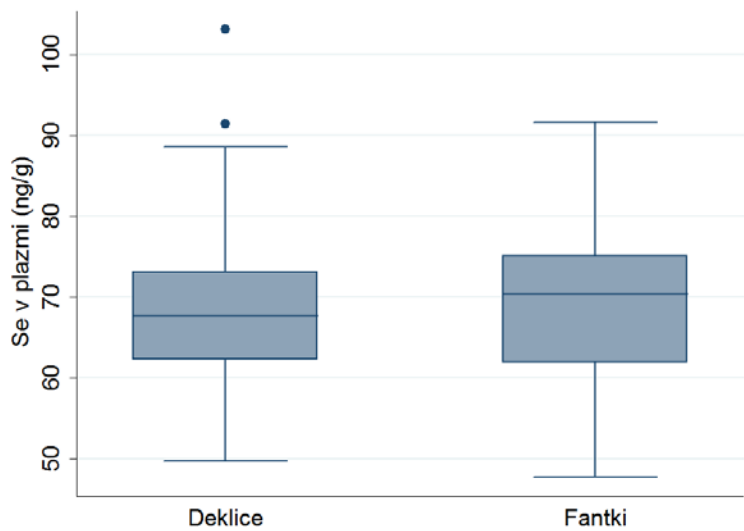
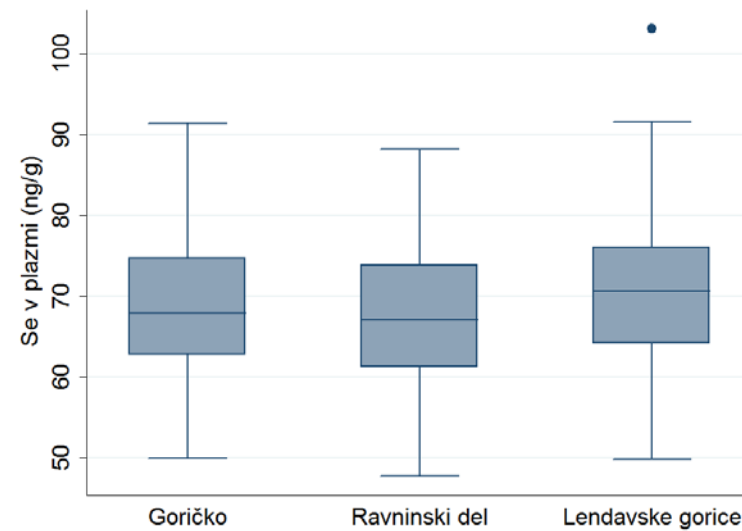
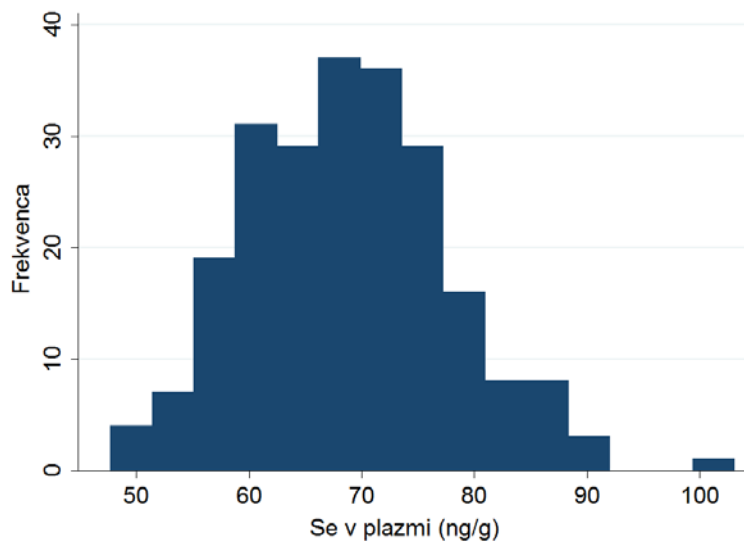


Slika 23: Porazdelitev vsebnosti **arzena v urinu** ($\mu\text{g/L SG}$) za drugo vzorčenje ter vsebnosti za drugo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 42. Vsebnosti **sena v plazmi** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		226	68,4	68,3	47,8	103	56,0	57,8	80,6	84,9
Geografsko območje	Goričko	120	68,4	68,2	52,8	91,4	55,7	57,5	80,8	84,8
	Ravninski del	59	67,1	67,1	47,8	88,3	54,7	59,1	76,9	86,1
	Lendavske Gorice	47	70,4	70,7	49,8	103	57,2	59,3	82,4	86,2
Spol otroka	Dečki	112	68,9	70,7	47,8	91,6	56,5	58,0	80,2	83,4
	Deklice	114	68,0	67,6	49,7	103	56,0	57,8	80,9	86,2
Starostno območje	7-10 let	134	69,5	70,4	49,7	103	56,0	59,3	78,6	84,9
	12-15 let	92	66,9	66,7	47,8	91,4	55,3	57,2	80,7	85,3

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana



Slika 24: Porazdelitev vsebnosti **sena v plazmi** (ng/g) ter vsebnost glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

3.3.2 Baker

Baker (Cu) je esencialen mikro-element za človeka, kar je v primeru pomanjkanja ali presežka povezano s številnimi boleznimi. Za odraslega človeka velja, da je priporočen dnevni vnos 900 µg/dan. Priporočen dnevni vnos je višji v obdobju nosečnosti in dojenja, 1000 in 1300 µg/dan, vrednosti za otroke od 0-6 mesecev pa so 200 µg/dan (DRI 2001). Glavni vir bakra za človeka je hrana. Vsebnost bakra v hrani je močno variabilna in je odvisna tako od vsebnosti bakra v okolju, kjer je bila hrana pridelana, kot tudi od vrste živil. Povišane koncentracije so lahko posledica geološke sestave ali pa antropogenega onesnaženja (industrija, rudniki, odlagališča, uporaba gnojil in fungicidov, ki vsebujejo baker...). Znaki povezani s toksičnostjo se lahko pojavijo pri dnevnem vnosu višjem od 10000 µg/dan (DRI 2001). Baker je močno povišan na območjih intenzivnega vinogradništva in sadjarstva zaradi povečane uporabe modre galice. Na podlagi poročila o onesnaženosti tal ugotavljajo, da so v Sloveniji na posameznih področjih izmerjene kritične vrednosti naslednjih elementov: arzena, kroma, bakra, niklja in cinka (Zupan in sod., 2006).

Najpogosteje uporabljeno merilo dejanske preskrbljenosti organizma z bakrom je koncentracija v serumu. V okviru te raziskave smo se zaradi možnosti multielementne analize z ICPMS poleg določitev Pb, Cd in As v polni krvi, odločili še za določitve esencialnih elementov Se, Cu in Zn v polni krvi, čeprav za zadnja dva velja, da je najpogosteje uporabljena matrica serum.

Geometrijska sredina (GM) za **baker v krvi** pri preiskovani populaciji (N=227) otrok starih 7 – 15 let je 836 ng/g krvi, 95. percentil 1079 ng/g krvi, minimum 595 ng/g krvi in maksimum 1335 ng/g krvi (Tabela 43, Slika 25). Vsebnosti bakra so se minimalno razlikovale po spolu. Glede na opazovana geografska območja so bile najvišje GM na ravninskem delu. Prav tako so imeli višjo GM otroci iz mlajše starostne skupine (Tabela 43).

Primerjava rezultatov za **bakra v krvi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=139, GM=674 ng/g, 95. percentil= 861 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Geometrijska sredina za **baker v plazmi** pri preiskovani populaciji (N=226) otrok starih 7 – 15 let je 1015 ng/g plazme, 95. percentil 1397 ng/g plazme, minimum 614 ng/g plazme in maksimum 1786 ng/g plazme (Tabela 46, Slika 29). Primerjalne vrednosti za Cu v plazmi so 800-1400 µg/L (Lin in sod., 2012). Dvajset otrok (9 %) je imelo znižane vrednosti Cu v plazmi. Trije otroci pa so imeli Cu v plazmi presežen. Vsebnost bakra (GM) glede na geografsko območje so bile najnižje na območju Goriškega. Nekoliko viške vrednosti GM so bile pri deklicah in pri mlajših otrocih (Tabela 46).

Primerjava rezultatov za **baker v plazmi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=139, GM=864 ng/g, 95. percentil= 1094 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).
- US NHANES v letih 2013-2014 baker v serumu, N=339, starost 6-11 let, GM=119 µg/L, 95. percentil=157 µg/L. Starost 12-19 let N=418, GM=106 µg/L, 95. percentil=164 µg/L (CDC, 2018)

Geometrijska sredina za **baker v laseh** pri preiskovani populaciji (N=244) otrok starih 7 – 15 let je 10931 ng/g krvi, 95. percentil 20848 ng/g krvi, minimum 4880 ng/g, maksimum 79787 ng/g. Vsebnost bakra v laseh so se razlikovale med območji, višje so bile na območju Ravninskega dela in Goriškega (Tabela 44, Slika 26). Med spoloma in starostnimi skupinami so bile nekoliko izražene razlike, višja GM je bila pri deklica in pri starejši starostni skupini (Tabela 44).

Primerjava rezultatov za **bakra v lasih** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=179, GM=11644 ng/g, 95. percentil= 29562 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Geometrijska sredina za **bakra v urinu** pri preiskovani populaciji (N=244) otrok je 9,71 µg/g kreatinina pri prvem vzorčenju (minimum 3,88 in maksimum 32,74) in 10,1 µg/g kreatinina pri drugem vzorčenju (minimum 1,55 in maksimum 190), vrednost 95. percentila je bila pri prvem vzorčenju 16,3 in pri drugem vzorčenju 30,3µg/g kreatinina (Tabela 45, Sliki 27 in 28).

Vsebnost bakra v urinu se je minimalno razlikovala po geografskih območjih pri prvem vzorčenju je bila najnižja GM na območju Goriškega in drugem vzorčenju na območju Lendavskih Goric. Med spoloma so minimalne razlike, nekoliko višja GM pri prvem vzorčenju je bila pri deklicah ter pri drugem vzorčenju pri dečkih. V primeru starostnih skupin, so bile višje GM vrednosti bakra v urinu pri mlajših otrocih (od 7 do 10 let) (Tabela 45).

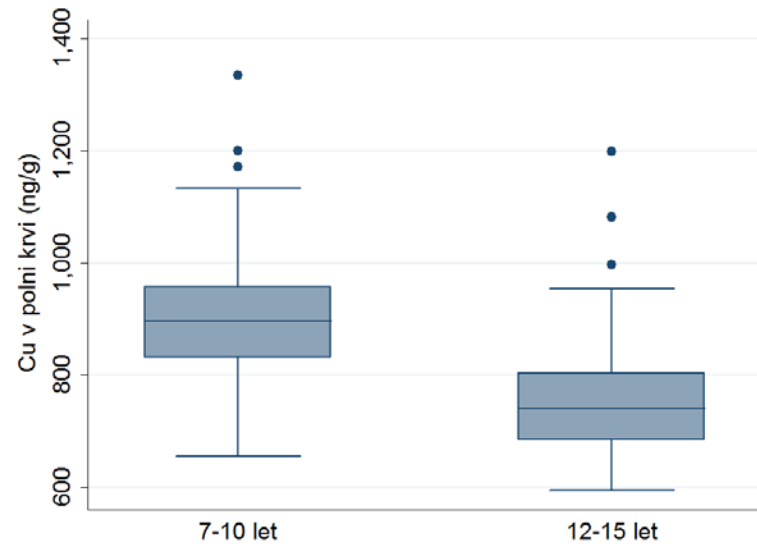
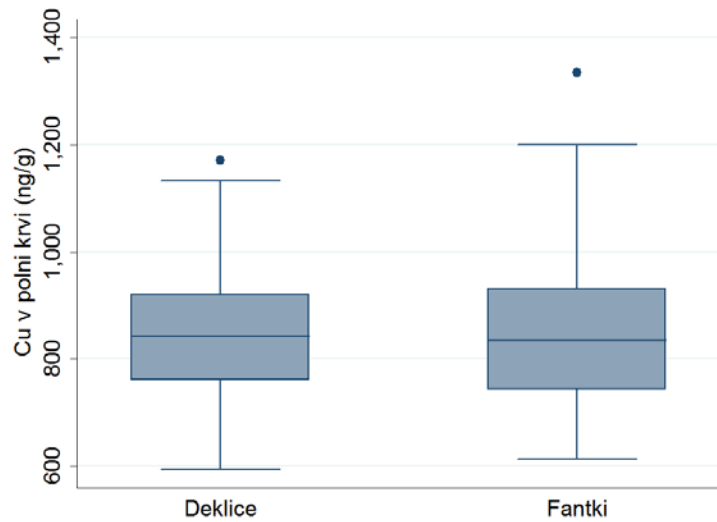
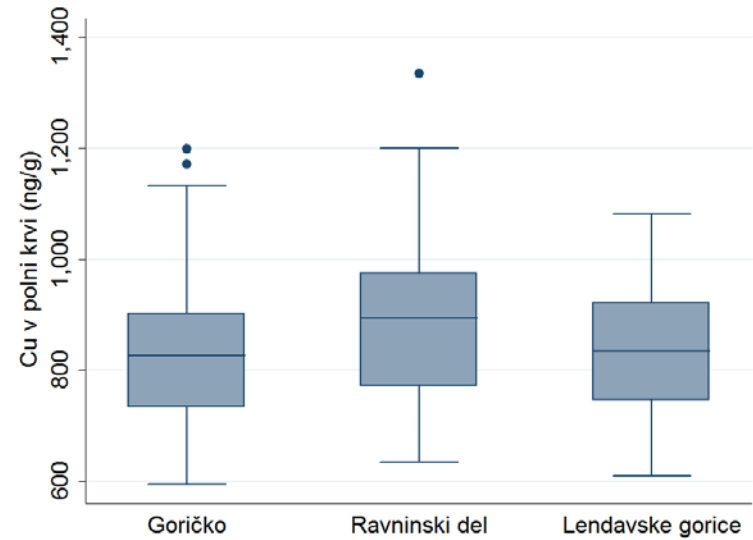
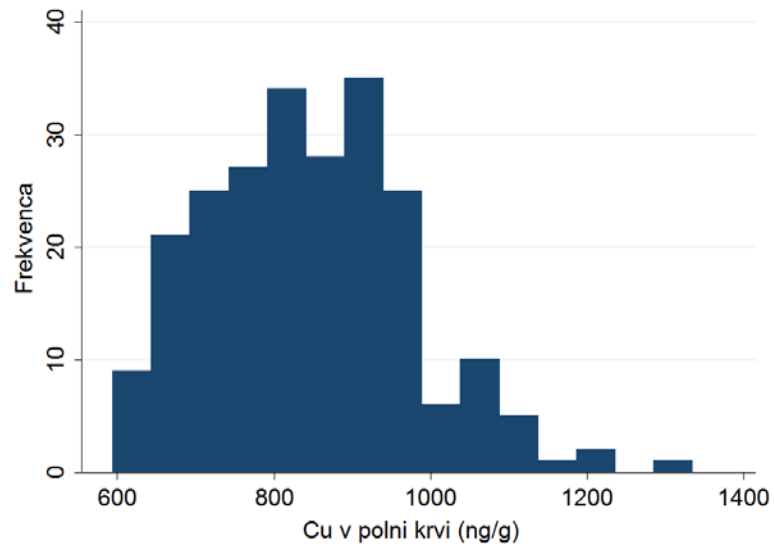
Primerjava rezultatov za **baker v urinu** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=175, GM=3,80 ng/mL, 95. percentil= 20,2 ng/mL (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Tabela 43. Vsebnosti **bakra v krvi** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		227	836	842	595	1335	653	678	991	1079
Geografsko območje	Goričko	120	816	827	595	1199	644	665	956	1040
	Ravninski del	60	884	895	634	1335	678	708	1082	1111
	Lendavske Gorice	47	829	837	609	1082	648	692	962	991
Spol otroka	Dečki	112	837	839	613	1335	653	678	991	1082
	Deklice	115	836	843	595	1171	648	678	990	1076
Starostna skupina	7-10 let	135	897	896	655	1335	738	773	1061	1103
	12-15 let	92	754	743	595	1199	623	648	897	935

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

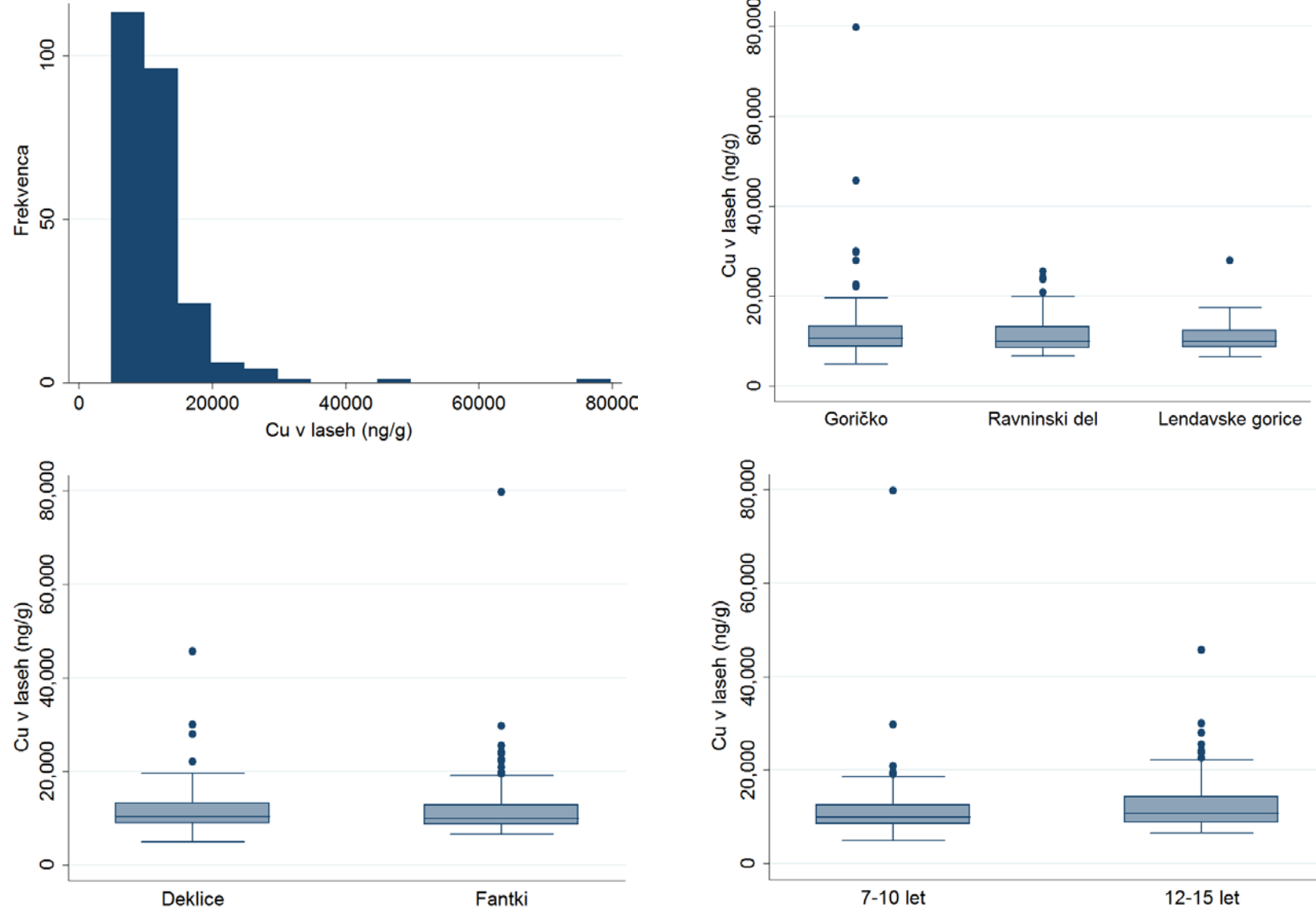


Slika 25: Porazdelitev vsebnosti **bakra v krvi** (ng/g) ter vsebnost glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 44. Vsebnosti **bakra v lasih** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		244	10931	10236	4880	79787	7051	7506	17014	20848
Geografsko območje	Goričko	130	11164	10559	4880	79787	6814	7462	17621	22240
	Ravninski del	63	10942	9950	6601	25426	7506	7848	18477	20848
	Lendavske Gorice	51	10349	10031	6495	27981	6897	7235	15430	16073
Spol otroka	Dečki	119	10835	9950	6495	79787	7033	7440	17387	22581
	Deklice	125	11024	10348	4880	45721	7111	7599	16986	19028
Starostno območje	7-10 let	149	10471	9861	4880	79787	6897	7409	15783	17859
	12-15 let	95	11694	10751	6557	45721	7229	7618	22055	25426

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

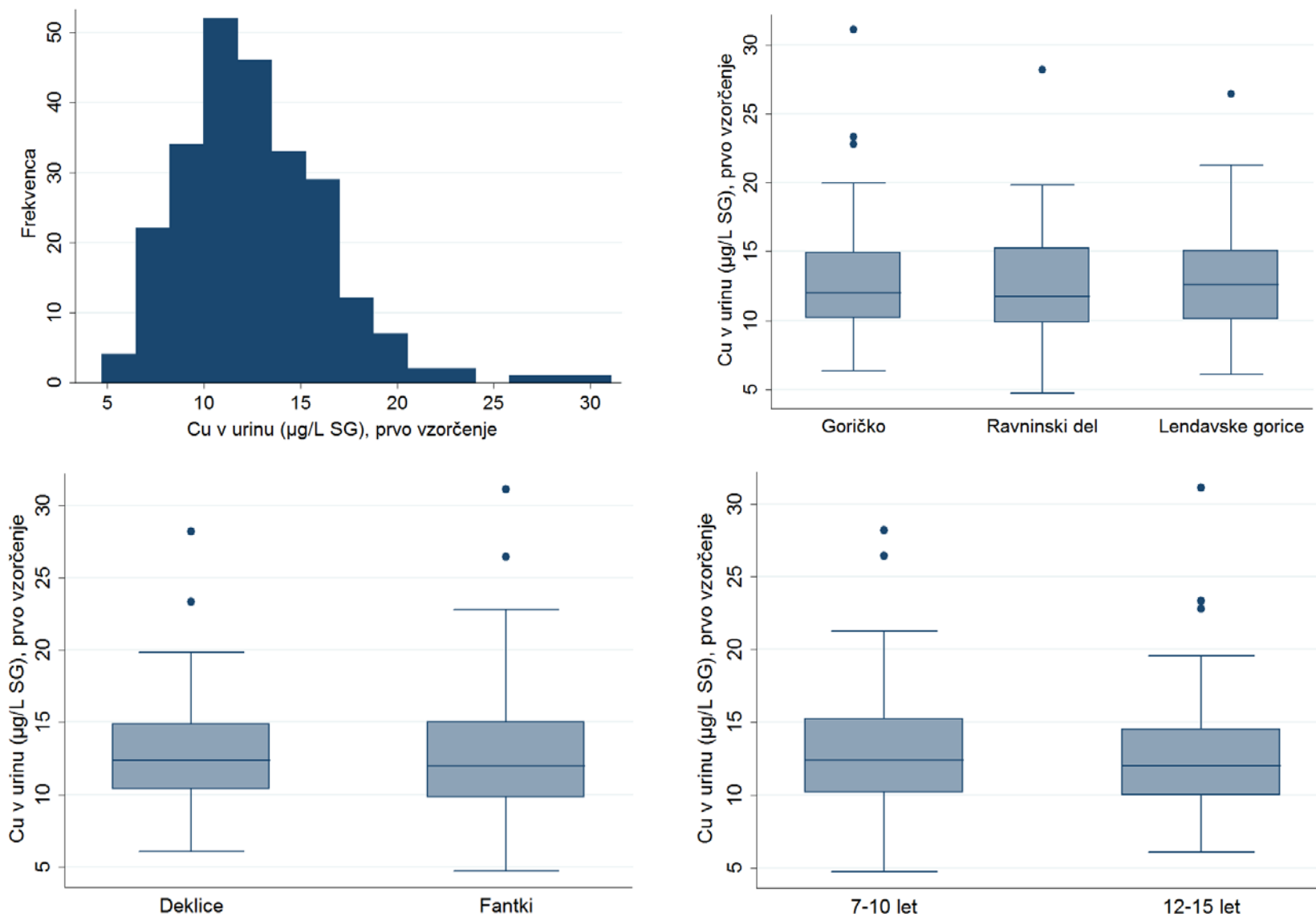


Slika 26: Porazdelitev vsebnosti **bakra v lasih** (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

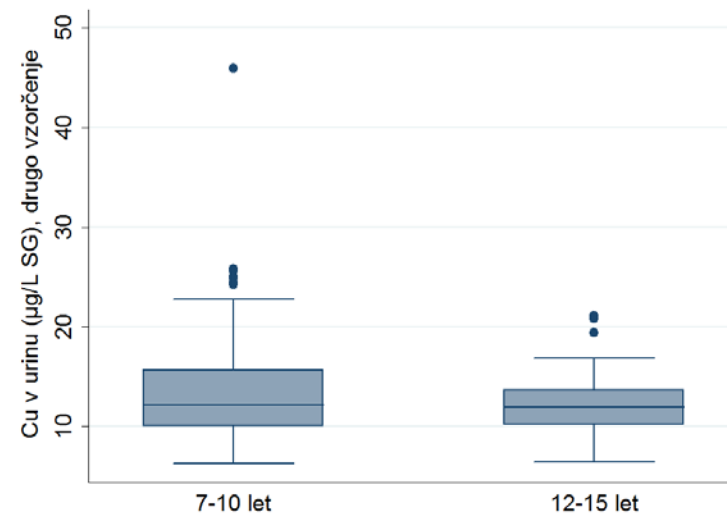
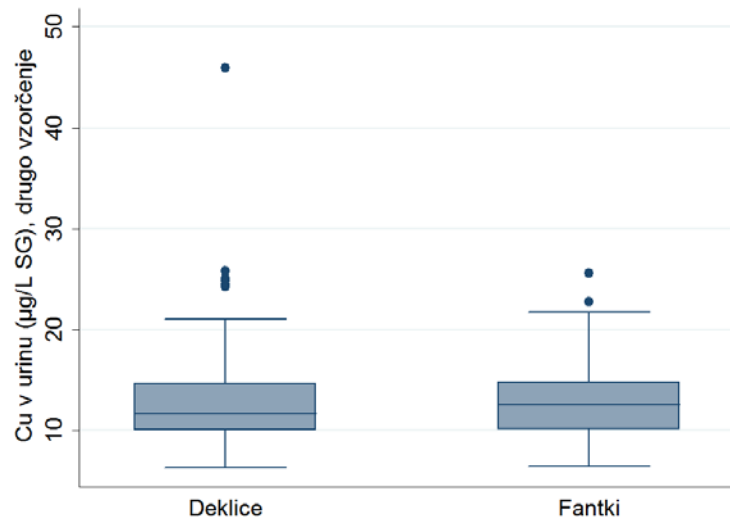
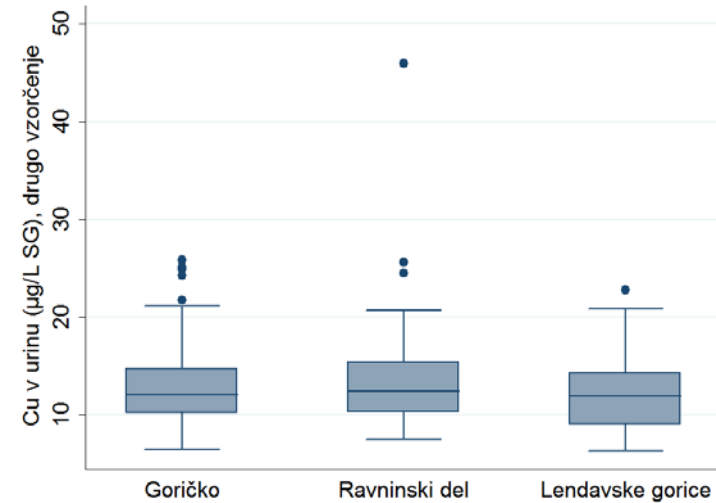
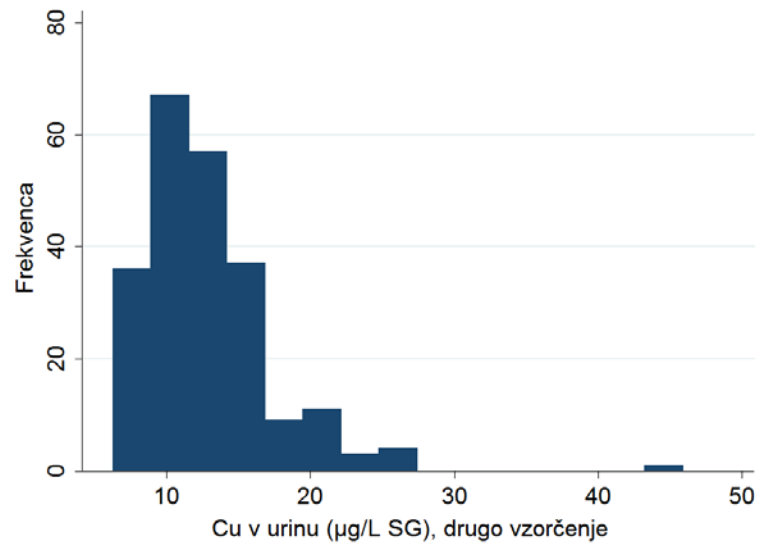
Tabela 45. Vsebnosti **bakra v urinu** ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

	N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95	
PRVO VZORČENJE										
SKUPAJ	244	9,71	9,81	3,88	32,7	5,99	6,49	14,4	16,3	
Geografsko območje	Goričko	130	9,19	9,16	4,23	24,0	5,53	6,05	14,2	16,3
	Ravninski del	63	10,2	10,4	5,59	22,8	6,32	6,75	14,4	15,2
	Lendavske Gorice	51	10,5	10,6	3,88	32,7	6,27	6,94	14,4	21,2
Spol otroka	Dečki	119	9,53	9,81	3,88	32,7	5,32	6,32	14,1	16,3
	Deklice	125	9,89	9,80	4,62	24,0	6,09	6,52	14,5	16,8
Starostna skupina	7-10 let	149	11,5	11,1	6,10	32,7	7,80	8,69	16,1	17,5
	12-15 let	95	7,48	7,33	3,88	16,6	4,83	5,59	10,6	11,6
DRUGO VZORČENJE										
SKUPAJ	224	10,1	9,74	1,55	190	3,93	4,79	23,5	30,3	
Geografsko območje	Goričko	122	9,54	9,33	1,55	190	3,59	4,45	22,8	29,5
	Ravninski del	60	11,8	10,7	3,93	71,7	4,75	5,67	28,5	40,2
	Lendavske Gorice	42	9,42	10,1	2,96	51,3	3,72	4,93	21,1	24,0
Spol otroka	Dečki	109	10,4	9,98	2,54	71,7	4,07	5,28	23,5	27,2
	Deklice	115	9,73	9,65	1,55	190	3,59	4,45	24,4	31,4
Starostna skupina	7-10 let	139	12,1	11,2	2,96	190	5,17	5,75	27,2	38,4
	12-15 let	85	7,47	7,51	1,55	39,7	3,41	3,93	15,2	19,4

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana



Slika 27: Porazdelitev vsebnosti **bakra v urinu** ($\mu\text{g/L SG}$) za prvo vzorčenje ter vsebnost za prvo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

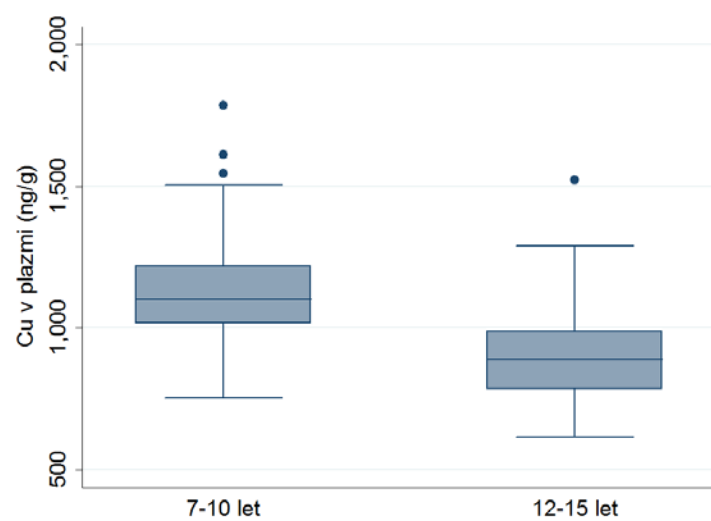
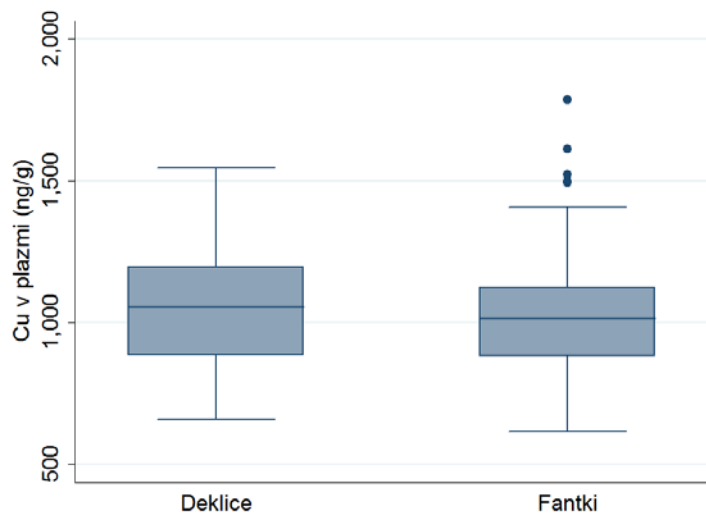
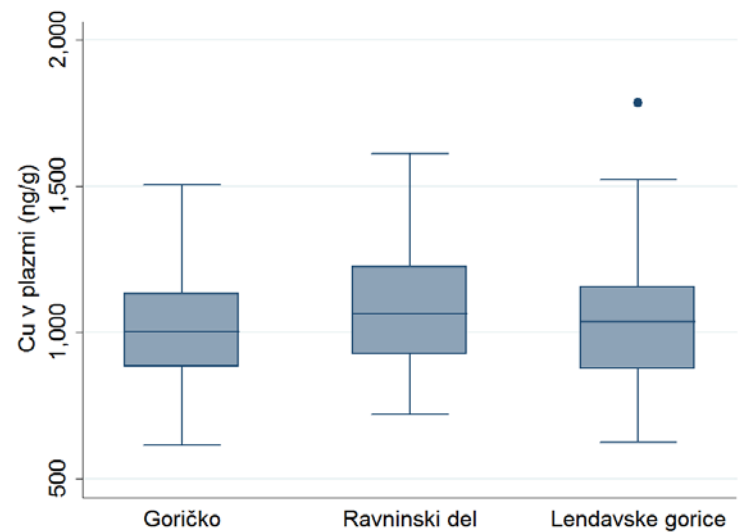
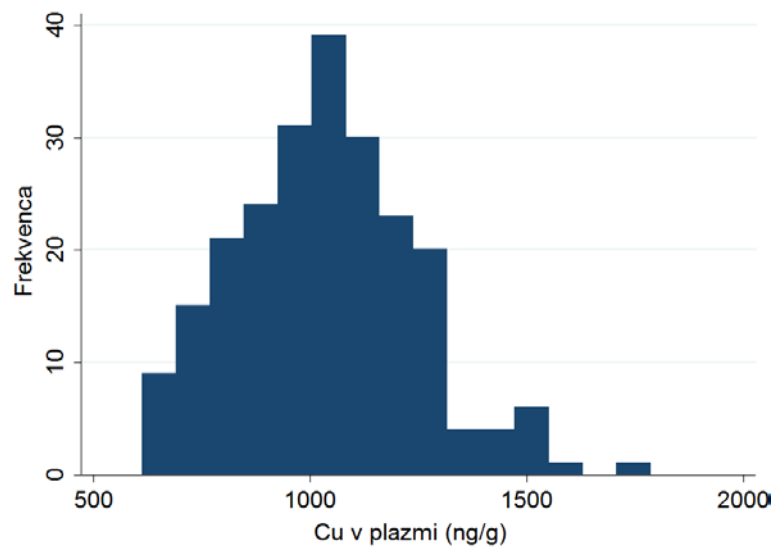


Slika 28: Porazdelitev vsebnosti **bakra v urinu** ($\mu\text{g/L SG}$) za drugo vzorčenje ter vsebnost za drugo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 46. Vsebnosti **bakra v plazmi** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		226	1015	1026	614	1786	711	770	1286	1397
Geografsko območje	Goričko	120	990	1004	614	1506	685	735	1246	1333
	Ravninski del	59	1059	1064	719	1613	771	786	1290	1496
	Lendavske Gorice	47	1026	1043	625	1786	736	752	1326	1403
Spol otroka	Dečki	112	1006	1017	614	1786	721	770	1273	1408
	Deklice	114	1024	1054	658	1546	686	771	1286	1333
Starostno območje	7-10 let	134	1111	1101	752	1786	846	920	1333	1490
	12-15 let	92	890	897	614	1522	661	706	1158	1224

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana



Slika 29: Porazdelitev vsebnosti **bakra v plazmi** (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

3.3.3 Cink

Cink (Zn) je esencialen mikro-element za človeka in je sestavni del mnogih encimov. Priporočen dnevni vnos je za odraslo žensko 8 mg/dan in za moškega 11 mg/dan. Priporočen dnevni vnos je višji v obdobju nosečnosti in dojenja, 11 in 12 mg/dan, vrednosti za otroke od 0-6 mesecev pa so 2 mg/dan (DRI 2001). Glavni vir cinka za človeka je hrana. Dober vir je hrana, ki vsebuje veliko beljakovin npr. meso, ribe in mlečni izdelki. Povišane koncentracije lahko povzročajo več dejavnikov, med drugim tudi vsebnosti elementov v okolju, ki so lahko povišani zaradi same geološke sestave tal ali pa antropogenega onesnaženja (industrije, rudniki, odlagališča,...). Na podlagi poročila o onesnaženosti tal ugotavljajo, da so bile v Sloveniji na posameznih področjih izmerjene kritične vrednosti naslednjih elementov: arzena, kroma, bakra, niklja in cinka (Zupan in sod., 2006). Akutna toksičnost je običajno povezana s prekomernim uživanjem prehranskih dopolnil, ki vsebujejo cink. Znaki povezani s toksičnostjo se lahko pojavijo pri dnevnem vnosu višjem od 40 mg/dan (DRI 2001).

Najpogosteje uporabljeno merilo dejanske preskrbljenosti organizma s cinkom je koncentracija v serumu. Kot smo že omenili, smo se v okviru te raziskave zaradi možnosti multielementne analize z ICPMS poleg določitev Pb, Cd in As v polni krvi, odločili še za določitve esencialnih elementov Se, Cu in Zn v polni krvi, čeprav za zadnja dva velja, da je najpogosteje uporabljena matrica serum.

Geometrijska sredina (GM) za **cink v krvi** pri preiskovani populaciji (N=227) otrok starih 7 – 15 let je 4520 ng/g krvi, 95. percentil 5978 ng/g krvi, minimum 2015 ng/g krvi in maksimum 7378 ng/g krvi (Tabela 47, Slika 30). Vsebnosti bakra so se razlikovale po spolu, višja GM cinka v krvi je bila pri dečkih. Glede na opazovana geografska območja so bile najvišje GM vrednosti na Goričkem. Prav tako so imeli višjo GM otroci iz starejše starostne skupine (Tabela 47).

Primerjava rezultatov za **cinka v krvi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=139, GM=3840 ng/g, 95. percentil= 5268 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Geometrijska sredina za **cinka v plazmi** pri preiskovani populaciji (N=226) otrok starih 7 – 15 let je 778 ng/g plazme, 95. percentil 1058 ng/g plazme, minimum 487 ng/g plazme in maksimum 1904 ng/g plazme (Tabela 50, Slika 34). Primerjalne vrednosti za Zn v plazmi so 3500-9100 µg/L (Lin in sod., 2012). Štirindvajset otrok (11 %) je imelo znižane vrednosti Zn v plazmi. Šest otrok pa je imelo Zn v plazmi presežen. Vsebnosti cinka (GM) glede na geografsko območje so bile najnižje na območju Ravninskega dela. Nekoliko višje vrednosti GM so bile izmerjene pri dečkih in pri mlajših otrocih (Tabela 50).

Primerjava rezultatov za **cink v plazmi** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=139, GM=730 ng/g, 95. percentil= 947 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).
- US NHANES v letih 2013-2014 cink v serumu, N=339, starost 6-11 let, GM=79.3 µg/L, 95. percentil=103 µg/L. Starost 12-19 let N=418, GM=82.8 µg/L, 95. percentil=110 µg/L (CDC, 2018).

Geometrijska sredina za **cinka v laseh** pri preiskovani populaciji (N=244) otrok starih 7 – 15 let je 192139 ng/g krvi, 95. percentil 443707 ng/g krvi, minimum 47775 ng/g, maksimum 869057 ng/g. Vsebnost cinka v laseh so se razlikovale med območji, višje so bile na območju Ravninskega dela in Goriškega (Tabela 48, Slika 31). Med spoloma in starostnimi skupinami so bile nekoliko izražene razlike, višja GM je bila pri dečkih in pri starejši starostni skupini (Tabela 48).

Primerjava rezultatov za **cink v laseh** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=179, GM=125846 ng/g, 95. percentil= 207489 ng/g (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Geometrijska sredina za **cinka v urinu** pri preiskovani populaciji (N=244) otrok je 470 µg/g kreatinina pri prvem vzorčenju (minimum 87 in maksimum 1641) in 442 µg/g kreatinina pri drugem vzorčenju (minimum 61,9 in maksimum 6240), vrednost 95. percentila je bila pri prvem vzorčenju 1025 in pri drugem vzorčenju 1363 µg/g kreatinina (Tabela 49, Sliki 32 in 33).

Vsebnost cinka v urinu se je minimalno razlikovala po geografskih območjih pri prvem in drugem vzorčenju je bila najnižja GM na območju Goriškega. Med spoloma so bile izrazite razlike, višja GM pri prvem in drugem vzorčenju je bila izmerjena pri dečkih. V primeru starostnih skupin, so bile višje GM vrednosti cinka v urinu pri mlajših otrocih (Tabela 49).

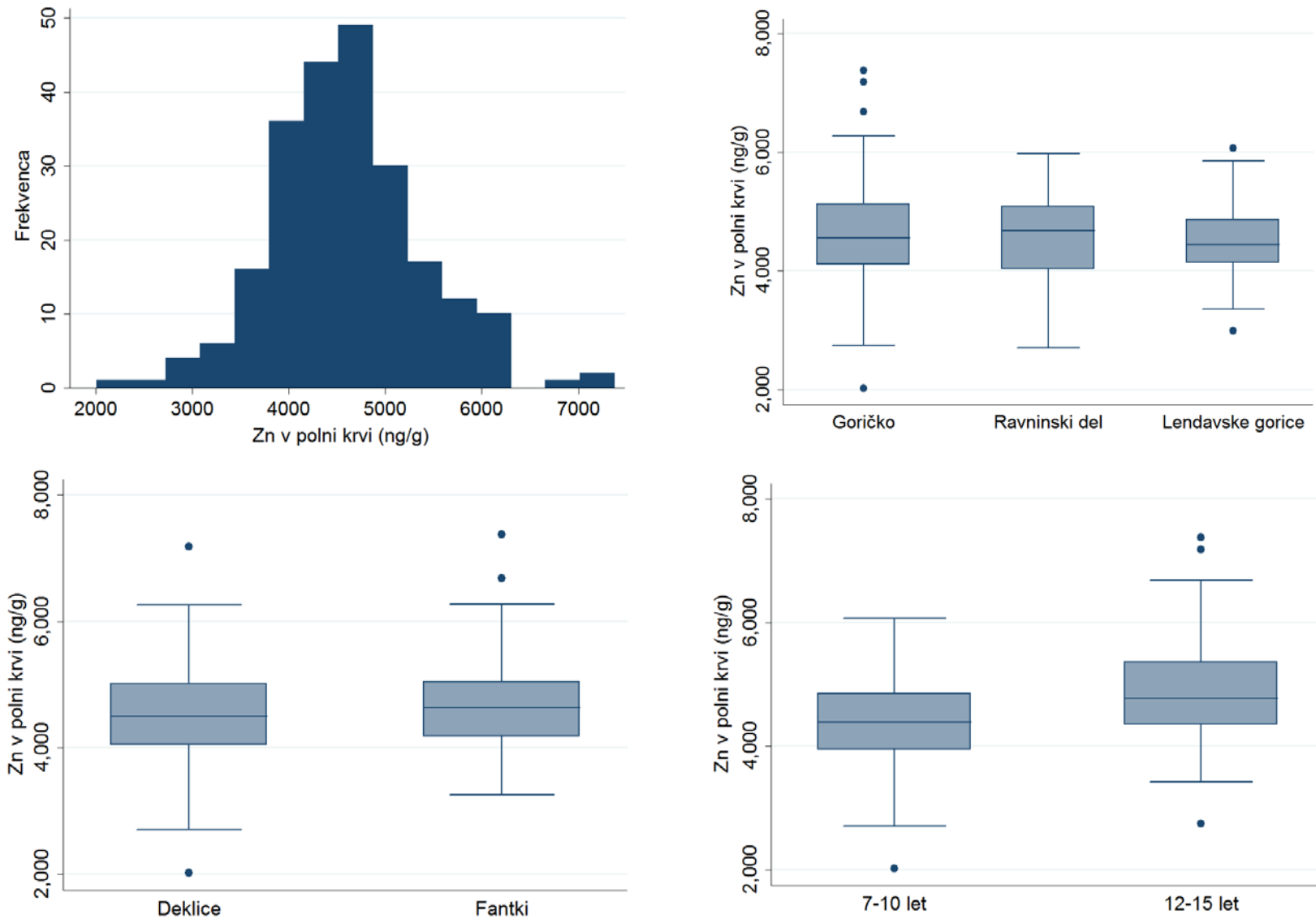
Primerjava rezultatov za **cink v urinu** z rezultati nekaterih drugih študij:

- Slovenija, Ljubljana in njena okolica v letu 2016 (CROME raziskava) starost 7-8 let, N=175, GM=137 ng/mL, 95. percentil= 735 ng/mL (CROME raziskava, neobjavljeni podatki).

Tabela 47. Vsebnosti **cinka v krvi** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		227	4520	4541	2015	7378	3429	3670	5597	5978
Geografsko območje	Goričko	120	4578	4546	2015	7378	3472	3728	5845	6182
	Ravninski del	60	4505	4673	2699	5978	3164	3535	5572	5707
	Lendavske Gorice	47	4392	4431	2989	6067	3566	3671	5042	5266
Spol otroka	Dečki	112	4613	4607	3252	7378	3586	3822	5703	6015
	Deklice	115	4430	4491	2015	7182	2994	3514	5541	5942
Starostna skupina	7-10 let	135	4337	4386	2015	6067	3252	3556	5282	5553
	12-15 let	92	4801	4766	2745	7378	3670	3938	6015	6265

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

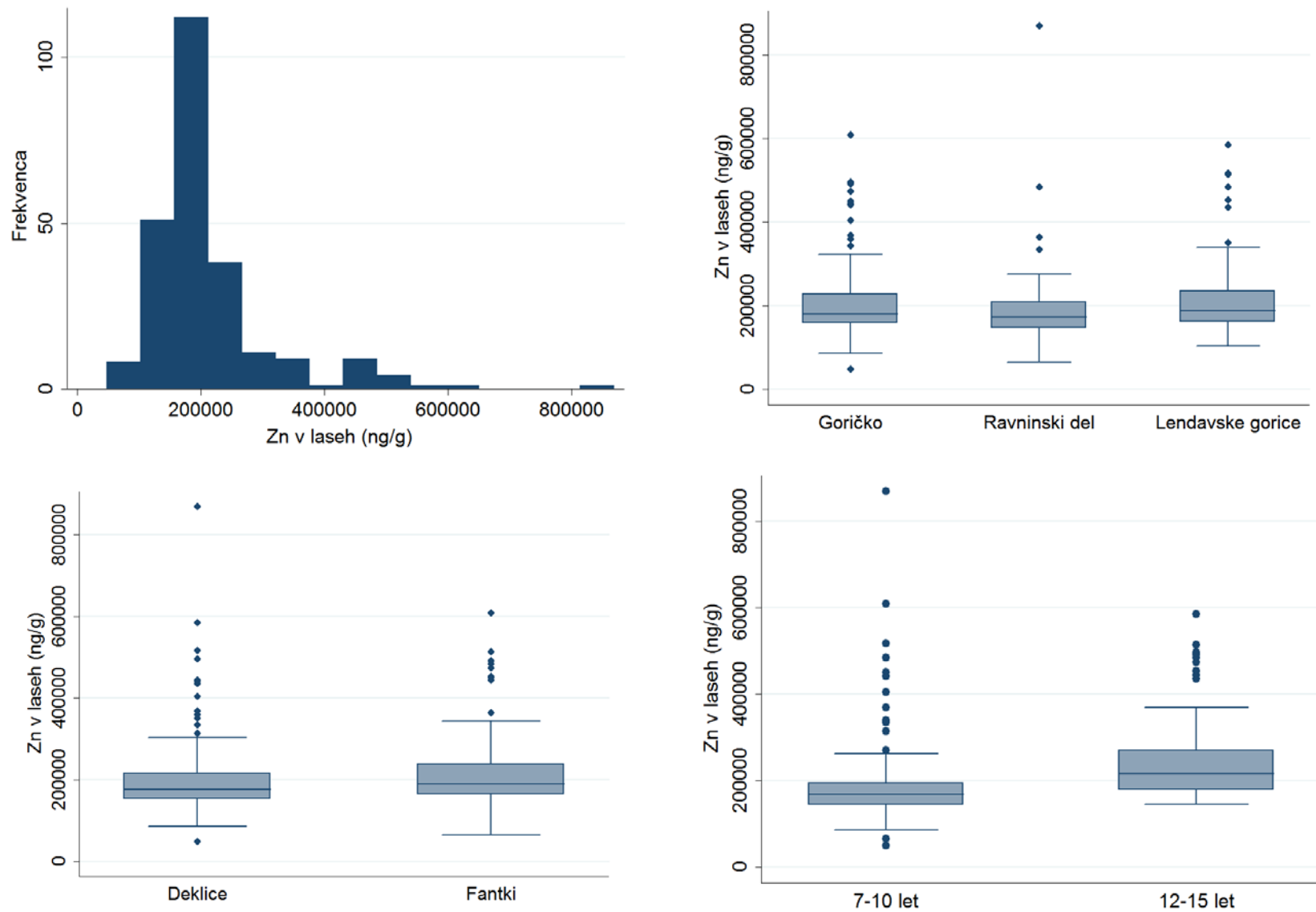


Slika 30: Porazdelitev vsebnosti **cinka v krvi** (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 48. Vsebnosti **cinka v lasih** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		244	192139	179376	47775	869057	113915	136144	323196	443707
Geografsko območje	Goričko	130	192075	180129	47775	608277	107459	136929	313123	441500
	Ravninski del	63	179333	172866	64461	869057	110089	116287	260988	333845
	Lendavske Gorice	51	209407	188915	102760	584643	131908	141508	434759	514461
Spol otroka	Dečki	119	198647	188699	64461	608277	110089	137351	323196	453113
	Deklice	125	186142	175698	47775	869057	116287	132779	333845	434759
Starostno območje	7-10 let	149	172656	167670	47775	869057	99225	116287	256394	368302
	12-15 let	95	227220	216555	145438	584643	156477	162568	368606	483686

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana

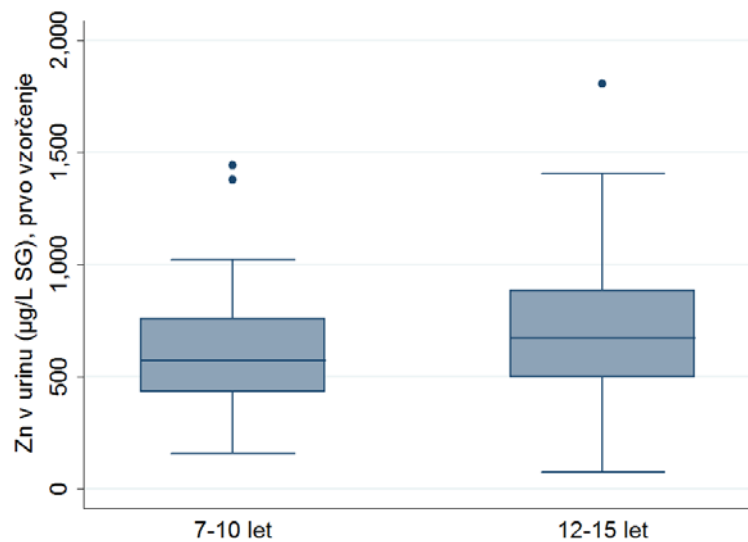
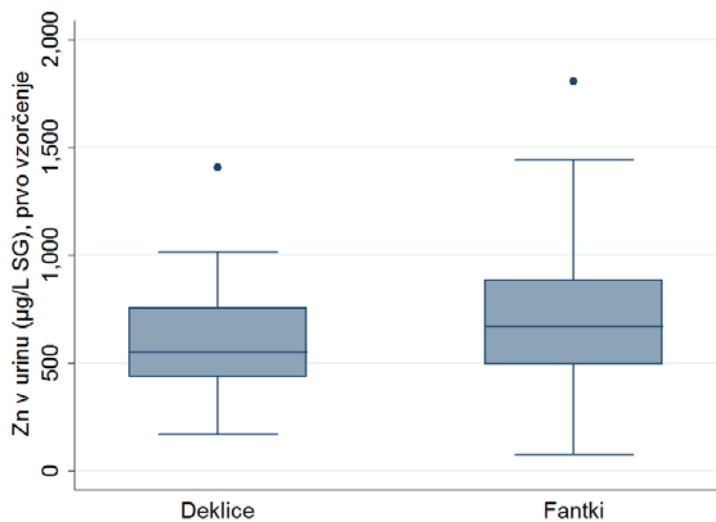
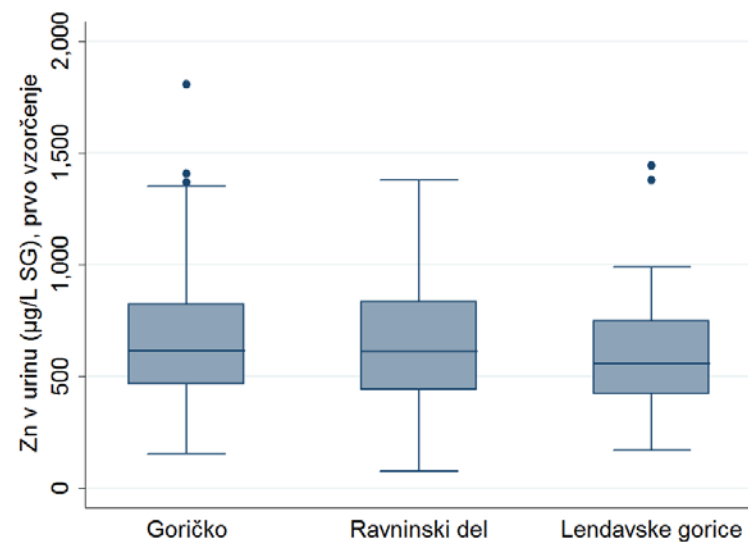
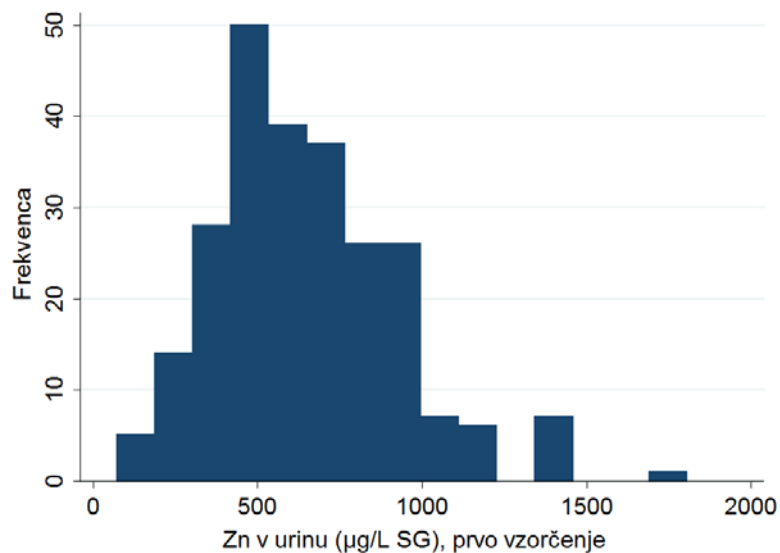


Slika 31: Porazdelitev vsebnosti **cinka v lasih** (ng/g) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

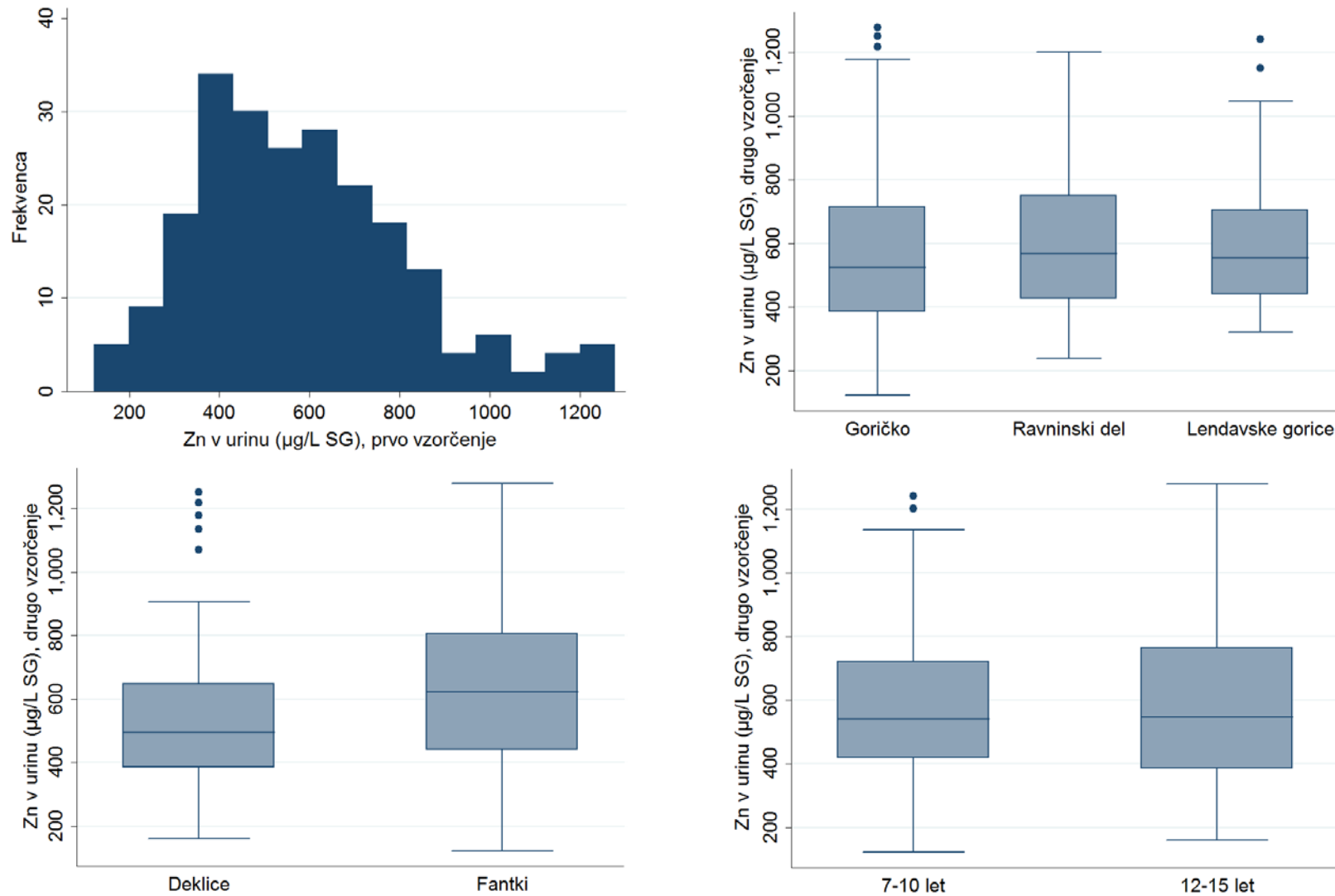
Tabela 49. Vsebnosti **cinka v urinu** ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
PRVO VZORČENJE										
SKUPAJ		244	470	482	87	1641	210	274	852	1025
Geografsko območje	Goričko	130	455	450	130	1158	219	260	853	955
	Ravninski del	63	496	502	87	1477	278	321	826	1059
	Lendavske Gorice	51	477	525	109	1641	188	308	727	1051
Spol otroka	Dečki	119	502	506	87	1641	210	305	928	1059
	Deklice	125	442	436	122	1477	198	257	713	946
Starostna skupina	7-10 let	149	525	535	130	1641	274	312	934	1046
	12-15 let	95	396	410	87	1116	145	198	648	852
DRUGO VZORČENJE										
SKUPAJ		224	442	455	61,9	6240	132	179	997	1363
Geografsko območje	Goričko	122	405	426	61,9	6240	112	139	920	1217
	Ravninski del	60	524	520	173	3615	223	238	1252	1604
	Lendavske Gorice	42	450	457	148	1505	189	196	1116	1363
Spol otroka	Dečki	109	494	540	94,0	3615	158	221	1095	1302
	Deklice	115	399	405	61,9	6240	112	162	926	1473
Starostna skupina	7-10 let	139	517	519	94,0	6240	175	224	1129	1506
	12-15 let	85	343	339	61,9	1505	109	126	738	1217

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana



Slika 32: Porazdelitev vsebnosti **cinka v urinu** (µg/L SG) za prvo vzorčenje ter vsebnosti za prvo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

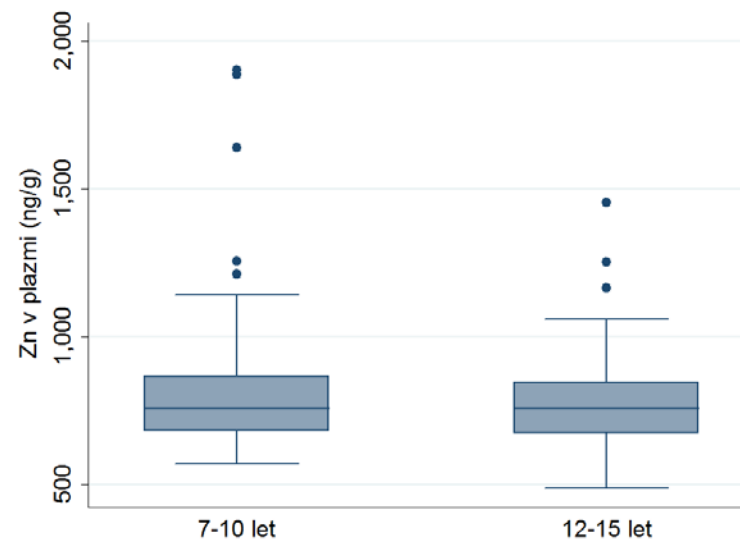
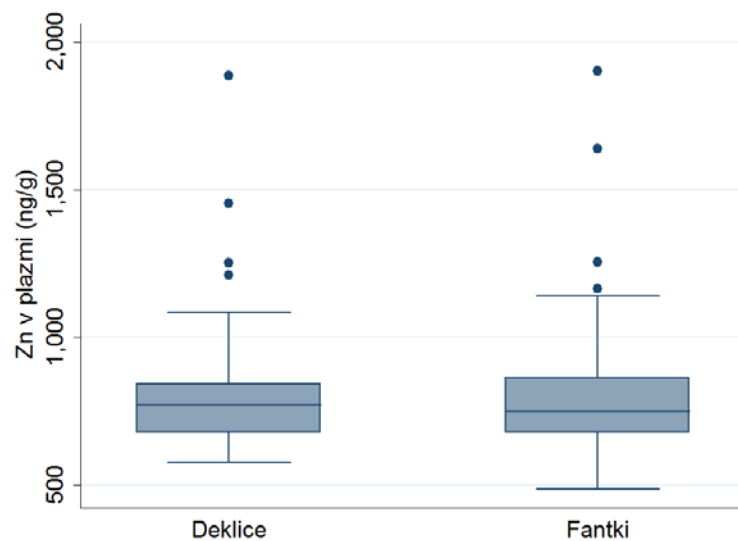
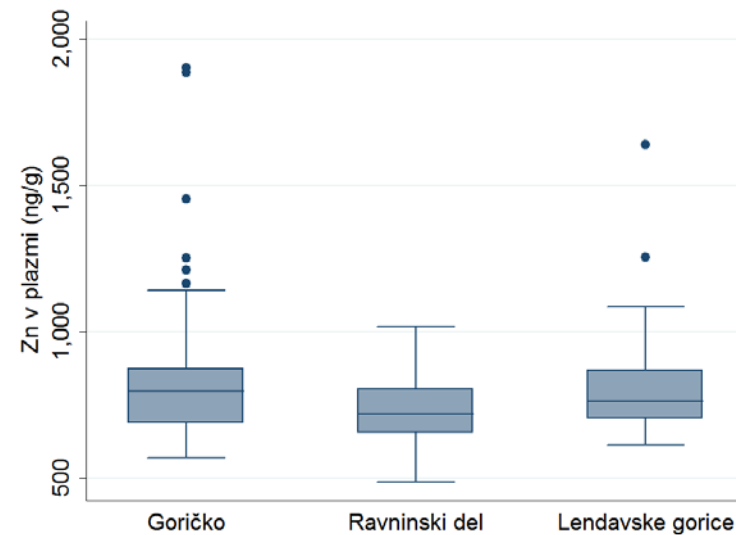
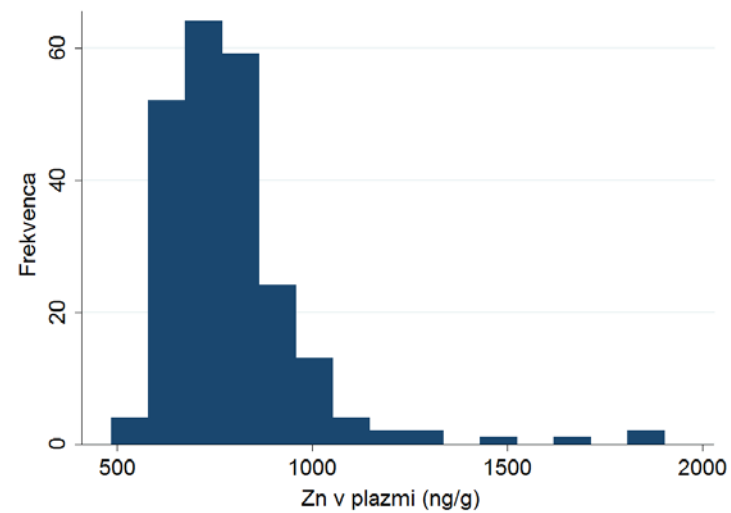


Slika 33: Porazdelitev vsebnosti **cinka v urinu** ($\mu\text{g/L SG}$) za drugo vzorčenje ter vsebnost za drugo vzorčenje glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Tabela 50. Vsebnosti **cinka v plazmi** (ng/g) po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		226	778	756	487	1904	603	631	983	1058
Geografsko območje	Goričko	120	800	796	567	1904	605	627	999	1152
	Ravninski del	59	720	718	487	1017	577	603	853	983
	Lendavske Gorice	47	800	761	612	1640	655	668	1029	1085
Spol otroka	Dečki	112	781	750	487	1904	603	634	983	1059
	Deklice	114	776	769	577	1889	603	631	959	1043
Starostno območje	7-10 let	134	788	757	567	1904	610	647	1000	1085
	12-15 let	92	765	756	487	1454	602	623	913	998

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana



Slika 34: Porazdelitev vsebnosti **cinka v plazmi** (ng/g) ter vsebnost glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

3.4 Bisfenoli, triklosan in parabeni

Med bisfenoli je v vzorcih urina otrok prevladoval bisfenol A (BPA), alternativna spojina bisfenol S (BPS) je bila pri večini otrok (70 %) pod mejo kvantifikacije, bisfenol F (BPF) pa je bil sicer nad mejo kvantifikacije pri 83 % otrok, vendar v zelo nizkih koncentracijah (Tabele 51-83).

Koncentracije BPA v preučevani populaciji ($GM = 1,94 \mu\text{g/L}$) so podobne koncentracijam, ki smo jih določili pri populaciji otrok 6-11 let v projektu DEMOCOPHES (vzorčenje v letih 2011-2012) na območjih Ljubljane in Šmarja pri Jelšah ($GM = 1,81 \mu\text{g/L}$) (Snoj Tratnik in sod., 2019). Tudi v primerjavi z evropsko populacijo, ki je bila del projekta Democophes (Covaci in sod., 2015) je bila vsebnost BPA v urinu podobna ($GM_{\text{DEMOCOPHES}} = 2,63 \mu\text{g/L}$), se je pa povečal delež posameznikov, v katerih smo lahko določili BPA iz 93 % na 99 %. V primerjavi z ameriško študijo NHANES (CDC, 2015) ($GM_{\text{ZDA}} = 1,58 \mu\text{g/L}$) je bila pri naši populaciji povprečna koncentracija BPA nekoliko višja, medtem, ko sta bili povprečni koncentraciji BPF ($GM = 0,128 \mu\text{g/L}$) in BPS (srednja vrednost pod mejo zaznave) bistveno višji pri ameriški populaciji ($GM_{\text{ZDA}} = 0,420 \mu\text{g/L}$ ter $0,351 \mu\text{g/L}$). To lahko nakazuje na dejstvo, da v ZDA omejujejo porabo BPA, ampak hkrati povečujejo porabo alternativnih spojin, medtem ko v Sloveniji še ni tako. Na Švedskem (Larsson in sod., 2017) so BPA zaznali v vsakem od 133 otrok, vendar je bila geometrijska sredina nekoliko nižja kot pri naši populaciji ($GM_{\text{ŠVEDSKA}} = 1,40 \mu\text{g/L}$), raven BPF je približno enak slovenskemu ($GM_{\text{ŠVEDSKA}} = 0,160 \mu\text{g/L}$), prav tako pa so zaznali BPF v podobnem deležu populacije (97 %). BPS so za razliko od naše populacije zaznali v vsakem posamezniku ($GM_{\text{ŠVEDSKA}} = 0,190 \mu\text{g/L}$).

Nihče od preiskovanih otrok v naši študiji ni presegel mejne vrednosti HBM I za otroke, ki znaša $100 \mu\text{g/L}$ (Nemška komisija za HBM, 2017). Med posameznimi skupinami ni bilo statistično pomembnih razlik v koncentracijah BPA, predvsem če gledamo nenormirane vrednosti ali tiste normirane na SG ($p > 0,5$). Pri normiranju na kreatinin se pokaže razlika v vsebnosti BPA med starostnima skupinama ($p < 0,001$), kar pa je najverjetneje posledica razlike v kreatininu med starostnima skupinama.

Za BPF in BPS zaenkrat še ni na voljo HBM I ali II vrednosti, saj ni na voljo podatkov o koncentracijah, pri kateri so pričakovani škodljivi biološki učinki. Glede na podatke o vsebnosti teh spojin pri splošni populaciji otrok iz ameriške študije NHANES, pa je imelo 11 otrok iz naše študije vsebnosti BPF višje od 95. percentila ameriške študije, ter 5 otrok višje vrednosti BPS (CDC, 2018).

Vsebnost BPS v urinu se je v primeru nenormiranih vrednosti in vrednosti normiranih na SG razlikovala glede na območje, in sicer je bila statistično pomembno višja pri otrocih na Goričkem v primerjavi z otroci iz Lendave ($p = 0,017$ in $p = 0,006$). V primeru vrednosti normiranih na vsebnost kreatinina v urinu, razlika med območji ni bila statistično pomembna.

Vrednosti normirane na SG so se razlikovale tudi med starostnima skupinama, in sicer so bile statistično pomembno višje pri starejših otrocih (mladostnikih). Isti vzorec, vendar z mejno pomembno razliko smo opazili tudi v primeru vrednosti izražene na volumen. Drugih pomembnih razlik v vrednostih BPS nismo opazili.

Vsebnost BPF v urinu je bila prav tako pomembno višja na Goričkem kot v Ravninskem delu in Lendavski goricah, ne glede na metodo normiranja vrednosti (nenormirane vrednosti, SG ali kreatinin). V vseh primerih je bila p vrednost $< 0,001$.

Poleg tega se je vsebnost BPF razlikovala tudi glede na starost, in sicer so bile višje vrednosti (tako ne-normirane, kot normirane na SG) višje pri starejši skupini otrok ($p = 0,006$ in $0,008$).

Enostavna povezava s podatki anketiranja (ANOVA) ni pokazala statistično pomembnih povezav med vsebnostjo BPA z uporabo plastičnih posod za shranjevanje hrane, plastičnih športnih bidonov, konzervirane hrane ali prisotnostjo belih amalgamskih zalivk. Je pa uporaba plastičnega bidona vplivala na vsebnost BPS, ne glede na način normiranja urinskih vrednosti ($p=0,003$ za ne-normirane vrednosti; $p=0,022$ za normirane na SG; $p=0,063$). Prav tako smo našli povezavo med pogostostjo uživanja hrane, ki je bila pogreta v plastični posodi in vsebnostjo BPS v urinu (mejno signifikantna pozitivna povezava, $p=0,075$).

Tabela 51. Vsebnost **bisfenola A** v urinu ($\mu\text{g/L}$) pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	1	1,94	1,88	<MK	51,0	0,52	0,68	5,81	8,39
Geografsko območje	Goričko	131	1	2,10	2,02	<MK	45,4	0,52	0,71	7,50	9,34
	Ravninski del	63	0	1,75	1,74	0,34	33,0	0,55	0,71	4,80	7,32
	Lendavske Gorice	52	0	1,80	1,93	0,32	51,0	0,49	0,67	3,91	6,42
Spol otroka	Fantki	121	0	2,02	1,95	0,32	51,0	0,52	0,72	6,42	9,34
	Deklice	125	1	1,86	1,81	<MK	45,4	0,52	0,68	5,16	8,19
Starostna skupina	7-10 let	149	1	1,99	1,96	<MK	51,0	0,54	0,69	6,21	9,34
	12-15 let	97	0	1,87	1,80	0,31	23,0	0,48	0,63	5,81	7,94

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 52. Vsebnost **bisfenola A** v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

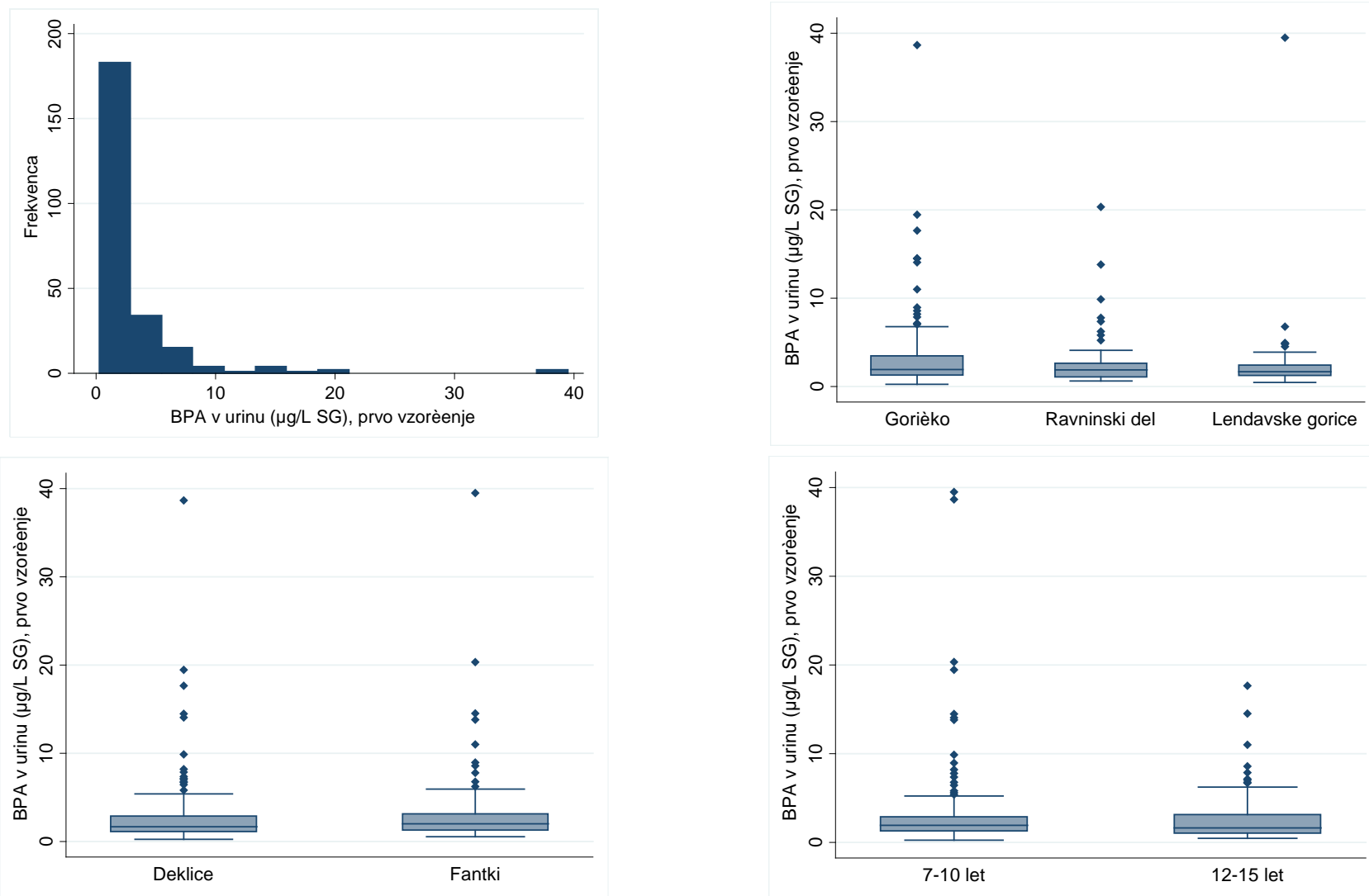
		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	1	1,65	1,52	<MK	38,9	0,52	0,63	4,58	6,92
Geografsko območje	Goričko	131	1	1,68	1,56	<MK	38,9	0,50	0,66	4,58	10,2
	Ravninski del	63	0	1,67	1,62	0,32	15,0	0,51	0,56	5,44	6,45
	Lendavske Gorice	52	0	1,54	1,38	0,44	35,2	0,59	0,66	3,41	5,82
Spol otroka	Fantki	121	0	1,70	1,62	0,32	35,2	0,56	0,66	4,56	6,80
	Deklice	125	1	1,60	1,48	<MK	38,9	0,52	0,61	4,58	7,21
Starostna skupina	7-10 let	149	1	2,01	1,83	<MK	38,9	0,67	0,82	5,62	10,2
	12-15 let	97	0	1,21	1,09	0,32	13,7	0,41	0,56	3,23	5,82

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 53. Vsebnost **bisfenola A** v urinu ($\mu\text{g/L}$ SG) pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	1	2,07	1,91	<MK	39,5	0,75	0,88	5,95	8,57
Geografsko območje	Goričko	131	1	2,25	1,94	<MK	38,6	0,85	0,91	6,80	11,0
	Ravninski del	63	0	1,94	1,90	0,62	20,3	0,71	0,79	5,80	7,79
	Lendavske Gorice	52	0	1,80	1,69	0,48	39,5	0,57	0,83	4,54	4,94
Spol otroka	Fantki	121	0	2,16	2,00	0,57	39,5	0,90	0,97	5,69	8,57
	Deklice	125	1	1,98	1,70	<MK	38,6	0,68	0,83	6,68	8,21
Starostna skupina	7-10 let	149	1	2,15	1,95	<MK	39,5	0,73	0,90	5,80	9,89
	12-15 let	97	0	1,94	1,62	0,49	17,6	0,75	0,87	6,26	7,88

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije



Slika 35. Vsebnost **BPA v urinu (µg/L SG)** otrok in mladostnikov glede na območje bivanja, spol in starostno skupino.

Tabela 54. Vsebnost **bisfenola S** v urinu ($\mu\text{g/L}$) pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	171	-	<MK	<MK	29,0	<MK	<MK	0,66	0,98
Geografsko območje	Goričko	131	81	-	<MK	<MK	29,0	<MK	<MK	0,67	1,27
	Ravninski del	63	46	-	<MK	<MK	1,33	<MK	<MK	0,50	0,81
	Lendavske Gorice	52	44	-	<MK	<MK	3,37	<MK	<MK	0,38	0,66
Spol otroka	Fantki	121	88	-	<MK	<MK	4,00	<MK	<MK	0,50	0,91
	Deklice	125	83	-	<MK	<MK	29,0	<MK	<MK	0,68	0,98
Starostna skupina	7-10 let	149	109	-	<MK	<MK	1,33	<MK	<MK	0,49	0,78
	12-15 let	97	62	-	<MK	<MK	29,0	<MK	<MK	1,01	3,33

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 55. Vsebnost **bisfenola S** v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

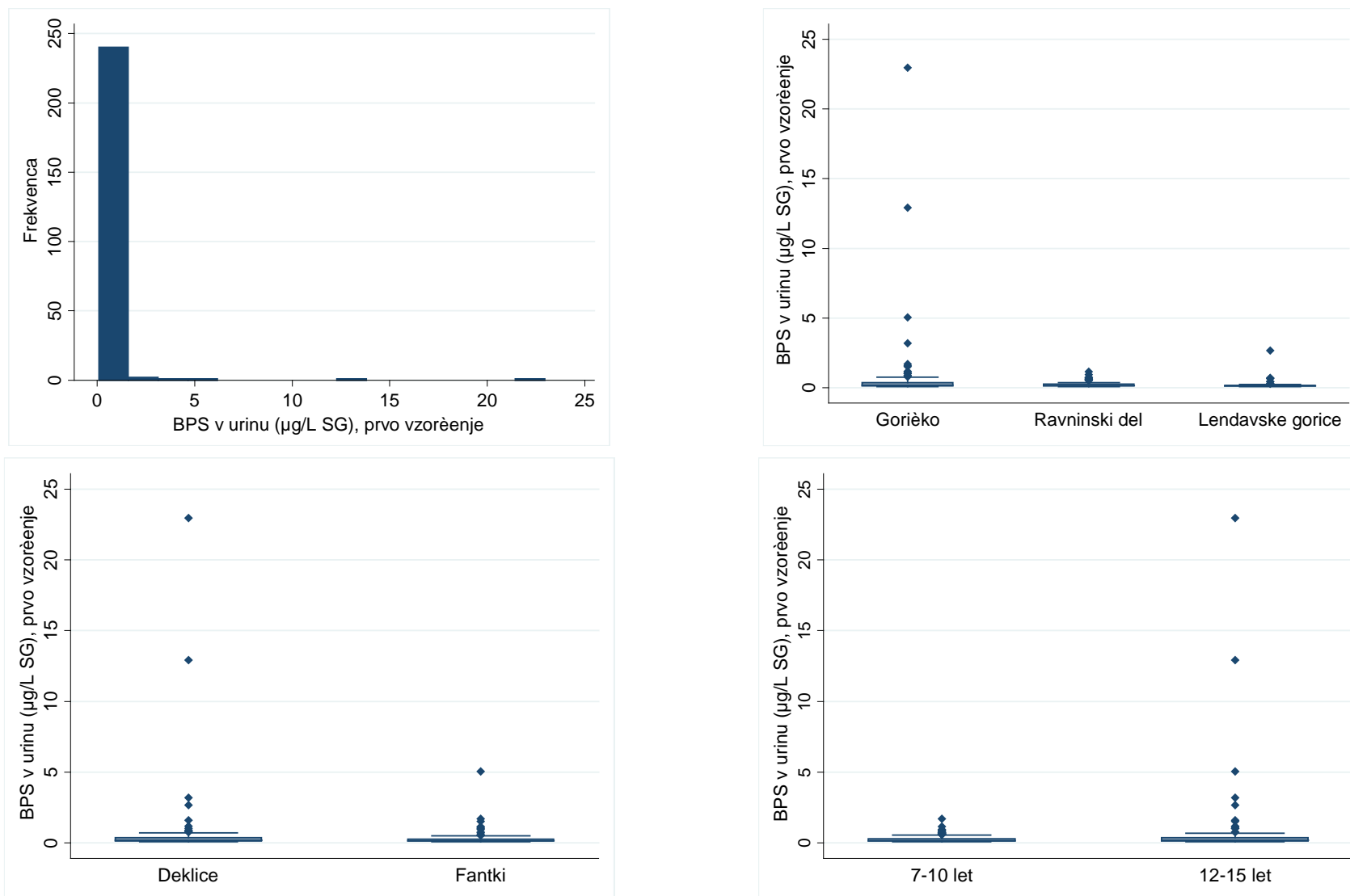
		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	171	-	<MK	<MK	12,3	<MK	<MK	0,62	0,94
Geografsko območje	Goričko	131	81	-	<MK	<MK	12,3	<MK	<MK	0,67	0,95
	Ravninski del	63	46	-	<MK	<MK	1,51	<MK	<MK	0,66	0,94
	Lendavske Gorice	52	44	-	<MK	<MK	1,60	<MK	<MK	0,44	0,63
Spol otroka	Fantki	121	88	-	<MK	<MK	2,88	<MK	<MK	0,45	0,93
	Deklice	125	83	-	<MK	<MK	12,3	<MK	<MK	0,72	0,94
Starostna skupina	7-10 let	149	109	-	<MK	<MK	1,51	<MK	<MK	0,61	0,78
	12-15 let	97	62	-	<MK	<MK	12,3	<MK	<MK	0,76	1,60

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 56. Vsebnost **bisfenola S** v urinu ($\mu\text{g/L}$ SG) pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	171	-	<MK	<MK	23,0	<MK	<MK	0,66	1,01
Geografsko območje	Goričko	131	81	-	<MK	<MK	23,0	<MK	<MK	0,78	1,52
	Ravninski del	63	46	-	<MK	<MK	1,14	<MK	<MK	0,62	0,71
	Lendavske Gorice	52	44	-	<MK	<MK	2,68	<MK	<MK	0,45	0,69
Spol otroka	Fantki	121	88	-	<MK	<MK	5,06	<MK	<MK	0,51	0,95
	Deklice	125	83	-	<MK	<MK	23,0	<MK	<MK	0,71	1,03
Starostna skupina	7-10 let	149	109	-	<MK	<MK	1,70	<MK	<MK	0,62	0,71
	12-15 let	97	62	-	<MK	<MK	23,0	<MK	<MK	1,03	2,68

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije



Slika 36. Vsebnost **BPS v urinu** ($\mu\text{g/L SG}$) otrok in mladostnikov glede na območje bivanja, spol in starostno skupino.

Tabela 57. Vsebnost **bisfenola F** v urinu ($\mu\text{g/L}$) pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	35	0,13	0,09	<MK	12,3	<MK	<MK	1,02	3,60
Geografsko območje	Goričko	131	16	0,19	0,13	<MK	12,3	<MK	<MK	2,33	4,72
	Ravninski del	63	9	0,09	0,09	<MK	9,08	<MK	<MK	0,28	0,93
	Lendavske Gorice	52	10	0,07	0,07	<MK	3,12	<MK	<MK	0,16	0,37
Spol otroka	Fantki	121	20	0,12	0,09	<MK	11,9	<MK	<MK	0,98	3,91
	Deklice	125	15	0,13	0,09	<MK	12,3	<MK	<MK	1,13	3,30
Starostna skupina	7-10 let	149	22	0,10	0,08	<MK	9,08	<MK	<MK	0,93	1,68
	12-15 let	97	13	0,18	0,11	<MK	12,3	<MK	<MK	3,60	12,3

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 58. Vsebnost **bisfenola F** v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

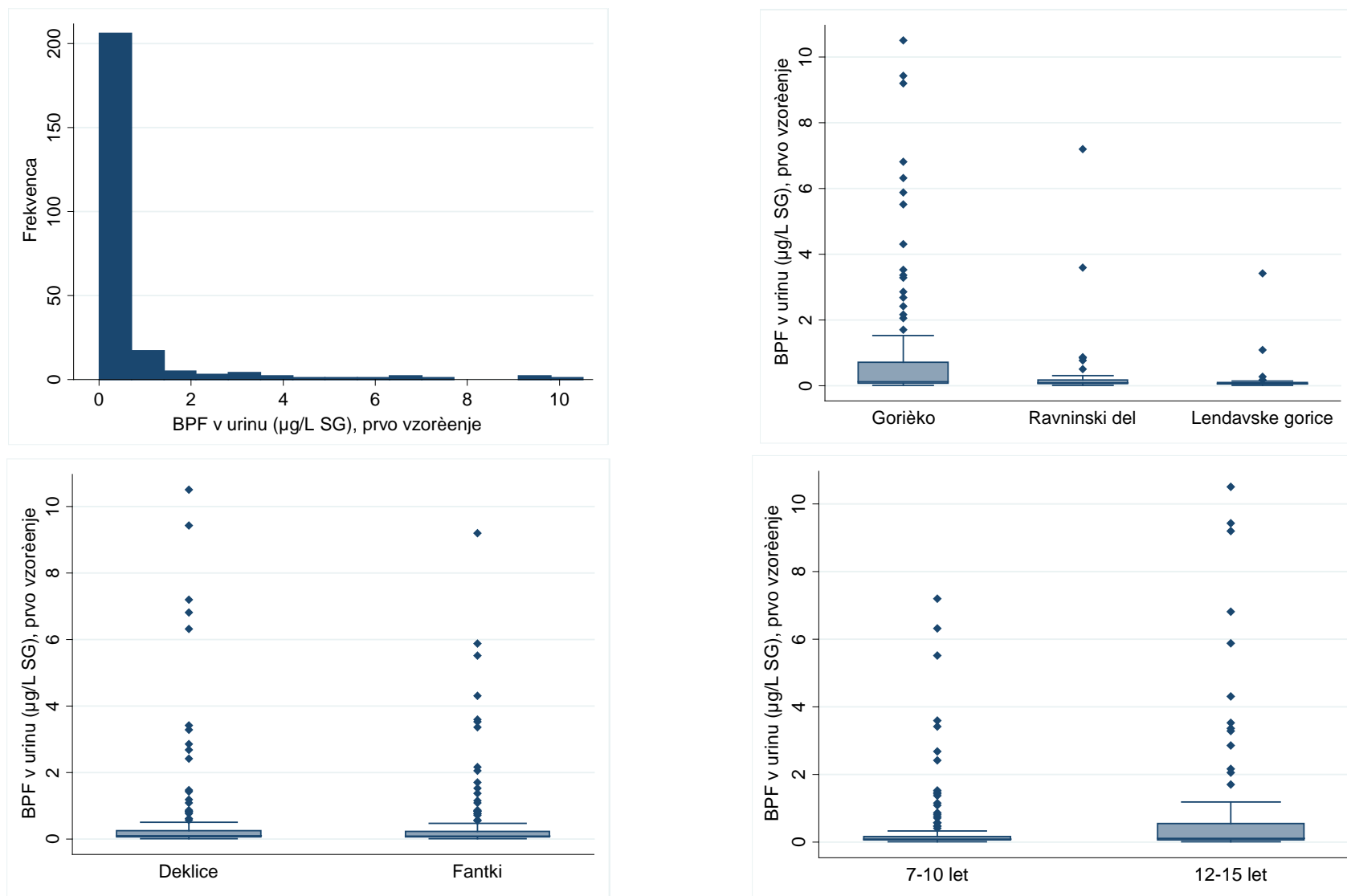
		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	35	0,11	0,08	<MK	7,08	<MK	<MK	1,04	2,13
Geografsko območje	Goričko	131	16	0,15	0,09	<MK	7,08	<MK	<MK	1,53	3,22
	Ravninski del	63	9	0,09	0,08	<MK	6,98	<MK	<MK	0,39	0,71
	Lendavske Gorice	52	10	0,06	0,06	<MK	3,36	<MK	<MK	0,13	0,24
Spol otroka	Fantki	121	20	0,10	0,08	<MK	5,77	<MK	<MK	0,89	1,53
	Deklice	125	15	0,11	0,08	<MK	7,08	<MK	<MK	1,04	2,17
Starostna skupina	7-10 let	149	22	0,10	0,08	<MK	6,98	<MK	<MK	0,72	1,39
	12-15 let	97	13	0,11	0,07	<MK	7,08	<MK	<MK	1,53	3,22

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 59. Vsebnost **bisfenola F** v urinu ($\mu\text{g/L}$ SG) pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	35	0,13	0,10	<MK	10,5	<MK	<MK	1,18	3,36
Geografsko območje	Goričko	131	16	0,20	0,12	<MK	10,5	<MK	<MK	2,42	5,52
	Ravninski del	63	9	0,10	0,09	<MK	7,20	<MK	<MK	0,31	0,84
	Lendavske Gorice	52	10	0,07	0,07	<MK	3,42	<MK	<MK	0,14	0,28
Spol otroka	Fantki	121	20	0,13	0,09	<MK	9,21	<MK	<MK	1,15	3,36
	Deklice	125	15	0,14	0,10	<MK	10,5	<MK	<MK	1,18	3,28
Starostna skupina	7-10 let	149	22	0,11	0,09	<MK	7,20	<MK	<MK	0,83	1,53
	12-15 let	97	13	0,18	0,11	<MK	10,5	<MK	<MK	2,86	5,88

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije



Slika 37. Vsebnost **BPF v urinu (µg/L SG)** otrok in mladostnikov glede na območje bivanja, spol in starostno skupino.

Vsebnosti presnovkov parabenov so bile pri preučevani populaciji v splošnem nizke, z izjemo metil parabena (Tabele 60-80). Čeprav je bilo geometrijsko povprečje metil parabena nizko, se je le-ta pojavil v urinu določenih posameznikov v visokih koncentracijah, kar je v skladu z literaturo (Sanchis in sod., 2019). Znano je, da se parabeni v telesu presnovijo hitro (Andersen, 1995) in možno je, da so akutne vrednosti v določenih časovnih periodah pri posameznikih precej višje od določene geometrijske sredine, a je bil maksimum presnovljene koncentracije zaradi enkratnega odvzema vzorca zgrešen.

Podobno kot v primeru bisfenolov je bilo tudi v primeru parabenov opaziti veliko razliko med našo in ameriško populacijo (CDC, 2015). Medtem, ko je bil metil paraben zaznan v obeh populacijah, v slovenski sicer v nižji koncentraciji ($GM = 5,15 \mu\text{g/L}$) kot v ameriški ($GM_{ZDA} = 18,5 \mu\text{g/L}$), v ameriški populaciji niso zaznali etil parabena, ki pa je v slovenski populaciji zaznan v 65 % posameznikov. Obratna razlika se pa pojavi v primeru propil parabena, ki je v ameriški populaciji zaznan pogosto, v nemški v 77 % (Moos in sod., 2014), v slovenski populaciji pa le v 20 % preiskovane populacije, kar nakazuje na različne trende uporabe parabenov v različnih državah.

Tako kot za primera BPF in BPS zaenkrat še ni na voljo HBM I ali II vrednosti, saj ni na voljo podatkov o koncentracijah, pri kateri so pričakovani prehodni škodljivi biološki učinki. Glede na podatke o vsebnosti teh spojin pri splošni populaciji otrok iz ameriške študije NHANES, pa je imelo nekaj otrok iz naše študije vsebnosti višje od 95. percentila ameriške študije, in sicer 2 otroka v primeru metil parabena, 65 otrok v primeru etil parabena, 3 otroci v primeru propil parabena, ter 9 otrok v primeru butil parabena (CDC, 2018).

Izmed presnovkov parabenov smo opazili statistično pomembno višje vrednosti etil parabena na Goričkem v primerjavi z Lendavskimi gorici, tako v primeru ne-normiranih vrednosti ($p=0.058$) kot v primeru vrednosti normiranih na SG ($p=0.021$), podobno kot za BPF. Deklice so imele statistično pomembno višjo vsebnost metil parabena v urinu kot fantje ($p=0.002$), ni pa bilo razlike med deklicami iz različnih starostnih skupin. Glede na starost smo opazili razliko v vsebnosti etil parabena, in sicer so bile vrednosti višje pri starejši skupini otrok, tako v primeru ne-normiranih vrednosti ($p=0.016$) kot vrednosti normiranih na SG ($p=0.021$). Razlika je predvsem na račun večje vsebnosti pri starejših deklicah.

Povezava vrednosti metil parabena in podatkov anketerianja je pokazala statistično pomembno večjo vsebnost metil parabena pri otrocih, ki uporabljajo balzam za ustnice oz. šminko ($p=0.002$), prav tako pri tistih, ki uporabljajo ličila za oči ($p=0.024$). Prav tako je bil z uporabo balzama za ustnice povezan etil paraben ($p=0.035$).

V nekaterih vzorcih, ki so imeli visoko vsebnost metil parabena je bila prisotna tudi visoka vsebnost propil parabena. Med koncentracijami obeh spojin v urinu smo opazili tudi močno statistično korelacijo ($r = 0.77$). To je zanimivo iz tega vidika, ker so v večini primerov vsebnosti propil parabena pod mejo kvantifikacije, pri določenih preiskovancih pa so visoke.

V primeru triklozana (Tabele 81-83), nihče od preiskovanih otrok ni presegel HBM I vrednosti za otroke, ki znaša 2 mg/L urina. Sicer pa smo zaznali statistično višje vrednosti triklozana v urinu pri otrocih iz višje starostne skupine, tako za ne-normirane vrednosti ($p=0.017$) kot vrednosti normirane na SG ($p=0.036$).

Grafični prikaz vrednosti (»box-plot«) smo naredili samo za metil in etil paraben, za ostale presnovke parabenov pa ne, saj je imelo večino preiskovancev vrednosti pod mejo kvantifikacije.

Tabela 60. Vsebnost **metil parabena v urinu ($\mu\text{g/L}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		243	41	5,15	5,86	<MK	>500	<MK	<MK	45,6	91,4
Geografsko območje	Goričko	131	23	4,45	5,45	<MK	374	<MK	<MK	24,8	49,2
	Ravninski del	62	9	7,26	7,09	<MK	469	<MK	<MK	84,7	134
	Lendavske Gorice	50	9	4,94	5,66	<MK	>500	<MK	<MK	55,4	85,4
Spol otroka	Fantki	119	28	3,56	4,33	<MK	>500	<MK	<MK	33,7	84,7
	Deklice	124	13	7,35	7,08	<MK	374	<MK	<MK	61,3	122
Starostna skupina	7-10 let	147	23	5,28	5,73	<MK	>500	<MK	<MK	45,6	91,4
	12-15 let	96	18	4,96	6,40	<MK	374	<MK	<MK	45,6	122

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 61. Vsebnost **metil parabena v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		243	41	4,37	4,67	<MK	1338	<MK	<MK	37,5	69,6
Geografsko območje	Goričko	131	23	3,57	4,27	<MK	258	<MK	<MK	24,4	59,2
	Ravninski del	62	9	6,90	4,94	<MK	1338	<MK	<MK	60,7	135
	Lendavske Gorice	50	9	4,23	4,62	<MK	597	<MK	<MK	37,9	100
Spol otroka	Fantki	119	28	2,99	3,34	<MK	1338	<MK	<MK	24,4	55,9
	Deklice	124	13	6,30	5,61	<MK	417	<MK	<MK	49,1	99,8
Starostna skupina	7-10 let	147	23	5,33	4,97	<MK	1338	<MK	<MK	41,7	100
	12-15 let	96	18	3,23	3,88	<MK	182	<MK	<MK	30,0	68,7

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 62. Vsebnost **metil parabena v urinu ($\mu\text{g/L SG}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

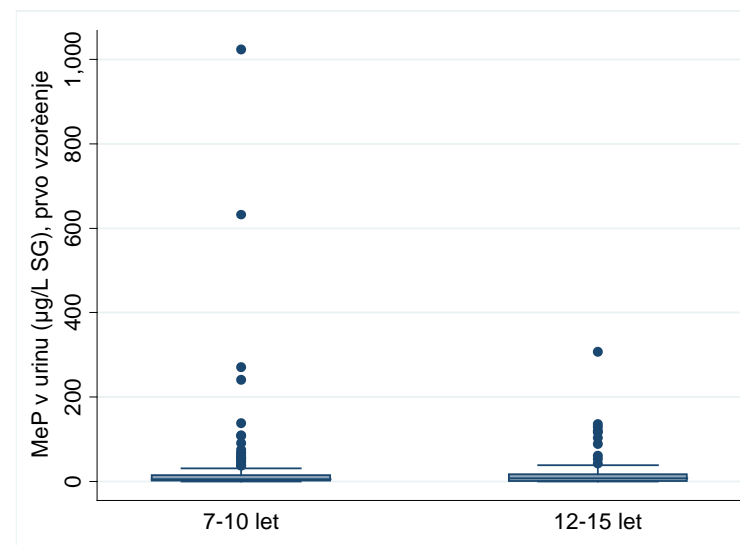
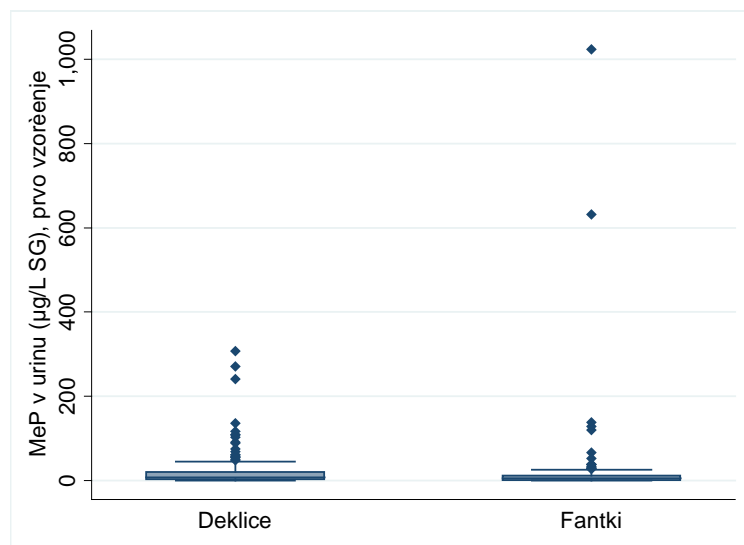
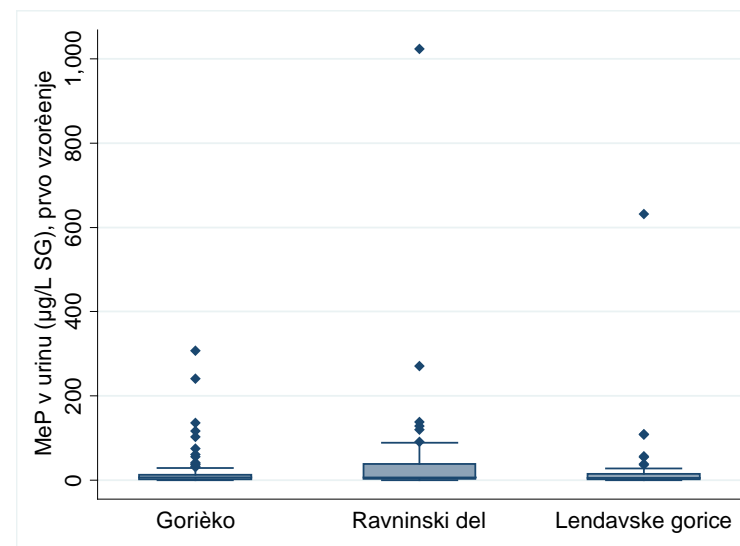
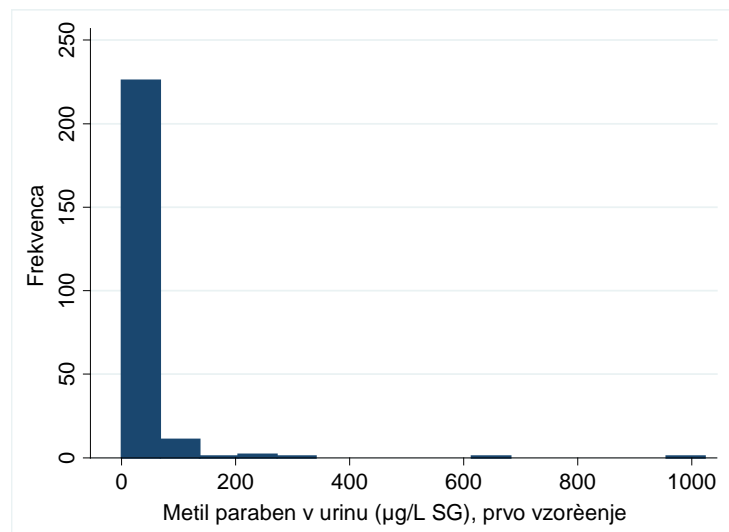
		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		243	41	5,50	6,10	<MK	1023	<MK	<MK	50,8	103
Geografsko območje	Goričko	131	23	4,78	6,10	<MK	307	<MK	<MK	29,4	60,6
	Ravninski del	62	9	8,04	7,02	<MK	1023	<MK	<MK	89,4	129
	Lendavske Gorice	50	9	4,97	4,80	<MK	632	<MK	<MK	46,3	109
Spol otroka	Fantki	119	28	3,81	4,97	<MK	1023	<MK	<MK	31,6	66,5
	Deklice	124	13	7,83	7,88	<MK	307	<MK	<MK	61,6	109
Starostna skupina	7-10 let	147	23	5,73	5,49	<MK	1023	<MK	<MK	54,3	91,2
	12-15 let	96	18	5,17	7,80	<MK	307	<MK	<MK	42,2	117

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 63. Vsebnost **metil parabena v urinu ($\mu\text{g/L SG}$)** glede na uporabo balzama za ustnice in ličil za oči.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
Uporaba balzama za ustnice oz. šminke	Ne	143	30	4,08	4,80	<MK	1023	0,20	0,27	32,9	56,4
	Da	100	11	8,44	9,58	<MK	307	0,26	0,42	72,2	118
Uporaba ličil za oči	Ne	208	37	4,95	5,35	<MK	1023	0,21	0,29	48,8	89,4
	Da	35	4	10,3	12,4	<MK	307	0,20	0,32	117	241

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije



Slika 38. Vsebnost **metil parabena** v urinu ($\mu\text{g/L SG}$) otrok in mladostnikov glede na območje bivanja, spol in starostno skupino.

Tabela 64. Vsebnost **etil parabena v urinu ($\mu\text{g/L}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	87	3,20	3,70	<MK	162	<MK	<MK	28,1	39,7
Geografsko območje	Goričko	131	42	4,05	4,93	<MK	162	<MK	<MK	31,9	42,4
	Ravninski del	63	24	2,70	2,96	<MK	76,1	<MK	<MK	22,3	28,8
	Lendavske Gorice	52	21	2,17	1,78	<MK	94,9	<MK	<MK	16,6	39,7
Spol otroka	Fantki	121	46	2,75	2,85	<MK	162	<MK	<MK	25,6	37,4
	Deklice	125	41	3,71	4,42	<MK	121	<MK	<MK	28,8	42,4
Starostna skupina	7-10 let	149	60	2,62	2,48	<MK	162	<MK	<MK	22,6	39,4
	12-15 let	97	27	4,37	5,42	<MK	121	<MK	<MK	33,2	48,6

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 65. Vsebnost **etil parabena v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	87	2,72	3,13	<MK	230	<MK	<MK	19,7	33,1
Geografsko območje	Goričko	131	42	3,25	4,12	<MK	230	<MK	<MK	18,6	40,0
	Ravninski del	63	24	2,57	2,67	<MK	83,0	<MK	<MK	20,1	25,7
	Lendavske Gorice	52	21	1,86	1,89	<MK	102	<MK	<MK	11,8	27,2
Spol otroka	Fantki	121	46	2,31	2,67	<MK	230	<MK	<MK	18,1	20,7
	Deklice	125	41	3,19	3,52	<MK	102	<MK	<MK	24,9	36,2
Starostna skupina	7-10 let	149	60	2,65	2,42	<MK	230	<MK	<MK	19,7	27,2
	12-15 let	97	27	2,84	3,52	<MK	83,0	<MK	<MK	20,2	41,6

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 66. Vsebnost **etil parabena v urinu ($\mu\text{g/L}$ SG)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

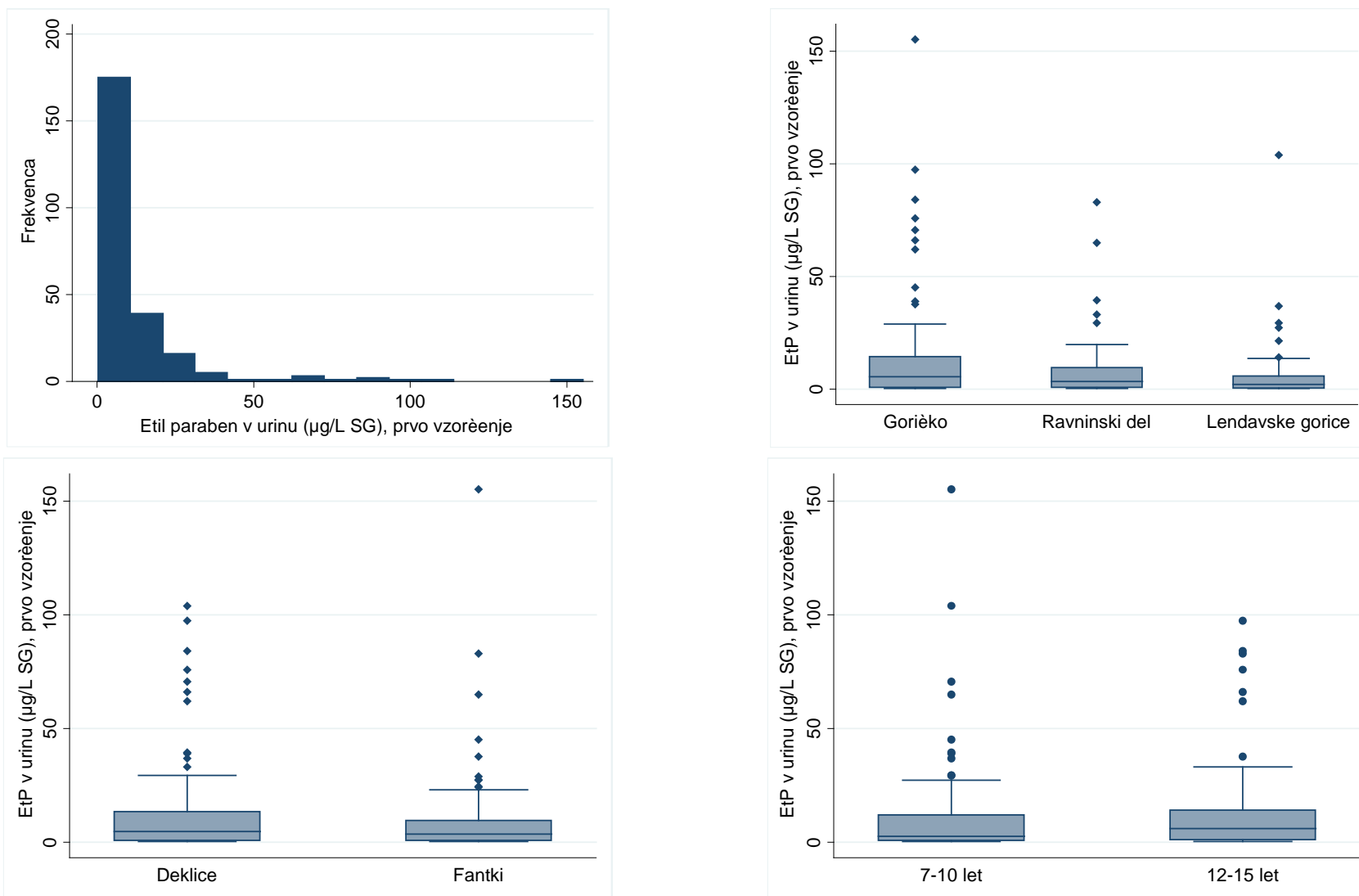
		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	87	3,42	3,94	<MK	155	<MK	<MK	24,6	39,0
Geografsko območje	Goričko	131	42	4,35	5,55	<MK	155	<MK	<MK	27,1	62,0
	Ravninski del	63	24	3,00	3,50	<MK	83,0	<MK	<MK	19,6	33,2
	Lendavske Gorice	52	21	2,18	2,06	<MK	104	<MK	<MK	14,2	29,5
Spol otroka	Fantki	121	46	2,95	3,62	<MK	155	<MK	<MK	20,9	27,4
	Deklice	125	41	3,95	4,71	<MK	104	<MK	<MK	29,4	62,0
Starostna skupina	7-10 let	149	60	2,84	2,55	<MK	155	<MK	<MK	20,1	36,9
	12-15 let	97	27	4,55	5,95	<MK	97,5	<MK	<MK	27,4	66,0

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

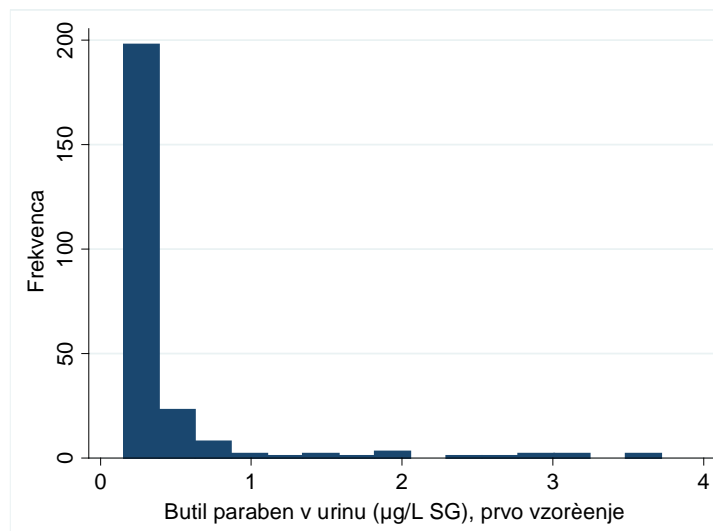
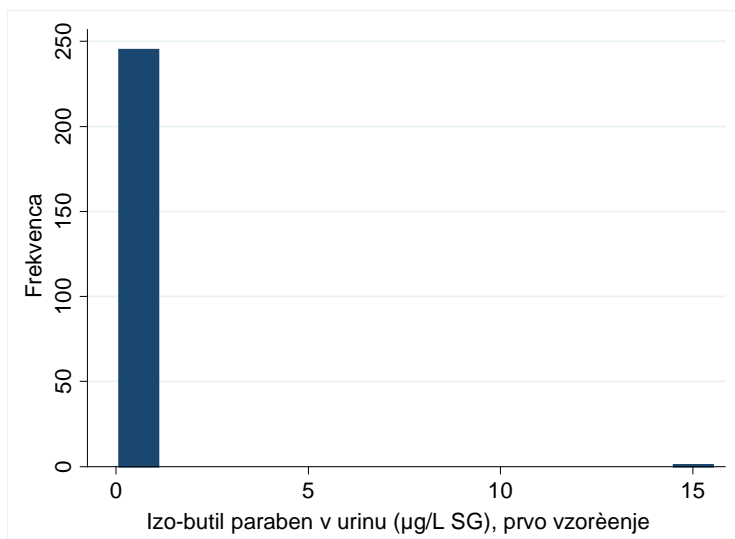
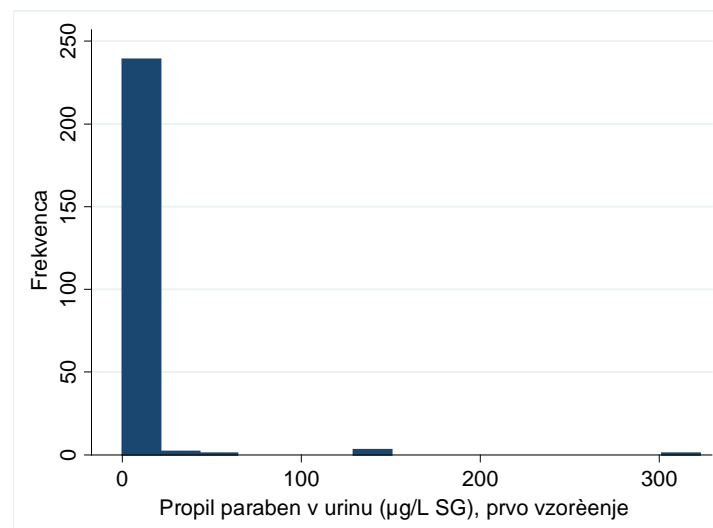
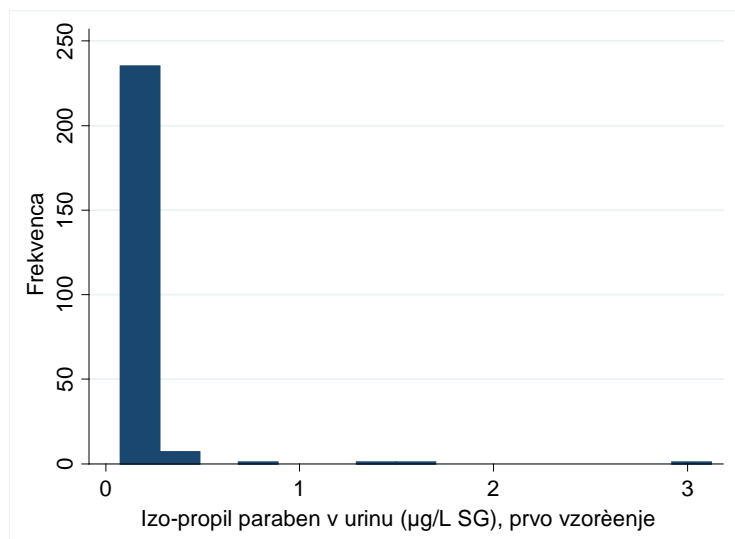
Tabela 67. Vsebnost **etil parabena v urinu ($\mu\text{g/L SG}$)** glede na uporabo balzama za ustnice.

		N	N<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
Uporaba balzama za ustnice oz. šminke	Ne	145	58	2,69	3,39	<MZ	155	0,38	0,40	20,9	27,2
	Da	101	29	4,11	5,55	<MZ	97,5	0,46	0,58	29,4	45,1

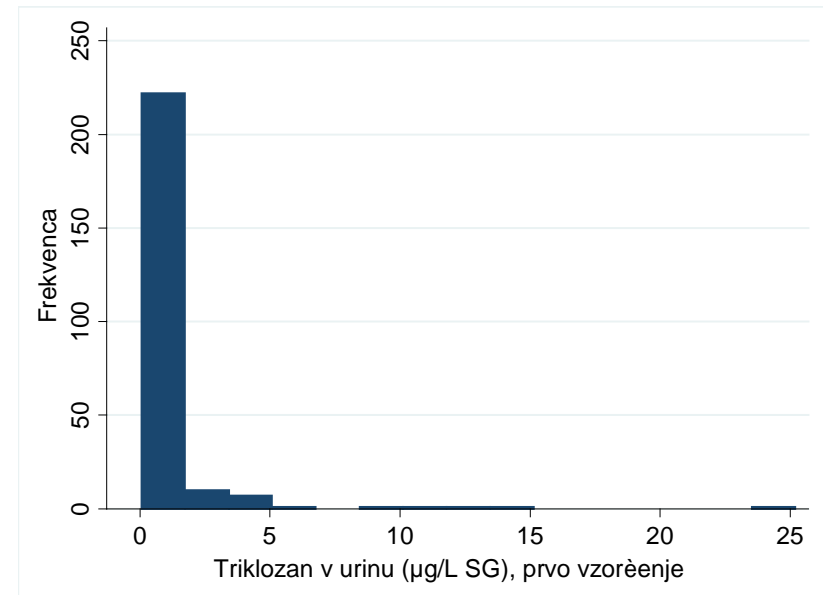
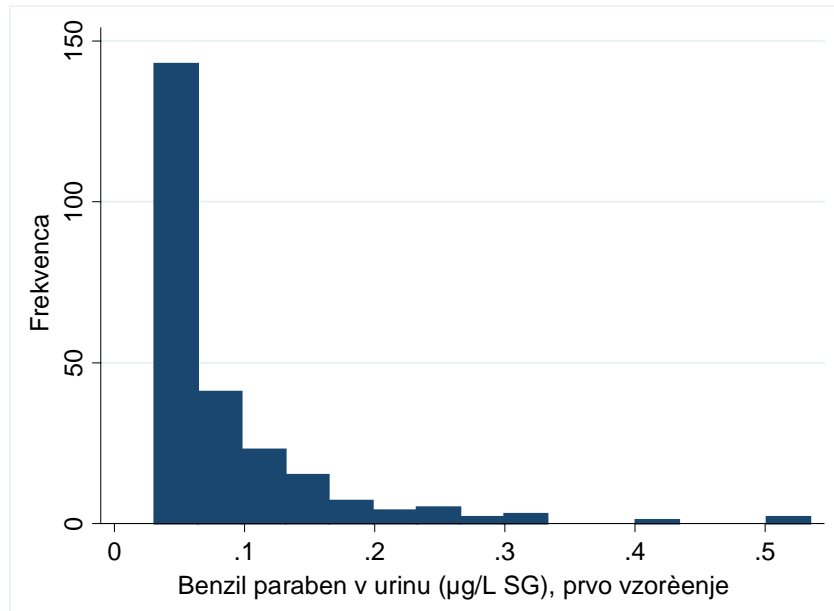
N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije



Slika 39. Vsebnost **etil parabena** v urinu ($\mu\text{g/L SG}$) otrok in mladostnikov glede na območje bivanja, spol in starostno skupino.



Slika 40. Porazdelitev vsebnosti **presnovkov parabenov** (izp-propil paraben, propil paraben, izobutil paraben, butil paraben) v urinu ($\mu\text{g/L SG}$) prvega vzorčenja.



Slika 41. Porazdelitev vsebnosti **benzil parabena** in **triklozana** v urinu ($\mu\text{g/L SG}$) prvega vzorčenja.

Tabela 68. Vsebnosti **izo-propil parabena v urinu ($\mu\text{g/L}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	243	-	<MK	<MK	1,23	<MK	<MK	<MK	<MK
Geografsko območje	Goričko	131	129	-	<MK	<MK	0,93	<MK	<MK	<MK	<MK
	Ravninski del	63	63	-	<MK	<MK	<MZ	<MK	<MK	<MK	<MK
	Lendavske Gorice	52	51	-	<MK	<MK	1,23	<MK	<MK	<MK	<MK
Spol otroka	Fantki	121	119	-	<MK	<MK	1,22	<MK	<MK	<MK	<MK
	Deklince	125	124	-	<MK	<MK	0,93	<MK	<MK	<MK	<MK
Starostna skupina	7-10 let	149	148	-	<MK	<MK	1,23	<MK	<MK	<MK	<MK
	12-15 let	97	95	-	<MK	<MK	0,93	<MK	<MK	<MK	<MK

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 69. Vsebnosti **izo-propil parabena v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	243	-	<MK	<MK	2,30	<MK	<MK	<MK	<MK
Geografsko območje	Goričko	131	129	-	<MK	<MK	2,30	<MK	<MK	<MK	<MK
	Ravninski del	63	63	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK
	Lendavske Gorice	52	51	-	<MK	<MK	1,94	<MK	<MK	<MK	<MK
Spol otroka	Fantki	121	119	-	<MK	<MK	2,30	<MK	<MK	<MK	<MK
	Deklince	125	124	-	<MK	<MK	1,55	<MK	<MK	<MK	<MK
Starostna skupina	7-10 let	149	148	-	<MK	<MK	1,94	<MK	<MK	<MK	<MK
	12-15 let	97	95	-	<MK	<MK	2,30	<MK	<MK	<MK	<MK

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 70. Vsebnosti **izo-propil parabena v urinu ($\mu\text{g/L}$ SG)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	243	-	<MK	<MK	3,12	<MK	<MK	<MK	<MK
Geografsko območje	Goričko	131	129	-	<MK	<MK	3,12	<MK	<MK	<MK	<MK
	Ravninski del	63	63	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK
	Lendavske Gorice	52	51	-	<MK	<MK	1,34	<MK	<MK	<MK	<MK
Spol otroka	Fantki	121	119	-	<MK	<MK	3,12	<MK	<MK	<MK	<MK
	Deklince	125	124	-	<MK	<MK	1,65	<MK	<MK	<MK	<MK
Starostna skupina	7-10 let	149	148	-	<MK	<MK	1,34	<MK	<MK	<MK	<MK
	12-15 let	97	95	-	<MK	<MK	3,12	<MK	<MK	<MK	<MK

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 71. Vsebnosti **propil parabena v urinu ($\mu\text{g/L}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	198	-	<MK	<MK	182	<MK	<MK	0,96	3,12
Geografsko območje	Goričko	131	105	-	<MK	<MK	182	<MK	<MK	0,62	2,23
	Ravninski del	63	49	-	<MK	<MK	148	<MK	<MK	1,92	6,07
	Lendavske Gorice	52	44	-	<MK	<MK	111	<MK	<MK	0,65	38,1
Spol otroka	Fantki	121	103	-	<MK	<MK	148	<MK	<MK	0,41	2,23
	Deklince	125	95	-	<MK	<MK	182	<MK	<MK	1,21	3,12
Starostna skupina	7-10 let	149	122	-	<MK	<MK	182	<MK	<MK	0,89	3,12
	12-15 let	97	76	-	<MK	<MK	66,0	<MK	<MK	1,21	3,95

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 72. Vsebnosti **propil parabena v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	198	-	<MK	<MK	422	<MK	<MK	0,86	3,60
Geografsko območje	Goričko	131	105	-	<MK	<MK	155	<MK	<MK	0,78	1,63
	Ravninski del	63	49	-	<MK	<MK	422	<MK	<MK	2,22	3,81
	Lendavske Gorice	52	44	-	<MK	<MK	133	<MK	<MK	0,55	21,2
Spol otroka	Fantki	121	103	-	<MK	<MK	422	<MK	<MK	0,44	1,26
	Deklince	125	95	-	<MK	<MK	155	<MK	<MK	1,02	3,60
Starostna skupina	7-10 let	149	122	-	<MK	<MK	422	<MK	<MK	0,86	3,60
	12-15 let	97	76	-	<MK	<MK	32,1	<MK	<MK	0,86	3,81

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 73. Vsebnosti **propil parabena v urinu ($\mu\text{g/L SG}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	198	-	<MK	<MK	323	<MK	<MK	0,89	4,42
Geografsko območje	Goričko	131	105	-	<MK	<MK	144	<MK	<MK	0,87	2,20
	Ravninski del	63	49	-	<MK	<MK	323	<MK	<MK	2,34	7,69
	Lendavske Gorice	52	44	-	<MK	<MK	140	<MK	<MK	0,62	34,3
Spol otroka	Fantki	121	103	-	<MK	<MK	323	<MK	<MK	0,43	1,91
	Deklince	125	95	-	<MK	<MK	144	<MK	<MK	1,47	4,42
Starostna skupina	7-10 let	149	122	-	<MK	<MK	323	<MK	<MK	0,78	4,42
	12-15 let	97	76	-	<MK	<MK	54,3	<MK	<MK	1,47	6,48

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 74. Vsebnosti **izo-butil parabena v urinu ($\mu\text{g/L}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	245	-	<MK	<MK	20,3	<MK	<MK	<MK	<MK
Geografsko območje	Goričko	131	131	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK
	Ravninski del	63	62	-	<MK	<MK	20,3	<MK	<MK	<MK	<MK
	Lendavske Gorice	52	52	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK
Spol otroka	Fantki	121	121	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK
	Deklice	125	124	-	<MK	<MK	20,3	<MK	<MK	<MK	<MK
Starostna skupina	7-10 let	149	148	-	<MK	<MK	20,3	<MK	<MK	<MK	<MK
	12-15 let	97	97	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 75. Vsebnosti **izo-butil parabena v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	245	-	<MK	<MK	23,9	<MK	<MK	<MK	<MK
Geografsko območje	Goričko	131	131	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK
	Ravninski del	63	62	-	<MK	<MK	23,9	<MK	<MK	<MK	<MK
	Lendavske Gorice	52	52	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK
Spol otroka	Fantki	121	121	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK
	Deklice	125	124	-	<MK	<MK	23,9	<MK	<MK	<MK	<MK
Starostna skupina	7-10 let	149	148	-	<MK	<MK	23,9	<MK	<MK	<MK	<MK
	12-15 let	97	97	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 76. Vsebnosti **izo-butil parabena v urinu ($\mu\text{g/L SG}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	245	-	<MK	<MK	15,5	<MK	<MK	<MK	<MK
Geografsko območje	Goričko	131	131	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK
	Ravninski del	63	62	-	<MK	<MK	15,5	<MK	<MK	<MK	<MK
	Lendavske Gorice	52	52	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK
Spol otroka	Fantki	121	121	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK
	Deklice	125	124	-	<MK	<MK	15,5	<MK	<MK	<MK	<MK
Starostna skupina	7-10 let	149	148	-	<MK	<MK	15,5	<MK	<MK	<MK	<MK
	12-15 let	97	97	-	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK	<MK

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 77. Vsebnosti **butil parabena v urinu ($\mu\text{g/L}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	227	-	<MK	<MK	4,23	<MK	<MK	<MK	0,99
Geografsko območje	Goričko	131	117	-	<MK	<MK	4,23	<MK	<MK	0,70	2,31
	Ravninski del	63	60	-	<MK	<MK	2,30	<MK	<MK	<MK	<MK
	Lendavske Gorice	52	50	-	<MK	<MK	3,19	<MK	<MK	<MK	<MK
Spol otroka	Fantki	121	116	-	<MK	<MK	4,23	<MK	<MK	<MK	<MK
	Deklice	125	111	-	<MK	<MK	3,74	<MK	<MK	0,71	2,17
Starostna skupina	7-10 let	149	137	-	<MK	<MK	3,10	<MK	<MK	<MK	0,86
	12-15 let	97	90	-	<MK	<MK	4,23	<MK	<MK	<MK	2,31

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 78. Vsebnosti **butil parabena v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	227	-	<MK	<MK	3,41	<MK	<MK	<MK	1,23
Geografsko območje	Goričko	131	117	-	<MK	<MK	3,41	<MK	<MK	0,79	1,58
	Ravninski del	63	60	-	<MK	<MK	1,45	<MK	<MK	<MK	<MK
	Lendavske Gorice	52	50	-	<MK	<MK	1,89	<MK	<MK	<MK	<MK
Spol otroka	Fantki	121	116	-	<MK	<MK	3,41	<MK	<MK	<MK	<MK
	Deklice	125	111	-	<MK	<MK	3,41	<MK	<MK	0,72	1,46
Starostna skupina	7-10 let	149	137	-	<MK	<MK	3,41	<MK	<MK	<MK	1,45
	12-15 let	97	90	-	<MK	<MK	1,89	<MK	<MK	<MK	1,45

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 79. Vsebnosti **butil parabena v urinu ($\mu\text{g/L SG}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	227	-	<MK	<MK	3,72	<MK	<MK	<MK	1,49
Geografsko območje	Goričko	131	117	-	<MK	<MK	3,72	<MK	<MK	0,95	1,90
	Ravninski del	63	60	-	<MK	<MK	2,30	<MK	<MK	<MK	<MK
	Lendavske Gorice	52	50	-	<MK	<MK	3,64	<MK	<MK	<MK	<MK
Spol otroka	Fantki	121	116	-	<MK	<MK	3,72	<MK	<MK	<MK	<MK
	Deklice	125	111	-	<MK	<MK	3,12	<MK	<MK	0,95	1,84
Starostna skupina	7-10 let	149	137	-	<MK	<MK	3,72	<MK	<MK	<MK	1,44
	12-15 let	97	90	-	<MK	<MK	3,64	<MK	<MK	<MK	1,84

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 80. Vsebnosti **benzil parabena v urinu ($\mu\text{g/L}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	193	-	<MK	<MK	0,61	<MK	<MK	0,17	0,23
Geografsko območje	Goričko	131	100	-	<MK	<MK	0,61	<MK	<MK	0,18	0,23
	Ravninski del	63	52	-	<MK	<MK	0,39	<MK	<MK	0,17	0,30
	Lendavske Gorice	52	41	-	<MK	<MK	0,23	<MK	<MK	0,14	0,20
Spol otroka	Fantki	121	98	-	<MK	<MK	0,37	<MK	<MK	0,17	0,22
	Deklice	125	95	-	<MK	<MK	0,61	<MK	<MK	0,16	0,23
Starostna skupina	7-10 let	149	118	-	<MK	<MK	0,61	<MK	<MK	0,14	0,22
	12-15 let	97	75	-	<MK	<MK	0,42	<MK	<MK	0,20	0,25

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 81. Vsebnosti **benzil parabena v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	193	-	<MK	<MK	0,70	<MK	<MK	0,14	0,19
Geografsko območje	Goričko	131	100	-	<MK	<MK	0,39	<MK	<MK	0,13	0,16
	Ravninski del	63	52	-	<MK	<MK	0,70	<MK	<MK	0,19	0,25
	Lendavske Gorice	52	41	-	<MK	<MK	0,36	<MK	<MK	0,11	0,18
Spol otroka	Fantki	121	98	-	<MK	<MK	0,70	<MK	<MK	0,14	0,19
	Deklice	125	95	-	<MK	<MK	0,44	<MK	<MK	0,14	0,16
Starostna skupina	7-10 let	149	118	-	<MK	<MK	0,70	<MK	<MK	0,16	0,23
	12-15 let	97	75	-	<MK	<MK	0,36	<MK	<MK	0,12	0,16

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 82. Vsebnosti **benzil parabena v urinu ($\mu\text{g/L SG}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		246	193	-	<MK	<MK	0,53	<MK	<MK	0,16	0,23
Geografsko območje	Goričko	131	100	-	<MK	<MK	0,42	<MK	<MK	0,17	0,20
	Ravninski del	63	52	-	<MK	<MK	0,53	<MK	<MK	0,20	0,30
	Lendavske Gorice	52	41	-	<MK	<MK	0,26	<MK	<MK	0,13	0,21
Spol otroka	Fantki	121	98	-	<MK	<MK	0,53	<MK	<MK	0,16	0,21
	Deklice	125	95	-	<MK	<MK	0,42	<MK	<MK	0,16	0,25
Starostna skupina	7-10 let	149	118	-	<MK	<MK	0,53	<MK	<MK	0,15	0,26
	12-15 let	97	75	-	<MK	<MK	0,53	<MK	<MK	0,19	0,20

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 83. Vsebnosti **triklozana v urinu ($\mu\text{g/L}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		245	175	-	<MK	<MK	35,1	<MK	<MK	1,01	3,10
Geografsko območje	Goričko	130	94	-	<MK	<MK	16,8	<MK	<MK	0,88	3,40
	Ravninski del	63	40	-	<MK	<MK	8,22	<MK	<MK	0,73	1,37
	Lendavske Gorice	52	41	-	<MK	<MK	35,1	<MK	<MK	1,85	6,48
Spol otroka	Fantki	120	89	-	<MK	<MK	16,8	<MK	<MK	0,77	2,67
	Deklice	125	86	-	<MK	<MK	35,1	<MK	<MK	1,78	3,40
Starostna skupina	7-10 let	149	114	-	<MK	<MK	16,8	<MK	<MK	0,56	2,13
	12-15 let	96	61	-	<MK	<MK	35,1	<MK	<MK	2,34	4,47

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 84. Vsebnosti **triklozana v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		245	175	-	<MK	<MK	15,5	<MK	<MK	0,98	2,83
Geografsko območje	Goričko	130	94	-	<MK	<MK	10,7	<MK	<MK	1,01	3,17
	Ravninski del	63	40	-	<MK	<MK	15,5	<MK	<MK	0,71	1,11
	Lendavske Gorice	52	41	-	<MK	<MK	12,8	<MK	<MK	1,48	4,80
Spol otroka	Fantki	120	89	-	<MK	<MK	15,5	<MK	<MK	0,68	2,54
	Deklice	125	86	-	<MK	<MK	12,8	<MK	<MK	1,48	2,83
Starostna skupina	7-10 let	149	114	-	<MK	<MK	10,7	<MK	<MK	0,67	2,83
	12-15 let	96	61	-	<MK	<MK	15,5	<MK	<MK	1,48	3,22

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 85. Vsebnosti **triklozana v urinu ($\mu\text{g/L SG}$)** pri prvem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

		N	<MZ	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95
SKUPAJ		245	175	-	<MK	<MK	25,2	<MK	<MK	1,24	3,42
Geografsko območje	Goričko	130	94	-	<MK	<MK	14,4	<MK	<MK	1,51	3,54
	Ravninski del	63	40	-	<MK	<MK	13,2	<MK	<MK	0,97	1,46
	Lendavske Gorice	52	41	-	<MK	<MK	25,2	<MK	<MK	2,24	4,38
Spol otroka	Fantki	120	89	-	<MK	<MK	14,4	<MK	<MK	0,91	2,82
	Deklice	125	86	-	<MK	<MK	25,2	<MK	<MK	2,15	3,54
Starostna skupina	7-10 let	149	114	-	<MK	<MK	14,4	<MK	<MK	0,69	2,99
	12-15 let	96	61	-	<MK	<MK	25,2	<MK	<MK	2,19	3,80

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

3.5 Glifosat

V Tabelah 84 - 86 so predstavljene urinske vrednosti glifosata za prvo in drugo vzorčenje glede na ne-normirane podatke (Tabela 84), podatke normirane na kreatinin (Tabela 85) ter na specifično gostoto (Tabela 86). Podobno so v Tabelah 87 - 89 predstavljene urinske vrednosti metabolita AMPA za prvo in drugo vzorčenje. Vse vrednosti so predstavljene za celotno populacijo ter glede na spol, starost ter geografsko področje.

Vrednosti glifosata in metabolita AMPA so v urinu otrok in mladostnikov (n=246) **zelo nizke** ne glede na časovno obdobje vzorčenja (Slika 42). Pri prvem vzorčenju sta bila glifosat in AMPA pod mejo kvantifikacije (MK=0,1 µg/L) pri 73 in 50% urinskih vzorcev, ter pri drugem vzorčenju pri 78 in 44% urinskih vzorcev. Maksimalna vrednostl za glifosat in AMPA so b 0,39 µg/L in 0,45 pri prvem vzorčenju ter 0,38 µg/L in 0,76 µg/L pri drugem vzorčenju. Nihče od preiskovancev (ne glede na čas vzorčenja) ni presegel okvirno določene referenčne vrednosti 0,8 µg/L (Hoppe in sod., 2013) za glifosat, medtem ko je v primeru AMPA referenčno vrednost 0,5 µg/L (Hoppe in sod., 2013) presegalo 22 preiskovancev (10%) samo pri drugem vzorčenju (Hoppe in sod. 2013) (Tabele 84 - 89).

Primerjava koncentracij glifosata z rezultati preteklih študij:

- ZDA, Iowa v letu 2001, n=98, otroci in mladostniki 1-16 let stari, GM = 2,5 µg/L (Curwin in sod. 2007);
- Danska v letih 2011-2012, n = 14, otroci 6-11 let stari, GM = 1,96 µg/L (Knudsen in sod. 2017).

V splošnem se vrednosti glifosata in AMPA niso bistveno razlikovale glede na obdobje in območje vzorčenja, spol otroka ali starostno skupino (Tabele 34 do 39). Pri primerjavah vrednosti med skupinami smo opazili pomemben vpliv normiranja urina (predvsem kreatinina). Kljub temu, smo pri primerjavi vrednosti 95. percentilov (Sliki 43 in 44) na področju **Lendavskih goric** opazili višje vrednosti glifosata ob prvem vzorčenju (0,27 µg/L) v primerjavi z drugim vzorčenjem (0,11 µg/L), trend je bil enak ne glede na metodo normiranja urinskih vrednosti (Slika 43).

Glede na podatke iz anketiranj je bila v **46 primerih (19 %)** poročana uporaba herbicidov (v 15 primerih uporaba proizvoda »Boom Efekt«) v neposredni okolici bivanja otroka (sadovnjaki, vinogradi, vrtički itd.). Statistična analiza ni pokazala signifikantnega vpliva uporabe herbicidov na vrednosti glifosata ali metabolita AMPA v urinu. Prav tako na vrednosti ni bilo opaženega signifikantnega vpliva drugih potencialnih virov izpostavitve kot so: značilnosti otrokovega bivališča in okolice (bližina vinogradov, obdelovalnih polj, sadovnjakov, vrtičkov, igrišča ali pokopališča), čas preživljanja otroka na prostem (spomladi ali pozimi), prehrabne navade, prisotnost domače živali, uporaba javnega vodovoda kot glavnega vira pitne vode.

Tabela 86. Vsebnosti **glifosata v urinu ($\mu\text{g/L}$)** pri prvem in drugem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

	N	< MZ %	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95	
Prvo vzorčenje											
SKUPAJ	246	73	-	<MK	<MK	0,39	<MK	<MK	0,16	0,19	
Geografsko območje	Goričko	131	77	-	<MK	<MK	0,30	<MK	<MK	0,14	0,18
	Ravninski del	63	70	-	<MK	<MK	0,37	<MK	<MK	0,17	0,19
	Lendavske Gorice	52	67	-	<MK	<MK	0,39	<MK	<MK	0,17	0,27
Spol otroka	Moški	121	69	-	<MK	<MK	0,39	<MK	<MK	0,17	0,20
	Ženski	125	77	-	<MK	<MK	0,37	<MK	<MK	0,14	0,17
Starostna skupina	7-10 let	149	72	-	<MK	<MK	0,39	<MK	<MK	0,16	0,18
	12-25 let	97	74	-	<MK	<MK	0,33	<MK	<MK	0,16	0,21
Drugo vzorčenje											
SKUPAJ	225	78	-	<MK	<MK	0,38	<MK	<MK	0,16	0,19	
Geografsko območje	Goričko	123	79	-	<MK	<MK	0,38	<MK	<MK	0,17	0,20
	Ravninski del	60	72	-	<MK	<MK	0,28	<MK	<MK	0,15	0,21
	Lendavske Gorice	42	83	-	<MK	<MK	0,24	<MK	<MK	0,11	0,12
Spol otroka	Moški	110	76	-	<MK	<MK	0,38	<MK	<MK	0,16	0,20
	Ženski	115	79	-	<MK	<MK	0,37	<MK	<MK	0,14	0,18
Starostna skupina	7-10 let	139	79	-	<MK	<MK	0,37	<MK	<MK	0,14	0,19
	12-25 let	86	77	-	<MK	<MK	0,38	<MK	<MK	0,18	0,20

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 87. Vsebnosti **glifosata v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina)** pri prvem in drugem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

	N	< MZ %	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95	
Prvo vzorčenje											
SKUPAJ	246	73	-	<MK	<MK	0,40	<MK	<MK	0,13	0,17	
Geografsko območje	Goričko	131	77	-	<MK	<MK	0,37	<MK	<MK	0,11	0,14
	Ravninski del	63	70	-	<MK	<MK	0,40	<MK	<MK	0,16	0,25
	Lendavske Gorice	52	67	-	<MK	<MK	0,29	<MK	<MK	0,17	0,21
Spol otroka	Moški	121	69	-	<MK	<MK	0,40	<MK	<MK	0,16	0,23
	Ženski	125	77	-	<MK	<MK	0,37	<MK	<MK	0,13	0,16
Starostna skupina	7-10 let	149	72	-	<MK	<MK	0,40	<MK	<MK	0,16	0,23
	12-25 let	97	74	-	<MK	<MK	0,25	<MK	<MK	0,10	0,13
Drugo vzorčenje											
SKUPAJ	225	78	-	<MK	<MK	0,26	<MK	<MK	0,11	0,13	
Geografsko območje	Goričko	123	79	-	<MK	<MK	0,26	<MK	<MK	0,10	0,13
	Ravninski del	60	72	-	<MK	<MK	0,25	<MK	<MK	0,12	0,18
	Lendavske Gorice	42	83	-	<MK	<MK	0,22	<MK	<MK	0,11	0,12
Spol otroka	Moški	110	76	-	<MK	<MK	0,22	<MK	<MK	0,10	0,13
	Ženski	115	79	-	<MK	<MK	0,26	<MK	<MK	0,11	0,17
Starostna skupina	7-10 let	139	79	-	<MK	<MK	0,26	<MK	<MK	0,11	0,17
	12-25 let	86	77	-	<MK	<MK	0,19	<MK	<MK	0,10	0,12

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 88. Vsebnosti **glifosata v urinu (µg/L SG)** pri prvem in drugem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

	N	<MZ %	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95	
Prvo vzorčenje											
SKUPAJ	244	74	-	<MK	<MK	0,42	<MK	<MK	0,15	0,21	
Geografsko območje	Goričko	130	78	-	<MK	<MK	0,29	<MK	<MK	0,15	0,17
	Ravninski del	63	70	-	<MK	<MK	0,42	<MK	<MK	0,18	0,32
	Lendavske Gorice	51	69	-	<MK	<MK	0,32	<MK	<MK	0,17	0,23
Spol otroka	Moški	119	70	-	<MK	<MK	0,42	<MK	<MK	0,17	0,23
	Ženski	125	77	-	<MK	<MK	0,34	<MK	<MK	0,14	0,19
Starostna skupina	7-10 let	149	72	-	<MK	<MK	0,42	<MK	<MK	0,15	0,21
	12-25 let	95	74	-	<MK	<MK	0,42	<MK	<MK	0,15	0,20
Drugo vzorčenje											
SKUPAJ	224	78	-	<MK	<MK	0,34	<MK	<MK	0,13	0,17	
Geografsko območje	Goričko	122	80	-	<MK	<MK	0,31	<MK	<MK	0,14	0,20
	Ravninski del	60	72	-	<MK	<MK	0,34	<MK	<MK	0,14	0,19
	Lendavske Gorice	42	83	-	<MK	<MK	0,23	<MK	<MK	0,11	0,11
Spol otroka	Moški	109	77	-	<MK	<MK	0,31	<MK	<MK	0,15	0,20
	Ženski	115	79	-	<MK	<MK	0,34	<MK	<MK	0,11	0,16
Starostna skupina	7-10 let	139	79	-	<MK	<MK	0,34	<MK	<MK	0,12	0,15
	12-25 let	85	76	-	<MK	<MK	0,32	<MK	<MK	0,16	0,21

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 89. Vsebnosti **AMPA v urinu (µg/L)** pri prvem in drugem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

	N	<MZ %	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95	
Prvo vzorčenje											
SKUPAJ	246	50	-	<MK	<MK	0,45	<MK	<MK	0,23	0,29	
Geografsko območje	Goričko	131	62	-	<MK	<MK	0,44	<MK	<MK	0,22	0,29
	Ravninski del	63	38	0,10	0,11	<MK	0,42	<MK	<MK	0,25	0,27
	Lendavske Gorice	52	33	0,11	0,11	<MK	0,45	<MK	<MK	0,21	0,38
Spol otroka	Moški	121	42	0,09	0,11	<MK	0,44	<MK	<MK	0,22	0,29
	Ženski	125	57	-	<MK	<MK	0,45	<MK	<MK	0,23	0,29
Starostna skupina	7-10 let	149	48	-	<MK	<MK	0,45	<MK	<MK	0,22	0,29
	12-25 let	97	52	-	<MK	<MK	0,44	<MK	<MK	0,27	0,29
Drugo vzorčenje											
SKUPAJ	225	44	0,10	0,11	<MK	0,76	<MK	<MK	0,24	0,33	
Geografsko območje	Goričko	123	50	-	<MK	<MK	0,41	<MK	<MK	0,24	0,32
	Ravninski del	60	37	0,11	0,12	<MK	0,76	<MK	<MK	0,28	0,34
	Lendavske Gorice	42	38	0,10	0,11	<MK	0,42	<MK	<MK	0,22	0,26
Spol otroka	Moški	110	42	0,11	0,11	<MK	0,42	<MK	<MK	0,32	0,36
	Ženski	115	46	0,09	0,10	<MK	0,76	<MK	<MK	0,22	0,26
Starostna skupina	7-10 let	139	37	0,11	0,12	<MK	0,76	<MK	<MK	0,24	0,33
	12-25 let	86	55	-	<MK	<MK	0,41	<MK	<MK	0,26	0,35

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

Tabela 90. Vsebnosti AMPA v urinu ($\mu\text{g/g}$ kreatinina) pri prvem in drugem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

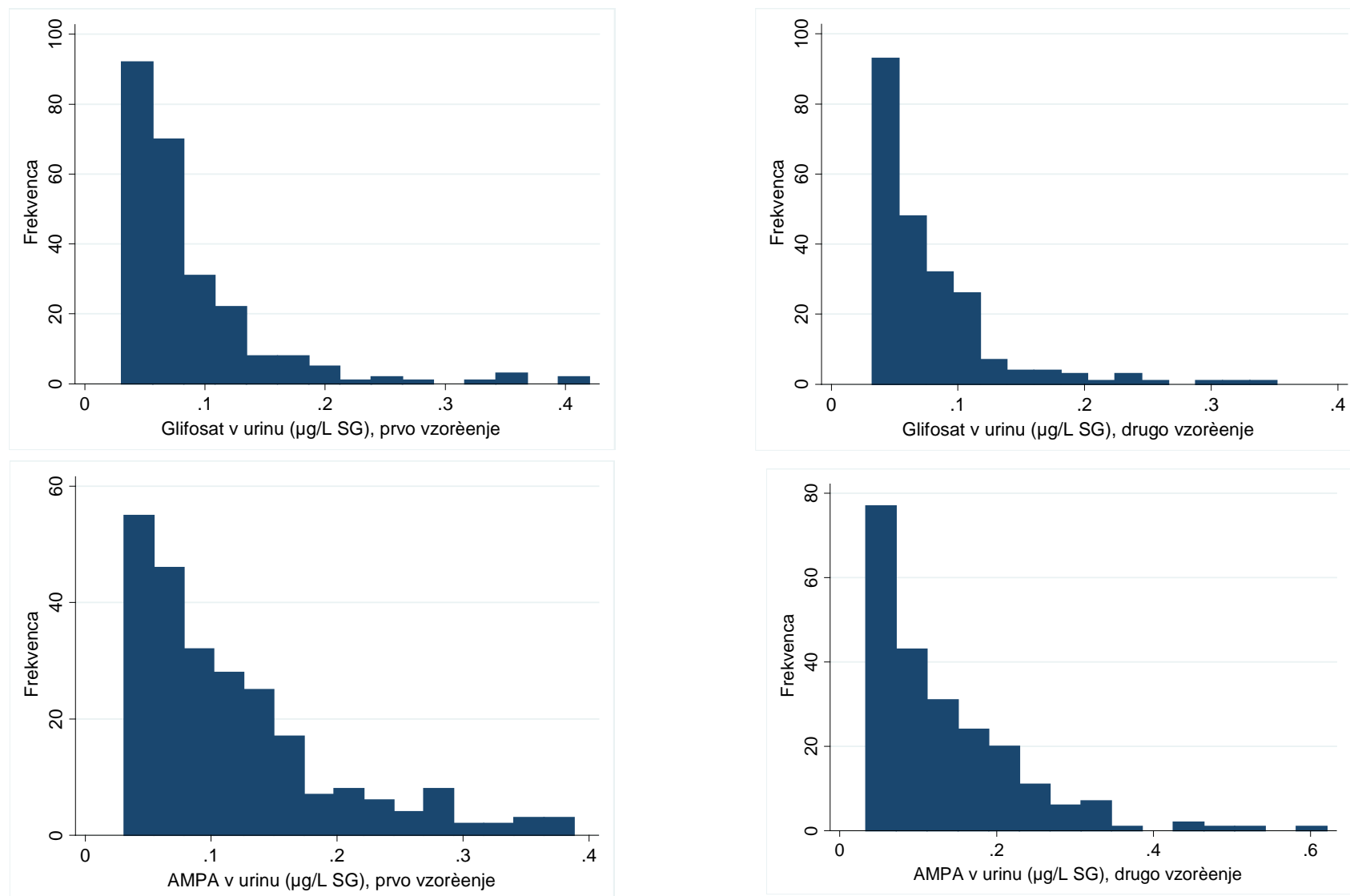
	N	< MZ %	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95	
Prvo vzorčenje											
SKUPAJ	246	50	-	<MK	<MK	0,56	<MK	<MK	0,19	0,25	
Geografsko območje	Goričko	131	62	-	<MK	<MK	0,37	<MK	<MK	0,16	0,20
	Ravninski del	63	38	-	<MK	<MK	0,32	<MK	<MK	0,24	0,26
	Lendavske Gorice	52	33	-	<MK	<MK	0,56	<MK	<MK	0,22	0,28
Spol otroka	Moški	121	42	-	<MK	<MK	0,32	<MK	<MK	0,20	0,25
	Ženski	125	57	-	<MK	<MK	0,56	<MK	<MK	0,17	0,23
Starostna skupina	7-10 let	149	48	-	<MK	<MK	0,56	<MK	<MK	0,23	0,28
	12-25 let	97	52	-	<MK	<MK	0,24	<MK	<MK	0,15	0,18
Drugo vzorčenje											
SKUPAJ	225	44	-	<MK	<MK	0,58	<MK	<MK	0,20	0,26	
Geografsko območje	Goričko	123	50	-	<MK	<MK	0,47	<MK	<MK	0,18	0,22
	Ravninski del	60	37	0,08	0,11	<MK	0,45	<MK	<MK	0,24	0,28
	Lendavske Gorice	42	38	-	<MK	<MK	0,58	<MK	<MK	0,22	0,30
Spol otroka	Moški	110	42	-	<MK	<MK	0,58	<MK	<MK	0,21	0,27
	Ženski	115	46	-	<MK	<MK	0,47	<MK	<MK	0,20	0,23
Starostna skupina	7-10 let	139	37	0,10	0,10	<MZ	0,58	<MK	<MK	0,23	0,30
	12-25 let	86	55	-	<MK	<MK	0,26	<MK	<MK	0,16	0,18

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije

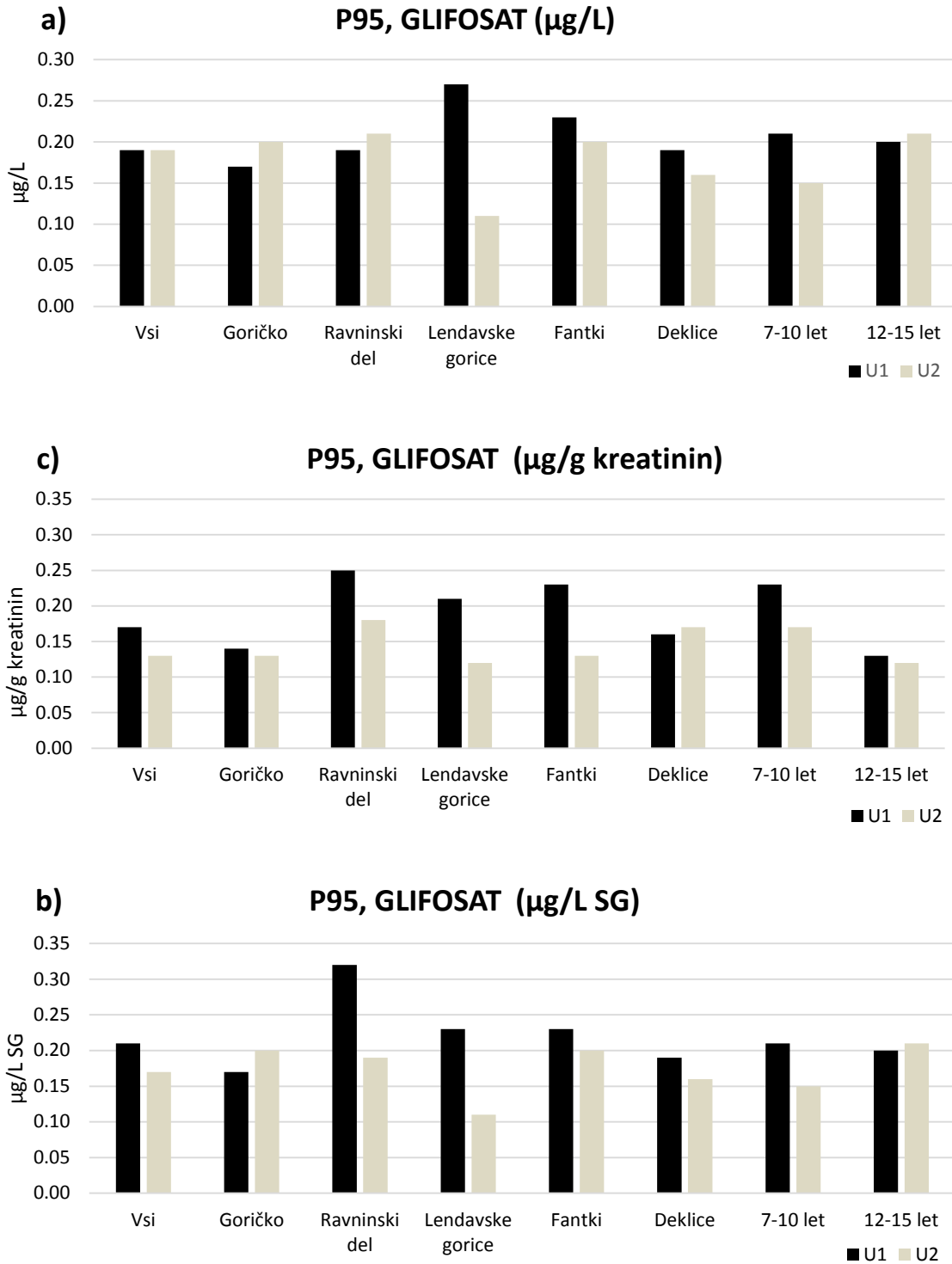
Tabela 91. Vsebnosti AMPA v urinu ($\mu\text{g/L}$ SG) pri prvem in drugem vzorčenju po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah.

	N	< MK %	GM	P50	Min	Max	P5	P10	P90	P95	
Prvo vzorčenje											
SKUPAJ	244	50	-	<MK	<MK	0,39	<MK	<MK	0,22	0,29	
Geografsko območje	Goričko	130	62	-	<MK	<MK	0,35	<MK	<MK	0,20	0,28
	Ravninski del	63	38	0,11	0,11	<MZ	0,39	<MK	<MK	0,22	0,27
	Lendavske Gorice	51	33	0,11	0,12	<MZ	0,39	<MK	<MK	0,25	0,36
Spol otroka	Moški	121	42	0,11	0,10	<MZ	0,39	<MK	<MK	0,25	0,33
	Ženski	125	57	-	<MK	<MK	0,36	<MK	<MK	0,20	0,29
Starostna skupina	7-10 let	149	48	-	<MK	<MK	0,37	<MK	<MK	0,22	0,28
	12-25 let	97	52	-	<MK	<MK	0,39	<MK	<MK	0,25	0,31
Drugo vzorčenje											
SKUPAJ	224	44	0,10	0,11	<MK	0,59	<MK	<MK	0,26	0,33	
Geografsko območje	Goričko	123	50	-	<MK	<MK	0,49	<MK	<MK	0,23	0,30
	Ravninski del	60	37	0,12	0,12	<MK	0,59	<MK	<MK	0,28	0,32
	Lendavske Gorice	42	38	0,12	0,13	<MK	0,49	<MK	<MK	0,27	0,36
Spol otroka	Moški	110	42	0,11	0,11	<MK	0,49	<MK	<MK	0,30	0,33
	Ženski	115	46	-	<MK	<MK	0,59	<MK	<MK	0,21	0,26
Starostna skupina	7-10 let	139	37	0,11	0,11	<MK	0,59	<MK	<MK	0,27	0,32
	12-25 let	86	55	-	<MK	<MK	0,41	<MK	<MK	0,26	0,33

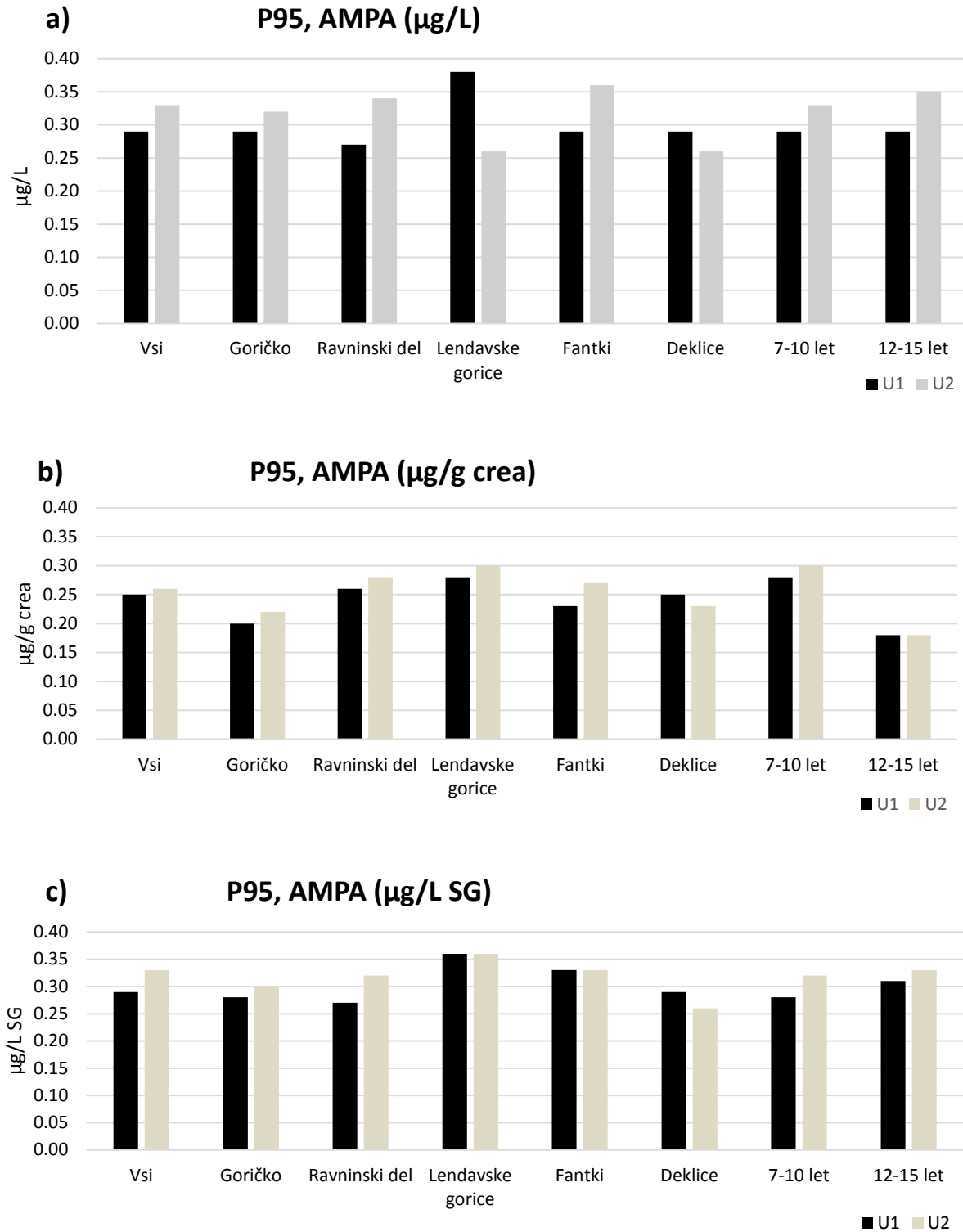
N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; MK=meja kvantifikacije



Slika 42. Porazdelitev vsebnosti **glifosata** in presnovka **AMPA** v urinu ($\mu\text{g/L SG}$) prvega in drugega vzorčenja.



Slika 43: Primerjava vrednosti 95-tega percentila (P95) glifosata med prvim (U1) in drugim (U2) vzorčenjem pri celotni populaciji ter znotraj posameznih skupin področja, spola in starosti. Vrednosti so predstavljene glede na: a) ne-normirane podatke, b) normirane na kreatinin ali c) normirane na SG.



Slika 44: Primerjava vrednosti 95-tega percentila (P95) AMPA med prvim (U1) in drugim (U2) vzorčenjem pri celotni populaciji ter znotraj posameznih skupin področja, spola in starosti. Vrednosti so predstavljene glede na: a) ne-normirane podatke, b) normirane na kreatinin ali c) normirane na SG.

3.6 PAH

V nadaljevanju so prikazani rezultati analiz presnovkov PAH v urinu in sicer 1-OH-PYR, 2-OH-NAP, vsota 2-OH-fluorena in 3-OH-fluorena (v nadaljevanju Σ OH-FLU) in vsota hidroksi fenantrenov (1, 9, 2, 3 in 4-hidroksi fenantren (v nadaljevanju Σ OH-PHE)). Podatke smo primerjali glede na spol, starost ter geografsko območje bivanja otrok, kot tudi glede izpostavljenosti pasivnemu kajenju. Te podatke smo pridobili na podlagi analize vprašalnika (odgovori staršev o izpostavljenosti pasivnemu kajenju v bivalnem okolju, avtu, pri sorodnikih, ... ipd.), kjer smo otroke/preiskovance razdelili v dve podskupini in sicer podskupino otrok, ki niso bili izpostavljeni pasivnemu kajenju (78,4 % otrok) in podskupino otrok, ki so bili izpostavljeni pasivnemu kajenju (21,6 % otrok). Pri testiranju statistično značilnih razlik med povprečnimi vrednostmi glede na spol, starost, območje ter pasivno kajenje smo uporabili log-transformirane podatke. Prav tako smo za prikaz razlik med povprečnimi vrednostmi med skupina glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju, zaradi boljše vidljivosti in preglednosti, uporabili logaritmirane vrednosti podatkov. V nadaljevanju so prikazani rezultati po posameznih biomarkerjih PAH v urinu.

3.6.1 1-hidroksi piren, 1-OH-PYR

Tabela 92 prikazuje vrednosti 1-OH-PYR v urinu v $\mu\text{g/L}$ po območju, spolu in starostni skupini preiskovancev.

Tabela 92. Vrednosti **1-OH-PYR v urinu** v $\mu\text{g/L}$ po območju, spolu in starostni skupini.

		N	GM	Min	Max	P5	P50	P90	P90 (95 % IZ- spodnji)	P90 (95 % IZ- zgornji)	P95	P95 (95 % IZ- spodnji)	P95 (95 % IZ- zgornji)
SKUPAJ		241	0,070	0,014	1,41	0,030	0,066	0,144	0,122	0,162	0,172	0,152	0,216
Območje	Goričko	130	0,076	0,014	1,41	0,030	0,071	0,158	0,132	0,204	0,212	0,160	0,410
	Ravninski del	59	0,061	0,026	0,224	0,030	0,058	0,112	0,088	0,162	0,150	0,104	0,224
	Lendavske Gorice	52	0,067	0,018	0,200	0,026	0,069	0,132	0,106	0,172	0,168	0,122	0,200
Spol	Moški	119	0,064	0,014	0,738	0,026	0,060	0,142	0,116	0,182	0,182	0,148	0,318
	Ženski	122	0,077	0,022	1,41	0,038	0,077	0,150	0,116	0,182	0,172	0,150	0,224
Starostna skupina	7-10 let	145	0,071	0,024	0,738	0,032	0,066	0,150	0,118	0,168	0,172	0,152	0,224
	12-15 let	96	0,069	0,014	1,41	0,028	0,065	0,132	0,114	0,200	0,182	0,132	0,278

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; IZ - interval zaupanja

Geometrijska sredina za 1-OH-PYR pri preiskovani populaciji (N=241) je 0,070 $\mu\text{g/L}$ (0,059 $\mu\text{g/g}$ krea), vrednosti pa se gibljejo med 0,014 $\mu\text{g/L}$ in 1,408 $\mu\text{g/L}$ (0,007 $\mu\text{g/g}$ krea oziroma 1,004 $\mu\text{g/g}$ krea). Med območji najbolj izstopa Goričko (N=130), kjer so ugotovljene najvišje vrednosti za 1-OH-PYR v urinu. Zlasti izstopa ugotovljena vrednost pri preiskovanki v starostni skupini 12–15 let, ki je za več kot 20 krat večja od srednje vrednosti (GM) pri preiskovani populaciji. Pri preiskovanki v starostni skupini 12-15 let z območja Goriškega, pri kateri je vrednost 1-OH-PYR znašala 1,41 $\mu\text{g/L}$ (1,004 $\mu\text{g/g}$ kreatinina), gre predvidoma za nedavno prehransko izpostavljenost oziroma izpostavljenost cigaretne dimu. Smiselno je preveriti konkretno izpostavljenost na osnovi ponovljenega vzorčenja.

Glede na populacijsko referenčno vrednost 0,5 $\mu\text{g/L}$ (0,3 $\mu\text{g/g}$ kreatinina) za otroke 3-14 let (Schulz in sod., 2011) lahko ocenimo, da so vrednosti (95. percentil) 1-OH-PYR pri preiskovani populaciji otrok in mladostnikov na obravnavanem območju manjše. Tudi primerjava s podatki

o urinskih vrednostih (GM) za 1-OH-PYR iz razpoložljive literature (Tabela 2) pokaže primerljive oziroma manjše vrednosti.

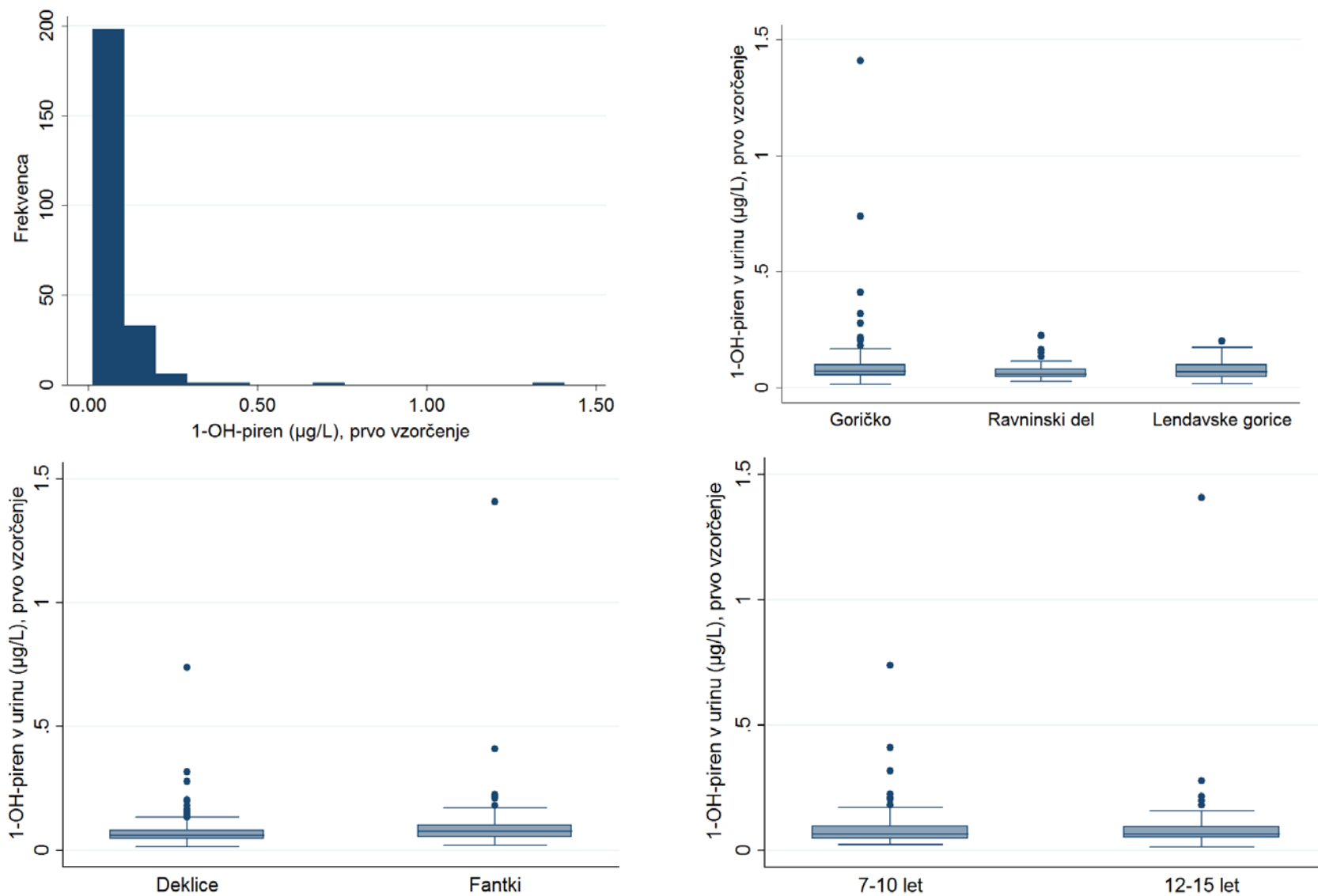
Primerjava povprečnih vrednosti 1-OH-PYR v urinu preiskovancev (test ANOVA na logaritmiranih podatkih) kaže, da razlike v vrednostih 1-OH-PYR med posameznimi območji niso statistično značilne ($p=0,902$). Razlike pa so statistično značilne glede na spol preiskovancev ($p=0,038$) in sicer so vrednosti pri preiskovancih manjše kot pri preiskovankah. Razlike so statistično značilne tudi med obema starostnima skupinama in sicer so vrednosti 1-OH-PYR večje v starostni skupini 6-10 let v primerjavi s starostno skupino 12-15 let ($p<0,001$). Vrednosti 1-OH-PYR v urinu po geografskih območjih, spolu in starostnih skupinah so prikazane na Sliki 45.

Glede izpostavljenosti pasivnemu kajenju primerjava med obema podskupinama otrok, ki so bili oziroma niso bili izpostavljeni pasivnemu kajenju (test ANOVA na logaritmiranih podatkih), pokaže razlike med povprečnimi vrednostmi za 1-OH-PYR, ki niso statistično značilne ($p=0,172$). Vrednosti 1-OH-PYR v urinu glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju so prikazane v spodnji tabeli.

Tabela 93. Vsebnosti 1-OH-PYR v urinu ($\mu\text{g/L}$) glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju.

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5 (95% IZ)	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		241	0,07 (0,06-0,08)	0,07 (0,05-0,089)	0,01	1,4	0,03 (0,02-0,04)	0,04 (0,02-0,05)	0,14 (0,13-0,16)	0,17 (0,16-0,19)
Pasivno kajenje	Ne	186	0,07 (0,06-0,08)	0,07 (0,06-0,08)	0,01	0,74	0,03 (0,02-0,04)	0,04 (0,03-0,05)	0,13 (0,12-0,14)	0,16 (0,15-0,17)
	Da	55	0,08 (0,03-0,13)	0,07 (0,02-0,12)	0,02	1,4	0,03 (/-0,08)	0,04 (/-0,09)	0,17 (0,12-0,22)	0,21 (0,16-0,23)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; IZ - interval zaupanja



Slika 45: Porazdelitev vsebnosti **1-OH-PYR** v urinu ($\mu\text{g/L}$) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

3.6.2 2-hidroksi naftalen, 2-OH-NAP

Tabela 94 prikazuje vrednosti 2-OH-NAP v urinu v $\mu\text{g/L}$ po območju, spolu in starostni skupini preiskovancev.

Tabela 94. Vrednosti **2-OH-NAP v urinu** v $\mu\text{g/L}$ po območju, spolu in starostni skupini.

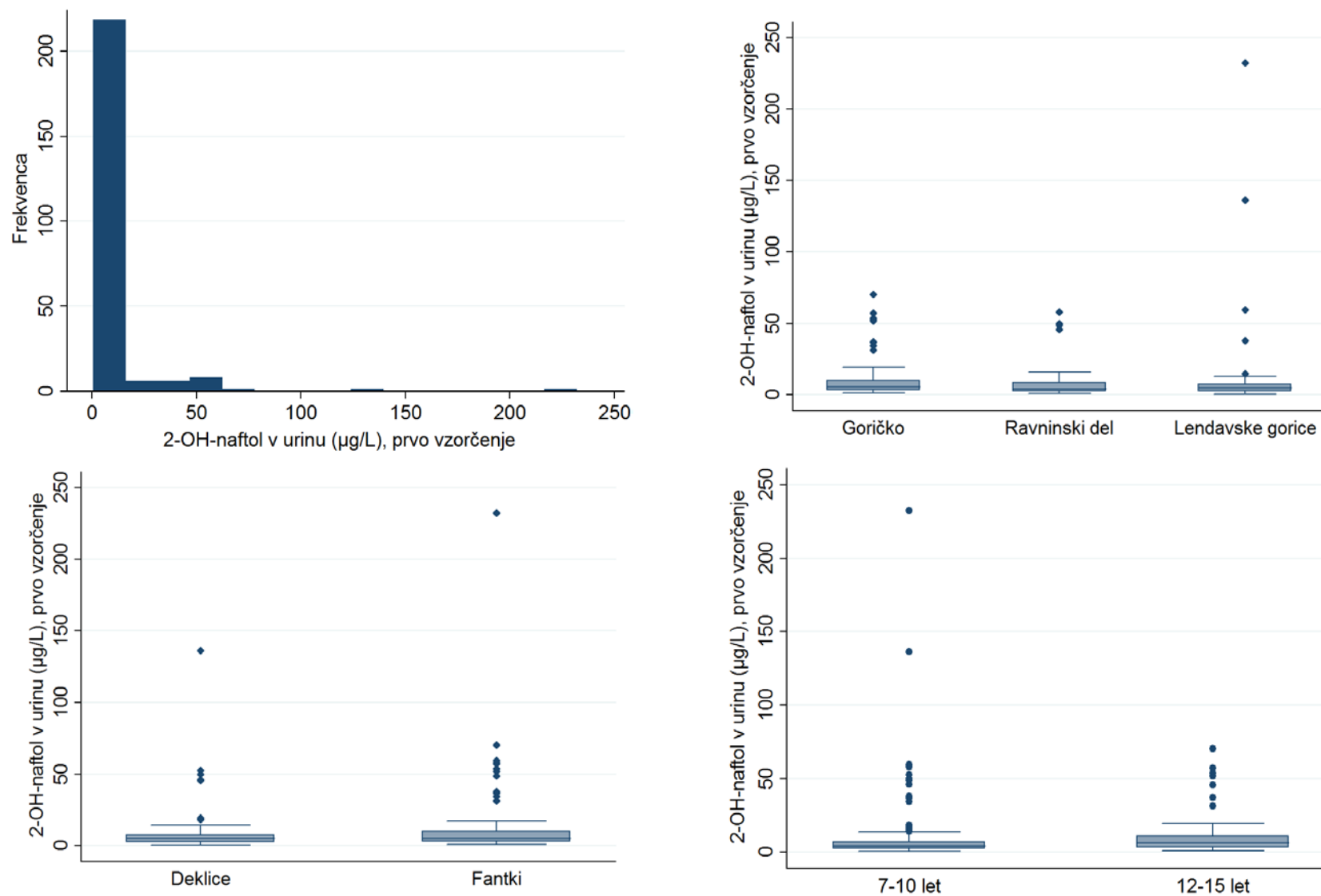
		N	GM	Min	Max	P5	P50	P90	P90 (95 % IZ- spodnji)	P90 (95 % IZ- zgornji)	P95	P95 (95 % IZ- spodnji)	P95 (95 % IZ- zgornji)
SKUPAJ		241	5,34	0,628	232	1,49	4,94	15,4	13,2	34,6	45,6	18,4	53,7
Območje	Goričko	130	5,84	1,15	70,2	1,77	5,63	16,8	12,4	34,6	36,9	16,9	53,7
	Ravninski del	59	4,78	0,952	57,9	1,15	3,85	15,9	12,6	49,7	48,7	15,4	57,9
	Lendavske Gorice	52	4,85	0,628	232	0,828	4,77	12,9	7,75	136	59,3	10,2	232
Spol	Moški	119	4,85	0,628	136	1,32	4,94	13,2	11,2	19,6	19,6	13,5	52,4
	Ženski	122	5,87	0,828	232	1,67	4,94	31,5	13,8	51,8	51,8	31,5	59,3
Starostna skupina	7-10 let	145	4,85	0,628	232	1,32	4,13	15,4	10,6	37,9	45,8	15,9	57,9
	12-15 let	96	6,17	1,06	70,2	1,73	6,30	16,6	13,2	45,6	45,6	16,6	57,1

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; IZ - interval zaupanja

Geometrijska sredina za 2-OH-NAP pri preiskovani populaciji (N=241) je $5,34 \mu\text{g/L}$ ($4,51 \mu\text{g/g}$ krea). Vrednosti se gibljejo med $<1 \mu\text{g/L}$ in $232 \mu\text{g/L}$ ($171,2 \mu\text{g/g}$ krea). 95 percentil je $45,6 \mu\text{g/L}$ ($29,6 \mu\text{g/g}$ krea) z območjem $18,4\text{--}53,7 \mu\text{g/L}$ ($148\text{--}251 \mu\text{g/g}$ krea) pri 95 % intervalu zaupanja. Večje srednje vrednosti so ugotovljene na območju Goričkega, največja ugotovljena posamezna vrednost pa izstopa pri preiskovanki v starostni skupini 7–10 let z območja Lendavskih goric. Ugotovljena vrednost je za več kot 40 krat večja od srednje vrednosti (GM) za 2-OH-NAP v urinu preiskovane populacije.

Ugotovljene vrednosti smo primerjali z orientacijsko vrednostjo (ozadje izpostavljenosti) za 2-OH-NAP, ki velja za nemško populacijo (odrasle nekadilce) in znaša $<20 \mu\text{g/L}$ (Schulz in sod., 2011). Delež otrok v naši raziskavi, pri katerih so ugotovljene večje vrednosti od orientacijskih, znaša 7,5 %, največji delež preseganja te vrednosti pa je ugotovljen na območju Goričkega.

Na splošno so nekoliko večje vrednosti za 2-OH-NAP v urinu ugotovljene pri preiskovankah v primerjavi s preiskovanci, vendar razlike (test ANOVA na logaritmiranih podatkih) niso statistično značilne ($p=0,107$). Nekoliko večje vrednosti so ugotovljene tudi pri starejši starostni skupini v primerjavi z mlajšo, kjer so bile vrednosti manjše, vendar razlike niso statistično značilne ($p=0,069$). Vrednosti 2-OH-NAP v urinu po geografskih območjih, spolu in starostnih skupinah so prikazane na Sliki 46.



Slika 46: Porazdelitev vsebnosti **2-OH-NAP** v urinu ($\mu\text{g/L}$) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Primerjava povprečnih vrednosti glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju (test ANOVA na logaritmiranih podatkih) pokaže, da razlike med obema podskupinama otrok, ki so bili oziroma niso bili izpostavljeni pasivnemu kajenju, niso statistično značilne ($p=0,094$). Vrednosti v urinu glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju so prikazane v spodnji tabeli.

Tabela 95. Vsebnosti 2-OH-NAP v urinu ($\mu\text{g/L}$) glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5 (95% IZ)	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		241	5,2 (3,4-6,3)	4,8 (3,4-6,3)	0,63	70	1,5 (0,02-2,9)	1,8 (0,35-3,3)	15 (13-16)	37 (36-39)
Pasivno kajenje	Ne	186	5,1 (3,5-6,2)	4,9 (3,5-6,2)	0,63	58	1,4 (0,10-2,8)	1,8 (0,44-3,1)	14 (13-16)	19 (18-21)
	Da	55	5,8 (1,4-10)	4,9 (0,51-9,4)	0,83	70	1,7 (/-6,1)	2,1 (/-6,5)	45 (41-50)	53 (48-57)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; IZ - interval zaupanja

3.6.3 Vsota hidroksi fenantrenov, Σ OH-PHE

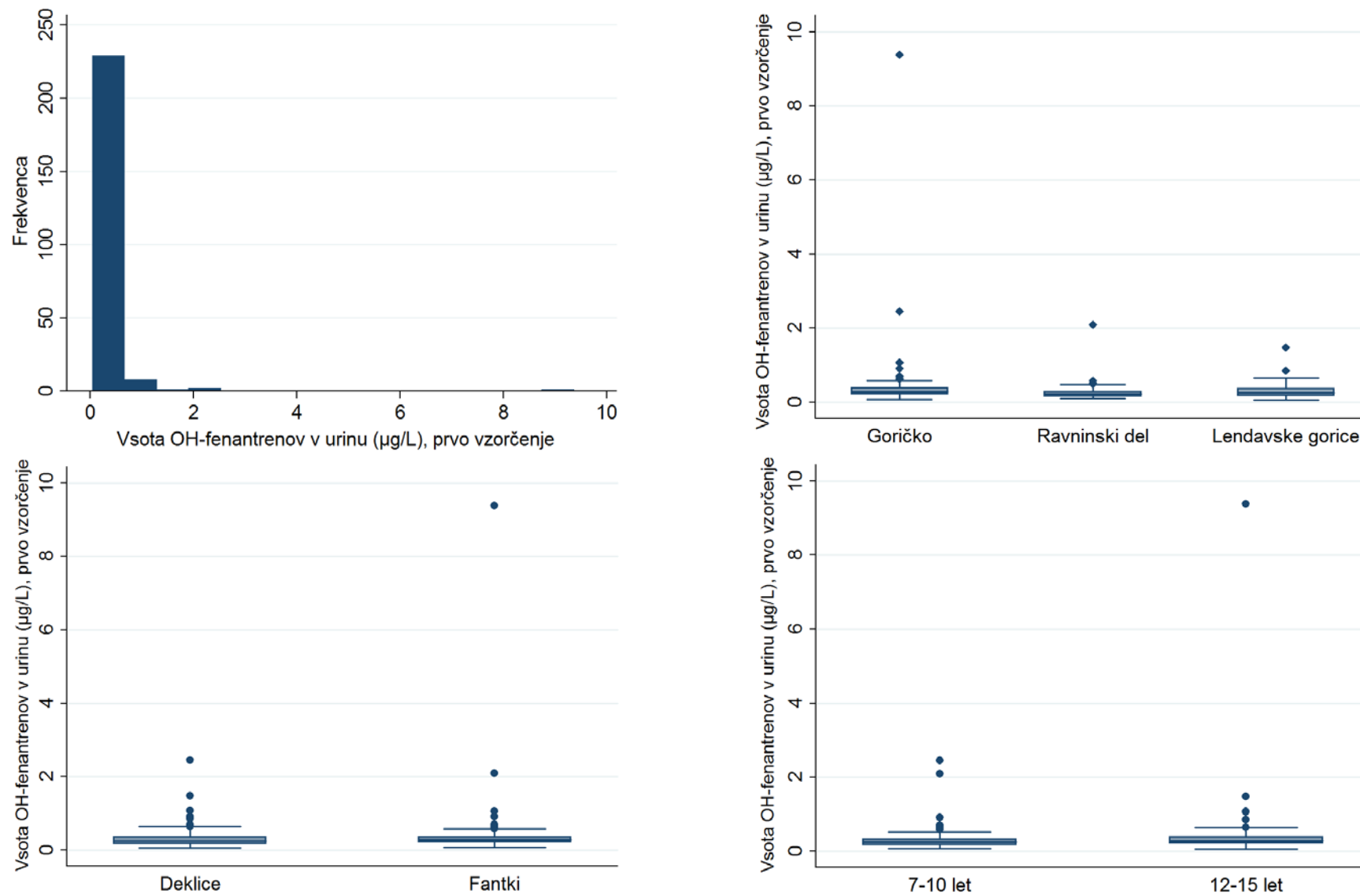
Vsota hidroksi fenantrenov predstavlja hidroksilirane presnovke fenantrena in sicer 1+9-hidroksi fenantren, 2-hidroksi fenantren, 3-hidroksi fenantren in 4-hidroksi fenantren, označene v nadaljevanju kot Σ OH-PHE. V Tabela 96 so prikazane vrednosti Σ OH-PHE v urinu v $\mu\text{g/L}$ po območju, spolu in starostni skupini preiskovancev.

Tabela 96. Vrednosti Σ OH-PHE v urinu v $\mu\text{g/L}$ po območju, spolu in starostni skupini.

		N	GM	Min	Max	P5	P50	P90	P90 (95 % IZ- spodnji)	P90 (95 % IZ- zgornji)	P95	P95 (95 % IZ- spodnji)	P95 (95 % IZ- zgornji)
SKUPAJ		241	0,278	0,059	9,38	0,136	0,268	0,530	0,466	0,635	0,654	0,578	0,918
Območje	Goričko	130	0,307	0,074	9,38	0,138	0,282	0,604	0,518	0,710	0,710	0,632	1,07
	Ravninski del	59	0,236	0,105	2,09	0,135	0,225	0,400	0,302	0,588	0,526	0,382	2,09
	Lendavske Gorice	52	0,262	0,059	1,48	0,129	0,258	0,466	0,402	0,858	0,654	0,458	1,408
Spol	Moški	119	0,266	0,059	2,45	0,133	0,250	0,530	0,460	0,710	0,710	0,530	1,48
	Ženski	122	0,290	0,074	9,38	0,136	0,278	0,550	0,443	0,654	0,654	0,550	1,07
Starostna skupina	7-10 let	145	0,263	0,074	2,45	0,135	0,251	0,488	0,420	0,636	0,654	0,508	0,916
	12-15 let	96	0,302	0,059	9,38	0,138	0,280	0,559	0,483	0,858	0,858	0,558	1,48

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; IZ - interval zaupanja

Geometrijska sredina Σ OH-PHE v urinu pri preiskovani populaciji (N=241) je 0,278 $\mu\text{g/L}$ (0,235 $\mu\text{g/g}$ krea), vrednosti pa se gibljejo med 0,059 $\mu\text{g/L}$ (0,049 $\mu\text{g/g}$ krea) in 9,38 $\mu\text{g/L}$ (4,79 $\mu\text{g/g}$ krea), 95. percentil je 0,654 $\mu\text{g/L}$ (0,705 $\mu\text{g/g}$ krea) z območjem med 0,578–0,918 $\mu\text{g/L}$ (0,612–0,967 $\mu\text{g/g}$ krea) pri 95 % intervalu zaupanja. Vrednosti so večje na območju Goriškega in pri preiskovankah v starostni skupini 12-15 let. Glede na populacijsko referenčno vrednost za Σ OH-PHE (1,2/9,3,4-OH-PHE), ki znaša 1,5 $\mu\text{g/L}$ (Schulz *in sod.*, 2011) lahko sklepamo, da so vrednosti omenjenih presnovkov pri preiskovancih na vseh območjih, pri obeh spolih in v obeh starostnih skupinah pod to mejo. Ugotovljene so manjše razlike v vrednostih Σ OH-PHE v urinu med posameznimi območji, vendar niso statistično značilne ($p=0,616$). Prav tako vrednosti niso statistično različne glede na spol preiskovancev ($p>1$). Vrednost Σ OH-PHE v urinu pa se statistično značilno razlikuje med obema starostnima skupinama in sicer je bila vrednost večja pri preiskovancih v mlajši starostni skupini 6-10 let v primerjavi s starejšo ($p<0,001$). Vrednosti Σ OH-PHE v urinu po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah so prikazane na Sliki 47.



Slika 47: Porazdelitev vsebnosti $\Sigma\text{OH-PHE}$ v urinu ($\mu\text{g/L}$) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

Primerjava povprečnih vrednosti glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju (test ANOVA na logaritmiranih podatkih) pokaže, da razlike med obema podskupinama otrok, ki so bili oziroma niso bili izpostavljeni pasivnemu kajenju, niso statistično značilne ($p=0,078$). Vrednosti vsote hidroski fenanternov v urinu glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju so prikazane v spodnji tabeli.

Tabela 97. Vsebnosti Σ OH-PHE v urinu ($\mu\text{g/L}$) glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5 (95% IZ)	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		241	0,28 (0,14-0,35)	0,27 (0,19-0,35)	0,06	9,4	0,14 (0,06-0,22)	0,15 (0,07-0,23)	0,53 (0,45-0,61)	0,65 (0,57-0,73)
Pasivno kajenje	Ne	186	0,27 (0,22-0,30)	0,26 (0,22-0,30)	0,06	2,4	0,13 (0,09-0,17)	0,15 (0,11-0,19)	0,50 (0,46-0,53)	0,62 (0,59-0,66)
	Da	55	0,32 (/-0,64)	0,28 (/-0,61)	0,07	9,4	0,14 (/-0,47)	0,16 (/-0,48)	0,64 (0,31-0,96)	0,88 (0,55-1,2)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; IZ - interval zaupanja

3.6.4 Vsota hidroksi fluorenov, Σ OH-FLU

Rezultati za urinske presnovke fluorena so podani kot vsota 2-OH-fluorena in 3-OH-fluorena (v nadaljevanju Σ OH-FLU). V Tabela 98 so zaradi primerjave z vrednostmi iz razpoložljive literature vrednosti za Σ OH-FLU prikazane v $\mu\text{g/g}$ kreatinina (krea).

Tabela 98. Vrednosti vsote hidroksi fluorenov, Σ OH-FLU v urinu v $\mu\text{g/g}$ kreatinina po območjih, spolu in starostnih skupinah.

		N	GM	Min	Max	P5	P50	P90	P90 (95 % IZ- spodnji)	P90 (95 % IZ- zgornji)	P95	P95 (95 % IZ- spodnji)	P95 (95 % IZ- zgornji)
SKUPAJ		241	0,174	0,030	3,857	0,068	0,159	0,411	0,331	0,516	0,536	0,472	0,833
Območje	Goričko	130	0,188	0,030	3,857	0,067	0,177	0,452	0,343	0,555	0,833	0,480	1,219
	Ravninski del	59	0,150	0,052	0,519	0,055	0,152	0,314	0,239	0,472	0,453	0,308	0,519
	Lendavske Gorice	52	0,170	0,068	0,771	0,070	0,147	0,441	0,277	0,770	0,760	0,425	0,771
Spol	Moški	119	0,167	0,030	2,027	0,066	0,152	0,425	0,328	0,536	0,536	0,425	1,219
	Ženski	122	0,128	0,055	3,857	0,080	0,170	0,411	0,292	0,545	0,545	0,411	1,142
Starostna skupina	7-10 let	145	0,197	0,066	2,027	0,085	0,180	0,480	0,379	0,555	0,770	0,498	1,142
	12-15 let	96	0,145	0,030	3,857	0,055	0,134	0,331	0,269	0,425	0,425	0,331	0,760

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; IZ - interval zaupanja

Geometrijska sredina vrednosti Σ OH-FLU v urinu pri preiskovani populaciji (N=241) je 0,174 $\mu\text{g/g}$ krea, vrednosti se gibljejo med 0,030 $\mu\text{g/g}$ krea in 3,857 $\mu\text{g/g}$ krea, 95 percentil pa je 0,536 $\mu\text{g/g}$ krea. Ugotovljene vrednosti so največje na območju Goriškega in pri preiskovankah v starostni skupini 12-15 let. Za urinske presnovke fluorena v literaturi ni razpoložljivih referenčnih vrednosti oziroma je znanih malo podatkov o vrednostih ozadja. Ugotovljene vrednosti lahko primerjamo s podatki iz razpoložljive literature (Tabela 2) in ocenjujemo, da so vrednosti primerljive oziroma manjše od vrednosti v ostalih znanih raziskavah. Razlike v med povprečnimi vrednostim Σ OH-FLU v urinu med posameznimi območji niso statistično značilne ($p>1$), ravno tako vrednosti niso statistično različne glede na spol preiskovancev ($p>1$). Vrednosti Σ OH-FLU v urinu pa se statistično značilno razlikujejo med starostnima skupinama, kjer je povprečna vrednost Σ OH-FLU večja pri preiskovancih v mlajši starostni skupini

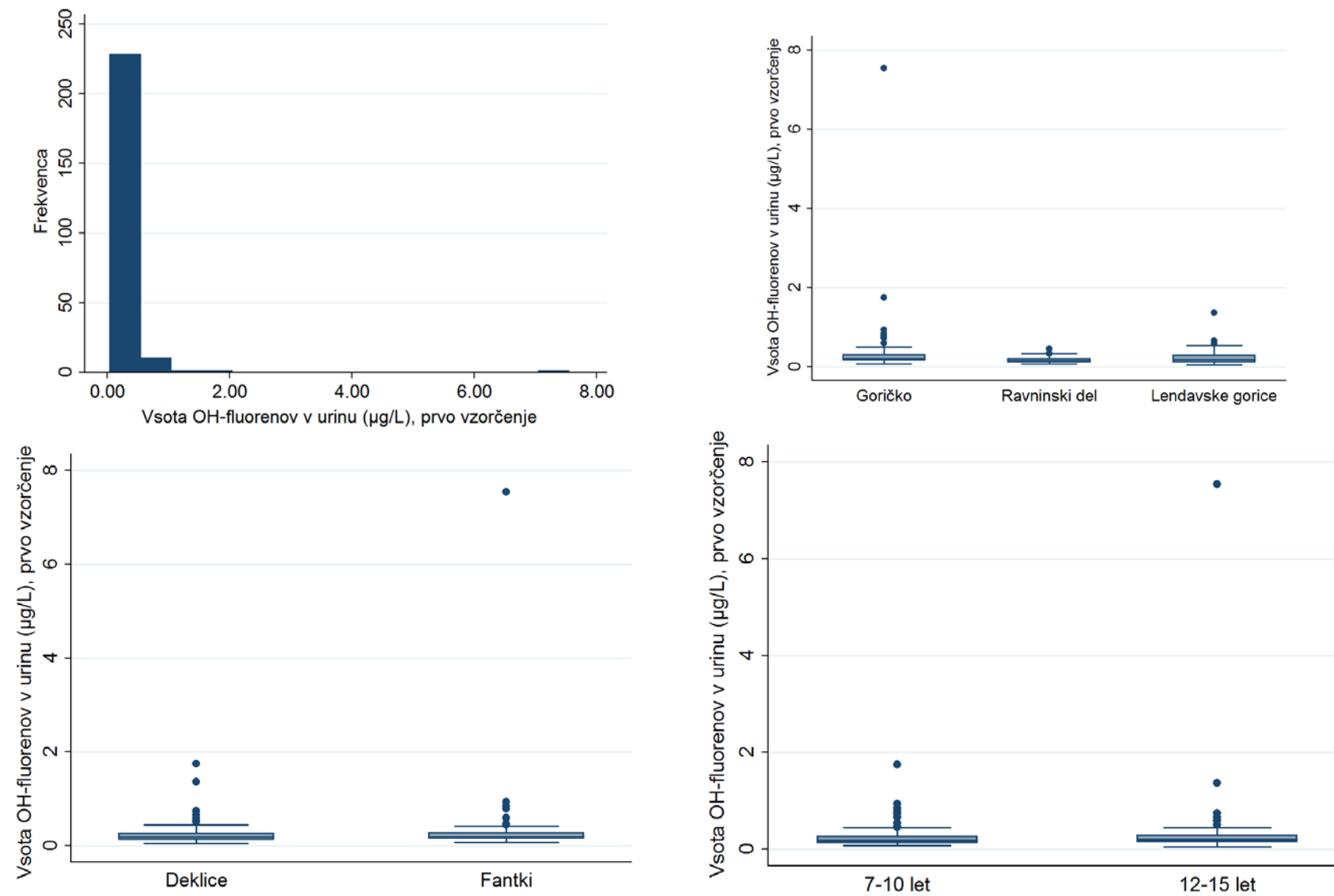
($p < 0,001$). Vrednosti Σ OH-FLU v urinu po geografskem območju, spolu in starostnih skupinah so prikazane na sliki 48.

Primerjava povprečnih vrednosti glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju (test ANOVA na logaritmiranih podatkih) pokaže statistično značilne razlike ($p = 0,035$). Preiskovanci/ke, ki so izpostavljeni pasivnemu kajenju, imajo v urinu večje vrednosti Σ OH-FLU v urinu. Vrednosti so prikazane v spodnji tabeli.

Tabela 99. Vsebnosti Σ OH-FLU v urinu ($\mu\text{g/L}$) glede na izpostavljenost pasivnemu kajenju

		N	GM (95% IZ)	P50 (95% IZ)	Min	Max	P5 (95% IZ)	P10 (95% IZ)	P90 (95% IZ)	P95 (95% IZ)
SKUPAJ		241	0,21 (0,13-0,25)	0,19 (0,13-0,25)	0,04	7,5	0,10 (0,09-0,16)	0,11 (0,05-0,18)	0,39 (0,33-0,46)	0,58 (0,52-0,65)
Pasivno kajenje	Ne	186	0,19 (0,16-0,21)	0,19 (0,10-0,21)	0,04	1,7	0,10 (0,07-0,12)	0,11 (0,08-0,139)	0,36 (0,34-0,39)	0,46 (0,44-0,49)
	Da	55	0,25 (/-0,51)	0,20 (/-0,51)	0,07	7,5	0,11 (/-0,37)	0,12 (/-0,38)	0,60 (0,33-0,86)	0,73 (0,47-1,0)

N – število preiskovancev; GM – geometrična sredina; Min – najmanjša vrednost; Max – največja vrednost; P5 do P95 – 5. do 95. percentil; 50. Percentile – mediana; IZ - interval zaupanja



Slika 48: Porazdelitev vsebnosti Σ OH-FLU v urinu ($\mu\text{g/L}$) ter vsebnosti glede na geografsko območje, spol in starostni skupini.

3.7 Frekvenčna porazdelitev minornih alelov izbranih SNP-jev

Na podlagi analiz genetskih variacij na ravni celotnega genoma pri različnih svetovnih populacijah (npr. 1000 Genome Project in HapMap) je postalo jasno, da se frekvenčna porazdelitev individualnih SNP-jev razlikujejo med različnimi etničnimi skupinami in različnimi predeli sveta (Broberg in sod., 2015; National Research Council, 2006). Podatki o frekvencah so shranjeni in prosto dostopni v največji svetovni bazi genetskih variacij (ang. dbSNP) v okviru Nacionalnega centra za biotehnoške informacije (ang. National Center For Biotechnology Information, NCBI) (Sherry in sod., 2001). V bazi dbSNP, so frekvece podane za 5 super-populacij na podlagi 1000 Genome Projekta (Evropska – EUR, Ameriška – AMR, vzhodno azijska – EAS, južno azijska – SAS in afriška – AFR) ter za posamezne specifične populacije na podlagi HapMap projekta (prebivalci Utaha s severnim in zahodnim evropskim potomstvom – CEU, Toskani iz Italije – TSI, Han prebivalci Pekinga, Kitajska – HCB, prebivalci Tokia, Japonska – JPT, prebivalci Hustona v Teksasu s potomstvom Gurajati Indijcev – GIH, prebivalci Yorube v Ibadanu, Nigerija - YRI in prebivalci Luhye v Webuye, Kenija – LWK).

Geografska variabilnost frekvenc SNP-jev lahko močno vpliva na primerljivost rezultatov študij, ki raziskujejo povezave med SNP-ji in okoljskimi onesnažili pri geografsko ali etično različnih populacijah. V genih vpletenih v kinetiko ali dinamiko okoljskih onesnažil je geografska distribucija SNP-jev lahko posledica specifične genetske adaptacije (naravna selekcija) na zgodovinsko povečano izpostavitve (npr. SNP-ji *AS3MT* pri populaciji Argentine z tisočletno izpostavitvijo anorganskemu As) ali pomanjkanje (genetska adaptacija selenoproteinov na pri kitajski populaciji s pomanjkanjem Se) (Schlebusch in sod., 2015; White in sod., 2015).

V Tabeli 94 so podane **frekvenca minornih alelov (MAF)** vseh **dvajsetih SNP-jev** za preiskovano populacijo Prekmurja ter njihova primerjava s frekvencami populacij z različnih geografskih področij znotraj ali blizu Slovenije (prebivalci Ljubljane z okolico in prebivalci Reke - Hrvaška), Evrope (EUR, TSI, in CEU) ter drugih populacij po svetu (AMR, EAS, SAS, AFR, HCB, JPT, GIH, YRI, LWK).

Frekvenca so bile najnižje v primeru *APOE* SNP-ja rs7412, kjer je bil minorni alel prisoten le pri 5 % preiskovane populacije ter najvišje v primeru SNP-ja rs405509 z 51 % prisotnostjo v preiskovani populaciji. Glede na med-regijsko primerjavo Prekmurja ter Ljubljane so bile razlike v frekvencah za večino SNP-jev pričakovano minimalne ali pa jih sploh ni bilo. V primeru *UGT2B15* SNP-ja (rs1902023) primerjava zaradi manjkajočih podatkov pri Ljubljanski populaciji ni bila možna, medtem ko smo za *APOE* SNP (rs429358) opazili statistično signifikantno višjo frekvenco variantnega alela v Prekmurju v primerjavi z Ljubljano; in sicer 14 % proti 7 % ($p < 0.05$, Tabela 94). Pri primerjavi Prekmurske populacije z drugimi populacijami po svetu smo opazili da:

- so frekvenca vseh analiziranih SNP-jev zelo primerljive s frekvencami evropskih populacij (EUR, CRO, TSI in CEU);
- se frekvenca večine SNP-jev statistično pomembno razlikujejo od frekvenc za vsaj eno od azijskih populacij (EAS, HCB, JPT, SAS ali GIH), kjer so frekvenca večinoma višje (tudi do 44% višje kot v Prekmurju), ter od frekvenc, ki so jih poročali za različne afriške populacije (AFR, YRI, LWK);
- se frekvenca za določene SNP-je statistično pomembno razlikujejo od frekvenc v ameriški super-populaciji (AMR); (*AS3MT*: rs3740393, rs3740390, rs1805313; *ALAD*: rs1800435; *PON1*: rs662; *UGT2B15*: rs1902023; *VDR*: rs739837; *SELENOP*: rs3877899, rs7579; *GPX1*: rs3811699; *GPX4*: rs713041)

Tabela 100. Frekvence minorne alela (MAF, %) izbranih SNP-jev v populaciji prekmurskih otrok ter primerjava z drugimi populacijami znotraj ali blizu Slovenije ter drugod po svetu.

Populacija (n)	AS3MT						ALAD		APOE		
	rs7085104	rs3740400	rs3740393	rs3740390	rs10748835	rs1046778	rs1805313	rs1800435	rs7412	rs429358	rs405509
	G alel	G alel	C alel	T alel	A alel	C alel	G alel	G alel	T alel	C alel	T alel
SLO_Premurje (244)	39	40	16	10	43	31	35 (243)	9	5	14	51
SLO_Ljubljana ^c (177)	36	38	19	9	43	34	38	8	6	7*	47 (173)
CRO_Rijeka ^c (205)	38 (204)'	41	19 (204)'	11 (202)'	45	33	33	8	5 (209)'	9 (209)'	47 (204)
EUR ^a (1006)	35	37	15	9	42	30	31	8	6	15	48
CEU ^b (226)	32		13	7 (224)'	38	27	28*	7 (120)'	6 (120)'	9 (120)'	51
TSI ^b (176)	40		16	12 (172)'	47 (172)'	34 (174)'	34 (174)'		4 (170)'		48
AMR ^a (694)	40	41	23*	19*	42	32	56*	5*	5	10	50
EAS (1008)	55*	59*	29*	29*	58*	49*	44*	4*	10*	9*	67*
HCB ^b (86)	48		26*	27*	55*	44*	48 (84)*'	4 (90)*'	10 (84)'		66*
JPT ^b (172)	44 (170)'		28*	28 (170)*'	45	36	45 (170)*'	8 (90)*'	5 (168)'		74*
SAS (978)	32*	46*	24*	22*	48	40*	46*	16*	4		55
GIH ^b (176)	37		29 (174)*'		51	45*	45*		5 (172)'		56
AFR ^a (1322)	32*	33*	18	4*	33*	24*	51*	0*	10*	27*	24*
YRI ^b (226)	28*		13 (222)'		31*	21*	58*	0 (120)*'	10 (220)'		21*
LWK ^b (180)	32		19		31*	24*	50*		5 (172)'		31*

^a, super populacije iz 1000 Genom Projekta: EUR, Evropejci; AMR, Američani; EAS, vzhodni Azijci; SAS, južni Azijci; AFR, Afričani;

^b, populacije iz HapMap projekta: CEU, prebivalci Utaha s severnim in zahodnim evropskim potomstvom; TSI, Toskani iz Italije; HCB, Han prebivalci Peking, Kitajska; JPT, prebivalci Tokia, Japonska; GIH, prebivalci Hustona v Teksasu s potomstvom Gurajati Indijcev; YRI, prebivalci Yorube v Ibadanu, Nigerija; LWK, prebivalci Luhye v Webuye, Kenija;

^c, populacije kjer smo frekvence izbranih SNP-jev določili znotraj drugih projekov; ', velikost populacije, kadar se je ta razlikovala od velikosti navedene v prvem stolpcu; * statistično pomembna razlika v frekvenci minorne alela SNP-ja v primerjavi s frekvenco opazovane populacije otrok iz Prekmurja.

Tabela 94: Nadaljevanje tabele

	PON1	UGT2B15	VDR		SELENOP		GPX1	GPX3	GPX4
Populacija (n)	rs662 C alel	rs1902023 C alel	rs2228570 A alel	rs739837 G alel	rs3877899 T alel	rs7579 T alel	rs3811699 C alel	rs8177431 G alel	rs713041 T alel
SLO_Prekmurje (244)	26 (243)	46 (231)	43	47 (243)	26 (240)	28 (242)	32 (241)	39 (243)	44 (242)
SLO_Ljubljana ^c (177)	26		38	53	23	31	29	40	52
CRO_Rijeka ^c (205)	29 (203)'		39	43	27	28		43	42 (201)
EUR ^a (1006)	29	49	38	45	29	29	34	36	45
CEU ^b (226)	33		41	43	26	30	27	36	46
TSI ^b (176)	24 (174)'		38	41	21	28	32	37	50
AMR ^a (694)	50*	61*	48	56*	15*	39*	17*	39	34*
EAS (1008)	67*	58*	42	71*	2*	27	8*	62*	46
HCB ^b (86)	57 (84)' [*]		44	70*	2*	24	8*	71*	44
JPT ^b (172)	70 (170)' [*]		33*	66*	1*	34	58*	39	44
SAS (978)	42*	46	26*	42	12*	22*	51*	44	55*
GIH ^b (176)	35*		30*	50	8*	30	22*	47	48
AFR ^a (1322)	75*	60*	19*	43	27	13*	27	78*	32*
YRI ^b (226)	79*		19*	41	25	10*	26	76*	31*
LWK ^b (180)	79*		15*	37*	34	12*	36	73*	32*

3.7.1 Arzenovi metaboliti v urinu in AS3MT haplotip

Biotransformacija (detoksikacija) anorganskega As (AsIII in AsV) pri ljudeh primarno poteka v jetrih preko oksido-redukcijskih (AsV v AsIII) ter metilacijskih procesov. Glavni encim metilacije je arzen (III) metiltransferaza (AS3MT), ki preko S-adenozin metionina – kot darovalca metilne skupine – generira v prvi stopnji metil arzenovo kislino (MMA) ter v drugi stopnji dimetil arzenovo kislino (DMA), ki se potem izločita iz telesa z urinom. Ker metilacija anorganskega As ni popolna se v urinu poleg MMA in DMA metabolitov izloča tudi anorganski As (AsIII in AsV). Vsota anorganskega As, MMA in DMA metabolitov v urinu predstavlja oceno izpostavitve anorganskemu As. Njihovi sorazmerni deleži (anorganski As%, MMA%, DMA%) ali razmerja (sekundarni metilacijski indeks ali SMI = DMA/MMA; totalni metilacijski indeks ali TMI = DMA+MMA/AsIII) pa predstavljajo oceno učinkovitosti metilacije arzena. Zaradi možnega vnosa DMA preko morske hrane (Taylor in sod., 2017) in posledično precenjene ocene izpostavitve, se glede na novejšje študije izpostavljenost anorganskemu As ocenjuje na podlagi vsote MMA in anorganskega As v urinu (Hata in sod., 2016).

Pri splošni populaciji z nizko okoljsko izpostavitvijo anorganskemu As so povprečne vrednosti metabolitov v urinu 40-80 % za DMA, 10-25 % za MMA ter 10-30 % za anorganski As (Fowler in sod., 2015; Vahter in Concha, 2001). Te vrednosti se na individualni ali populacijski ravni razlikujejo zaradi razlik v metilacijski sposobnosti med posamezniki oz. populacijami (Vahter, 1999). Poleg znanih dejavnikov, ki vplivajo na metilacijo As (npr. starost, BMI, kajenje, spol, nosečnost itd.) (Fowler in sod., 2015) je v zadnjem desetletju v ospredju tudi vpliv genetskih variacij, predvsem tistih v genu AS3MT. Tako so različne študije pri populacijah živečih na področjih s stoletno ali tisočletno izpostavitvijo visokim koncentracijam anorganskega As preko pitne vode (npr. predeli Argentine, Čila in Peruja) identificirali številne SNP-je v genu AS3MT (rs7085104, rs3740400, rs3740393, rs3740390, rs11191453, rs10748835 in rs1046778) katerih minorni aleli so bili vsi povezani z bolj učinkovito metilacijo As (nižji AsIII% in MMA% ter višji DMA%, SMI ter TMI) (Broberg in sod., 2015). Tako sinhron vpliv različnih SNP-jev na As metilacijo je verjetno posledica močne povezanosti med njihovimi aleli, ki se posledično skupaj pojavljajo in dedujejo v obliki specifične sekvence imenovane haplotip. V literaturi se je za haplotipe minornih alelov zgoraj omenjenih SNP-jev - glede na njihovo povezavo z bolj učinkovito As metilacijo in s tem detoksikacijo - uveljavil izraz »protektivnega« AS3MT haplotipa (ne glede na kombinacije ali število SNP-jev).

Genotipizacija omenjenih SNP-jev in njihovih haplotipov ima lahko, kot biooznačevalec občutljivosti oz. adaptivnosti, pomembno vlogo pri oceni tveganja okoljske izpostavitve anorganskemu As ter v primeru terapevtske izpostavitve arzenu (As₂O₃ pri pacientih levkemije) vlogo napovedovalca terapevtske učinkovitosti (Lu in sod., 2018).

Koncentracije in deleži As metabolitov v urinu

Izpostavljenost anorganskemu arzenu preko pitne vode ali prehrane je pri preiskovani populaciji nizka. Geometrijska sredina (GM) **vsote As metabolitov v urinu** (AsIII, MMA in DMA) je **3.48 ng/mL_{SG}** (Tabela 95), kar je približno 3x manjše od meje 10 ng/mL postavljene za Evropske populacije brez znane izpostavitve anorganskemu As (International Programme on Chemical Safety, 2004). To vrednost je presevalo le 10 posameznikov v študiji (4.4%). Geometrijska sredina **vsote MMA in AsIII v urinu** (izključimo vpliv vnosa DMA preko morske hrane) je **0.93 ng/mL_{SG}** (Tabela 95). Kot je razvidno iz Tabele 95 je starost pomembno vplivala na koncentracije metabolitov in njihovo vsoto medtem ko pomembnih razlik med spoloma nismo zasledili. Pri otrocih starih 7 – 10 let so koncentracije AsIII, MMA in AsIII+MMA pomembno nižje od koncentracij pri otrocih starih 12 – 15 let (0.20, 0.56 in 0.81 ng/mL proti 0.31, 0.76 in 1.13 ng/mL; p< 0.05). Rezultate smo potrdili tudi po stratifikaciji

glede na spolu. Koncentracije DMA pa so bile nižje pri starejši skupini otrok (statistično pomembno le pri fantkih).

Primerjava rezultatov vsote As metabolitov v urinu z rezultati preteklih študij:

- Slovenija, Ljubljana z okolico v letih 2013 – 2017, N=176, otroci 7-8 let, GM: anorganski As+MMA+DMA = 2.18 ng/mL_{SG} in MMA+anAs = 0.33 ng/mL_{SG} (Stajniko in sod., 2019),
- Bangladesh, Dhaka v letih 2001 – 2003, N=488, otroci 9 let, mediana: anorganski As+MMA+DMA = 53 ng/mL_{SG} (Skröder Löveborn in sod., 2016),
- Mehika, Yaqui Dolina v letih 2003- 2004, N=50, otroci 8-9 let, GM: anorganski As+MMA+DMA =36.2 ng/ml (Meza-Montenegro in sod., 2008),
- ZDA v letih 2003 – 2004, N= 292, otroci 6-11 let, mediana: anorganski As+MMA+DMA = 6.0 ng/mL (Caldwell in sod., 2009);

Deleži posameznih As metabolitov v urinu (glede na njihovo vsoto) so znotraj zgoraj omenjenega razpona značilnega za povprečno populacijo z nizko izpostavitvijo anorganskemu As. Geometrijske sredine deležev posameznih metabolitov v preučevani populaciji so: **7% za anorganski As, 18% za MMA ter 71% za DMA**. Geometrijske sredine **indeksov sekundarne in totalne metilacije** so: **4.02** ter **13.6** (Tabela 95).

Pri primerjavi učinkovitosti As metilacije med obema starostnima skupinama smo opazili, da imajo **otroci stari 7-10 let bolj učinkovito metilacijo**, ki se odraža s statistično pomembno ($p < 0.05$) nižjimi vrednostmi AsIII% (5.67%), MMA% (15.6%), ter višjimi vrednostmi DMA% (75.2%), SMI (4.81) ter TMI (16.5) kot pri otrocih starih 12-15 let (8.46%, 20.7%, 65.4%, 3.15 in 10.6). Enake razlike med starostnimi skupinami ostanejo tudi glede na stratifikacijo populacije po spolu (Tabela 95).

Ob primerjavi učinkovitosti As metilacije med spoloma smo opazili **pomembno bolj učinkovito metilacijo pri fantkih**, ampak samo znotraj skupine otrok starih 7-10 let. Fantki so tako imeli statistično pomembno ($p < 0.05$) nižje vrednosti MMA% (13.8%), ter višje DMA% (77.1%) in SMI (5.61) kot deklice (17.1%, 73.7% ter 4.30). Pri starejši skupini otrok so bile vrednosti med fantki in deklicami zelo primerljive (Tabela 95).

Tabela 101. Vrednosti parametrov izpostavitve in metilacijske učinkovitosti anorganskega As (anAs) pri izbrani populaciji stratificirani glede na spol in starostno skupino.

		VSI		FANTKI		DEKLICE	
KONCENTRACIJE METABOLITOV N GM, 95% IZ							
U1_AsIII (ng/mlSG)	vsi	223	0.24 (0.22 – 0.27)	105	0.24 (0.21 – 0.29)	118	0.24 (0.21 – 0.27)
	7-10 let	129	0.20 (0.18 – 0.23) ^b	54	0.21 (0.17 – 0.25) ^b	75	0.20 (0.17 – 0.23) ^b
	12-15 let	94	0.31 (0.27 – 0.36)	51	0.29 (0.24 – 0.24)	43	0.32 (0.26 – 0.40)
U1_AsV (ng/mlSG)	all	223	<LOD	105	<LOD		<LOD
U1_MMA (ng/mlSG)	vsi	223	0.63 (0.58 – 0.70)	105	0.64 (0.56 – 0.73)	118	0.64 (0.57 – 0.71)
	7-10 let	129	0.56 (0.50 – 0.63) ^b	54	0.54 (0.44 – 0.67) ^b	75	0.58 (0.50 – 0.67) ^b
	12-15 let	94	0.76 (0.67 – 0.86)	51	0.76 (0.64 – 0.91)	43	0.75 (0.63 – 0.89)
U1_DMA (ng/mlSG)	vsi	223	2.57 (2.36 – 2.79)	105	2.71 (2.37 – 3.10)	118	2.44 (2.20 – 2.72)
	7-10 let	129	2.70 (2.44 – 3.00)	54	3.05 (2.55 – 3.64) ^b	75	2.49 (2.20 – 2.80)
	12-15 let	94	2.39 (2.08 – 2.75)	51	2.41 (1.98 – 2.93)	43	2.38 (1.93 – 2.92)
U1_MMA+anAs (ng/mlSG)	vsi	223	0.93 (0.85 – 1.00)	105	0.94 (0.83 – 1.07)	118	0.92 (0.82 – 1.01)
	7-10 let	129	0.81 (0.73 – 0.89) ^b	54	0.80 (0.67 – 0.96) ^b	75	0.81 (0.72 – 0.92) ^b
	12-15 let	94	1.13 (1.01 – 1.25)	51	1.11 (0.96 – 1.30)	43	1.13 (0.97 – 1.32)
U1_Vsota meabolitov (ng/mlSG)	vsi	223	3.62 (3.36 – 3.90)	105	3.81 (3.35 – 4.29)	118	3.46 (3.15 – 3.80)
	7-10 let	129	3.60 (3.27 – 3.97)	54	3.95 (3.33 – 4.68)	75	3.37 (3.01 – 3.77)
	12-15 let	94	3.66 (3.25 – 4.12)	51	3.68 (3.09 – 4.37)	43	3.63 (3.06 – 4.30)
METILACIJSKA UČINKOVITOST N GM, 95% IZ							
U1_anAs%	vsi	224	6.73 (6.15 – 7.36)	105	6.48 (5.63 – 7.45)	118	6.93 (6.16 – 7.80)
	7-10 let	129	5.67 (5.07 – 6.34) ^b	54	5.31 (4.37 – 6.44) ^b	75	5.94 (5.18 – 6.82) ^b
	12-15 let	95	8.46 (7.37 – 9.70)	51	8.01 (6.60 – 9.72) ^b	43	9.00 (7.37 – 11.0)
U1_MMA%	vsi	224	17.6 (16.5 – 18.8)	105	16.8 (15.0 – 18.8)	118	18.4 (16.9 – 19.9)
	7-10 let	129	15.6 (14.4 – 17.0) ^b	54	13.8 (12.1 – 15.7) ^{ab}	75	17.1 (15.4 – 19.0) ^b
	12-15 let	95	20.7 (18.6 – 23.1)	51	20.7 (17.5 – 24.5)	43	20.8 (18.3 – 23.7)
U1_DMA%	vsi	224	70.9 (69.2 – 72.5)	105	71.2 (68.7 – 73.8)	118	70.5 (68.4 – 72.8)
	7-10 let	129	75.2 (73.3 – 77.0) ^b	54	77.1 (74.0 – 80.5) ^{ab}	75	73.7 (71.6 – 76.0) ^b
	12-15 let	95	65.4 (62.8 – 68.1)	51	65.4 (62.1 – 68.9)	43	65.4 (61.4 – 69.6)
U1_SMI	vsi	224	4.02 (3.69 – 4.40)	105	4.24 (3.66 – 4.91)	118	3.83 (3.44 – 4.27)
	7-10 let	129	4.81 (4.33 – 5.34) ^b	54	5.61 (4.72 – 6.65) ^{ab}	75	4.30 (3.78 – 4.90) ^b
	12-15 let	95	3.15 (2.74 – 3.63)	51	3.16 (2.54 – 3.91)	43	3.15 (2.62 – 3.77)
U1_TMI	vsi	224	13.6 (12.4 – 15.0)	105	14.1 (12.2 – 16.5)	118	13.1 (11.6 – 15.0)
	7-10 let	129	16.5 (14.6 – 18.5) ^b	54	17.6 (14.4 – 21.6) ^b	75	15.6 (13.5 – 18.1) ^b
	12-15 let	95	10.6 (9.12 – 12.3)	51	11.2 (9.13 – 13.9)	43	9.87 (7.91 – 12.3)

^a, statistično pomembna razlika pri primerjavi fantkov z deklicami ne glede na starostno skupino ali znotraj iste starostne skupine ($p < 0.05$, ne-parametrični Mann-Whitney U test)

^b, statistično pomembna razlika pri primerjavi starostne skupine 7-10 let s skupino 12-15 let, ne glede na spol in znotraj fantkov ali deklic ($p < 0.05$, ne-parametrični Mann-Whitney U test);

SMI, sekundarni metilacijski indeks, DMA/MMA; TMI, totalni metilacijski indeks, (DMA+MMA)/AsIII

Vpliv protektivnega AS3MT haplotipa na metilacijsko učinkovitost arzena

Pri preučevani populaciji smo identificirali prisotnost vsaj ene kopije protektivnega AS3MT haplotipa (s sekvenco GGCTAT; pAS3MThap⁺) pri 43 otrocih. **Alelna frekvenca haplotipa je bila 9%**, kar je zelo podobno frekvenci določeni v prejšnji študiji na populaciji mater ($n = 176$) in njihovih otrok ($n = 176$) iz Ljubljane, z 9.5% za mamice in 11,6% za otroke (Stajnik in sod., 2019). V nasprotju s Slovensko populacijo, ki je izpostavljena nizkim koncentracijam anorganskega As preko pitne vode (<0,1 do 0,55 $\mu\text{gAs/L}$ za Ljubljano) (Vreča in sod., 2019), so pri populacijah z visoko zgodovinsko izpostavitvijo (200–1000 $\mu\text{gAs/L}$) frekvence

podobnega protektivnega *AS3MT* haplotipa veliko višje; npr. Argentina: 70 %, Čile; 48 – 68 % in Peru: 50 % (Apata in sod., 2017; Engström in sod., 2011; Schlebusch in sod., 2015). Pri teh populacija gre za genetsko adaptacijo (naravno selekcijo).

Pri primerjavi učinkovitosti As metilacije med nosilci (+) in ne-nosilci (-) *pAS3MThap*, smo **potrdili vpliv haplotipa na bolj učinkovito metilacijo** pri celotni populaciji otrok, po stratifikaciji glede na starostno skupino samo pri otrocih starih 7-10 let ter po stratifikaciji po spolu samo pri fantkih. V vseh primerih so nosilci haplotipa (*pAS3MThap*⁺) izrazili statistično **pomembno nižje vrednosti AsIII in višje vrednosti TMI** kot ne nosilci (*pAS3MThap*⁻); AsIII 5.46 proti 7.11 % in TMI: 17.0 proti 12.9; $p < 0.05$ - pri populaciji vseh otrok (Tabela 96).

Tabela 102. Vrednosti parametrov učinkovitosti As metilacije (GM, 95% CI) glede na prisotnost (+) ali odsotnost (-) protektivnega *AS3MT* haplotipa (*pAS3MThap*) pri izbrani populaciji stratificirani glede na spol in starostno skupino.

	VSI GM, 95% IZ (N)		FANTKI GM, 95% IZ (N)		DEKLICE GM, 95% IZ (N)	
	<i>pAS3MThap</i> ⁺	<i>pAS3MThap</i> ⁻	<i>pAS3MThap</i> ⁺	<i>pAS3MThap</i> ⁻	<i>pAS3MThap</i> ⁺	<i>pAS3MThap</i> ⁻
AsIII %						
Vsi	5.46, 4.39 – 6.78 (43)*	7.11, 6.46 – 7.83 (181)	4.69, 3.57 – 6.15 (20)*	7.14, 6.10 – 8.34 (84)	6.22, 4.43 – 8.73 (23)	7.06, 6.23 – 8.01 (95)
7-10 let	4.79, 3.81 – 6.03 (30)*	5.96, 5.23 – 6.79 (99)	4.25, 3.12 – 5.78 (12)*	5.65, 4.47 – 7.15 (42)	5.20, 3.69 – 7.33 (18)	6.20, 5.34 – 7.20 (57)
12-15 let	7.35, 4.47 – 12.1 (13)	8.81, 7.67 – 10.1 (80)	5.43, 2.99 – 9.86 (8)	9.01, 7.47 – 10.9 (42)	11.9, 4.32 – 32.8 (5)	8.59, 6.94 – 10.6 (38)
MMA%						
Vsi	17.6, 14.7 – 21.0 (43)	17.7, 16.5 – 19.0 (181)	16.4, 12.0 – 22.4 (20)	17.1, 15.1 – 19.3 (84)	18.6, 14.9 – 23.2 (23)	18.3, 16.7 – 20.0 (95)
7-10 let	15.5, 12.9 – 18.8 (30)	15.6, 14.3 – 17.2 (99)	14.6, 10.2 – 21.1 (12)	13.5, 11.7 – 15.6 (42)	16.1, 12.8 – 20.5 (18)	17.4, 15.5 – 19.6 (57)
12-15 let	23.2, 15.5 – 34.8 (13)	20.7, 18.5 – 23.0 (99)	19.5, 10.9 – 37.6 (8)	21.6, 18.2 – 25.6 (42)	20.8, 20.9 – 45.4 (5)	19.7, 17.1 – 22.6 (38)
DMA %						
Vsi	70.8, 65.2 – 76.2 (43)	70.8, 69.1 – 72.5 (181)	73.0, 66.2 – 80.6 (20)	70.6, 67.9 – 73.4 (84)	69.0, 61.5 – 77.4 (23)	70.9, 67.8 – 78.0 (95)
7-10 let	75.9, 71.3 – 80.7 (30)	74.9, 72.9 – 77.0 (99)	76.2, 66.0 – 88.0 (12)	77.4, 74.4 – 80.6 (42)	75.6, 71.4 – 80.1 (18)	73.1, 70.6 – 75.8 (57)
12-15 let	60.5, 50.1 – 73.0 (13)	66.0, 63.4 – 68.5 (12)	68.5, 59.0 – 79.4 (8)	64.3, 60.8 – 68.1 (42)	59.7, 30.4 – 81.0 (5)	67.8, 64.7 – 71.1 (38)
SMI						
Vsi	4.04, 3.17 – 5.14 (43)	4.00, 3.64 – 4.39 (181)	4.45, 2.98 – 6.63 (20)	4.13, 3.53 – 4.83 (84)	3.71, 2.79 – 5.08 (23)	3.88, 3.46 – 4.35 (95)
7-10 let	4.88, 3.82 – 6.24 (30)	4.79, 4.25 – 5.39 (99)	5.21, 3.15 – 8.60 (12)	5.73, 4.78 – 6.86 (42)	4.67, 3.51 – 6.22 (18)	4.20, 3.61 – 4.88 (57)
12-15 let	2.60, 1.51 – 4.49 (13)	3.20, 2.77 – 3.69 (12)	3.51, 1.59 – 7.74 (8)	2.98, 2.39 – 3.71 (42)	2.61, 0.73 – 3.54 (5)	3.44, 2.87 – 4.12 (38)
TMI						
Vsi	17.0, 13.4 – 21.5 (43)*	12.9, 11.6 – 14.3 (181)	20.1, 15.0 – 26.9 (20)*	12.8, 10.8 – 15.1 (84)	14.7, 10.1 – 21.3 (23)	13.0, 11.3 – 14.8 (95)
7-10 let	19.7, 15.5 – 25.0 (30)*	15.6, 13.6 – 17.9 (30)	22.4, 16.3 – 30.9 (12)*	16.5, 12.9 – 21.0 (42)	18.0, 12.6 – 25.9 (18)	15.0, 12.8 – 17.5 (57)
12-15 let	12.1, 6.89 – 21.4 (13)	10.2, 8.76 – 11.8 (12)	17.1, 8.93 – 32.7 (8)	9.92, 8.09 – 12.2 (42)	7.01, 2.08 – 23.6 (5)	10.4, 8.29 – 13.1 (38)

pAS3MThap – GGCTAC sekvenca (5' – 3' lega: rs7085104 (G), rs3740400 (G), rs3740393 (C), rs3740390 (T), rs10748835 (A) in rs1046778 (C)); * statistično pomembna razlika pri primerjavi nosilcev(+) *pAS3MThap* z ne-nosilci ($p < 0.05$, ne-parametrični Mann-Whitney U test) pri vseh otrocih ali znotraj posameznih skupin (glede na starost ali spol)

3.7.2 ALAD in koncentracije svınca v krvi

δ- aminolevulininska dehidrataza (ALAD) je citoplazemski encim, ki ima pomembno vlogo pri biosintezi hema. ALAD v eritrocitih predstavlja glavno vezavno mesto za svinec (Pb), ki aktivnost encima ob vezavi inhibira. Aktivnost ALAD encima je zato biooznačevalec, se pogosto uporablja pri poklicni izpostavitvi svincu. V krvi je večina Pb (~ 99%) vezana na eritrocite in znotraj le-teh na ALAD encim (Skerfving in Bergdahl, 2015). Moč vezave pa je lahko odvisna od genetskih variacij znotraj *ALAD* gena, kar posledično vpliva na vsebnost in razporeditev Pb v telesu ter njegovo toksičnost. Številne študije so že preučevale *ALAD* SNP-je, najpogosteje SNP rs1800435, kot potencialne biooznačevalce individualne občutljivosti ali adaptacije na izpostavljenost Pb. Rezultati teh študij pa so, predvsem pri nizkih izpostavljenostih, še zmeraj precej neskladni (Broberg in sod., 2015; Skerfving in Bergdahl, 2015).

Pri preiskovani populaciji smo preverili možen vpliv rs1805313 in rs1800435 *ALAD* SNP-jev na koncentracije Pb v krvi. Pri obeh SNP-jih smo opazili, da so nosilci minornih alelov (G alel pri obeh SNP-jih) izrazili **nižje koncentracije Pb v krvi**, ne glede na stratifikacijo populacije glede na starost ali spol (tudi do 12 % nižji Pb), vendar pa v nobenem primeru **razlike niso bile statistično pomembne ($p > 0.05$)** (Tabela 97). Kljub temu so rezultati obeh SNP-jev skladni z rezultati naših prejšnjih študij na populaciji žensk iz Slovenije (n = 176) (Stajnik in sod., 2019a) ter mešani populaciji Kirgizije (n = 120) (Stajnik in sod., 2019b) ter študij nekaterih drugih raziskovalnih skupin (Hu in sod., 2001; Krieg in sod., 2009; Szymanska-Chabowska in sod., 2015; Warrington in sod., 2015). Pomembno pa je omeniti, da je v primeru rs1800435 SNP-ja veliko študij, pri katerih so nasprotno od nas pri nosilcih minornega alela opazili višje koncentracije Pb (študije povzete v Broberg in sod., 2015).

3.7.3 APOE in koncentracije selena v krvi in plazmi

Apolipoprotein je plazemski in celični glikoprotein, ki igra pomembno vlogo pri privzemu, prenosu, in izločanju maščob (Giau in sod., 2015; Huang in Mahley, 2014). Nekatere študije kažejo tudi na antioksidativne, protivnetne lastnosti, ter sposobnost vezanja kovin. Znane so tri glavne izoforme proteina – apoE2, apoE3 in apoE4, ki jih kodirajo aleli $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, in $\epsilon 4$. Izoforme se razlikujejo v eni amino kislini na dveh pozicijah v aminokislinskem zaporedju (apoE2 ima na mestih 112 in 158 cistein; izoforma apoE3 ima na mestu 158 namesto cisteina arginin; izoforma apoE4 pa ima na obeh mestih arginine). Te razlike vplivajo na maščobno homeostazo v perifernem in osrednjem živčevju (Huang in Mahley, 2014). Kot kažejo različne eksperimentalne študije, lahko apoE veže različne kovinske ione, tudi esencialne elemente (Miyata in Smith, 1996). Podatki nedavne študije PHIME-CROME v katero so vključeni otroci in njihove matere iz osrednjeslovenske ter reške regije na Hrvaškem kažejo na interakcijo med apoE in selenom (Trdin in sod., *v pripravi*). Nosečnice v tretjem trimestru ki so bile nosilke $\epsilon 4$ alela so imele višje vsebnosti Se v plazmi kot ne-nosilke. Povezava je ostala ob upoštevanju otsalih dejavnikov, ki lahko vplivajo na raven Se (starost, rojstni red, BMI, vnos morske hrane, kajenje). Domnevno so višje koncentracije Se pri $\epsilon 4$ nosilkah povezane s koristnimi učinki $\epsilon 4$ alela v zgodnjem obdobju življenja, med katerimi so sicer predvsem višja raven holesterola, ki je potrebna za normalen nevrološki razvoj, prav tako višja raven vitamin D in kalcija, ki pozitivno vplivajo na rodnost, razvoj kosti in manjšo dovzetnost za infekcijske bolezni. Primerjava vsebnosti Se v krvi in plazmi glede na prisotnost/odsotnost $\epsilon 4$ alela pri Prekmurskih otrocih pa v primerjavi z študijo na nosečnicah kaže na obratno situacijo, torej nižje vsebnosti Se pri $\epsilon 4$ nosilcih kot pri ne-nosilcih, čeprav razlike niso bile v vseh primerih statistično pomembne (Tabela 100). To je v skladu s prej opisano pleiotropičnostjo apoE izoform, ki deluje različno glede na življenjsko obdobje.

Tabela 103. Koncentracije Pb (ng/g) v krvi glede na prisotnost (+) ali odsotnost (-) minorne alela *ALAD* SNP-jev (rs1805313 in rs1800435) pri izbrani populaciji stratificirani glede na spol in starostno skupino.

	VSI GM, 95% IZ (N)		FANTKI GM, 95% IZ (N)		DEKLICE GM, 95% IZ (N)	
	G+ alel	G- alel	G+ alel	G- alel	G+ alel	G- alel
rs1805313						
Vsi	8.21, 7.65 – 8.80 (132)	8.76, 7.98 – 9.63 (96)	8.67, 7.90 – 9.51 (68)	9.31, 8.32 – 10.4 (43)	7.72, 6.93 – 8.60 (63)	8.34, 7.20 – 9.67 (52)
7-10 let	8.54, 7.85 – 9.28 (79)	9.38, 8.27 – 10.7 (56)	8.57, 7.72 – 9.51 (40)	9.68, 8.02 – 11.7 (22)	8.51, 7.43 – 9.74 (39)	9.20, 7.70 – 11.0 (34)
12-15 let	7.72, 6.80 – 8.76 (52)	7.95, 6.89 – 9.17 (39)	8.82, 7.39 – 10.5 (28)	8.93, 7.81 – 10.2 (21)	6.60, 5.56 – 7.81 (24)	6.93, 5.29 – 9.10 (18)
rs1800435	G+/ALAD2 alel	G-/ALAD1 alel	G+/ALAD2 alel	G-/ALAD1 alel	G+/ALAD2 alel	G-/ALAD1 alel
Vsi	7.81, 6.95 – 8.77 (42)	8.57, 8.04 – 9.14 (187)	8.55, 7.29 – 10.2 (22)	8.96, 8.29 – 9.70 (90)	7.07, 6.06 – 8.25 (20)	8.21, 7.41 – 9.01 (95)
7-10 let	8.00, 6.71 – 9.53 (24)	9.08, 8.40 – 9.82 (111)	8.73, 6.59 – 11.6 (12)	9.00, 8.15 – 9.94 (50)	7.32, 5.73 – 9.37 (12)	9.15, 8.11 – 10.3 (61)
12-15 let	7.56, 6.49 – 8.81 (18)	7.85, 7.03 – 8.76 (74)	8.33, 6.54 – 10.6 (10)	8.92, 7.82 – 10.2 (40)	6.70, 5.53 – 8.11 (8)	6.75, 5.66 – 8.05 (34)

Tabela 104. Koncentracije Se (ng/g) v krvi in plazmi glede na prisotnost (+) ali odsotnost (-) *APOE* alela $\epsilon 4$ pri izbrani populaciji stratificirani glede na spol in starostno skupino.

	VSI GM, 95% IZ (N)		FANTKI GM, 95% IZ (N)		DEKLICE GM, 95% IZ (N)	
	$\epsilon 4+$ hap	$\epsilon 4-$ hap	$\epsilon 4+$ hap	$\epsilon 4-$ hap	$\epsilon 4+$ hap	$\epsilon 4-$ hap
B-Se (ng/g)						
Vsi	85.2, 82.9 – 87.5 (56)	86.9, 85.1 – 88.7 (171)	84.3, 80.7 – 88.0 (27)	87.9, 85.4 – 90.4 (85)	86.0, 83.1 – 89.0 (29)	86.3, 83.6 – 89.0 (84)
7-10 let	84.0, 81.3 – 86.8 (31)	86.5, 84.4 – 88.7 (103)	83.2, 79.1 – 87.5 (13)* [†]	89.2, 85.9 – 92.5 (49)	84.6, 80.8 – 88.6, (18)	84.0, 81.5 – 87.0 (54)
12-15 let	86.7, 82.8 – 90.7 (25)	87.9, 84.8 – 91.2 (66)	85.3, 79.1 – 92.0 (14)	86.1, 82.4 – 90.0 (36)	88.5, 83.7 – 93.4 (11)	90.1, 84.6 – 96.0 (30)
P-Se (ng/g)						
Vsi	67.3; 65.1 – 69.6 (56)	68.6, 67.3 – 70.0 (170)	66.6, 63.7 – 69.7 (27)	69.6, 67.6 – 71.6 (85)	67.9, 64.5 – 71.6 (29)	68.1, 66.3 – 70.0 (83)
7-10 let	68.1, 64.9 – 71.5 (31)	70.0, 68.3 – 71.6 (102)	69.4, 65.8 – 73.3 (13)	72.9, 70.8 – 75.0 (49)	67.2, 62.1 – 72.7 (18)	67.4, 65.3 – 69.6 (53)
12-15 let	66.3, 63.2 – 69.6 (25)	67.1, 64.8 – 69.5 (66)	64.1, 59.7 – 68.8 (14)	65.3, 62.2 – 68.5 (36)	69.2, 64.8 – 73.8 (11)	69.4, 66.0 – 73.0 (30)

*[†], mejno statistično pomembna razlika ob primerjavi nosilcev $\epsilon 4$ z ne-nosilci (p<0.1; ANOVA test).

4 Ocena izpostavljenosti

4.1 Potencialno strupene kovine in drugi kemijski elementi

Podatke o potencialnih virih izpostavljenosti strupenim kovinam in drugim kemijskim elementom smo v naši raziskavi pridobili na podlagi Vprašalnika »Izpostavljenost otrok in mladostnikov izbranim kemikalijam preko življenjskega okolja«, ki so ga izpolnjevali starši otrok, vključenih v projekt. Vprašalnik je vključeval vprašanja, ki so bila oblikovana na podlagi dobrih praks v projektu DEMOCOPHES, nacionalnem HBM programu, spremljanju izpostavljenosti svincu v Mežiški dolini in drugih študijah HBM v Sloveniji.

Najprej smo posamezna vprašanja po opazovanih sklopih obdelali s parametri opisne statistike kot je opisano v poglavju Metode tega poročila. Opis podatkov po posameznih odgovorih je predstavljen v poglavju »Rezultati« tega poročila.

Ocena povezanosti med koncentracijami opazovanih kovin v krvi, urinu, plazmi in laseh ter potencialnih virih izpostavljenosti je temeljila na ugotovitvah predhodnih raziskav s področja HBM.

Temelječe na rezultatih iz vprašalnika potencialni vir izpostavljenosti glede na značilnost bivališča in okolice predstavlja velik delež bivanja opazovanih otrok v bližini vrtičkov (lastni, sosedovi), poljedelske in sadjarske dejavnosti ter v bližini vinograda.

Malo več kot 20 % vprašanih jih uporablja žar na oglje ali drva ter uporablja za ogrevanje še dodatne grelce oziroma peči na drva oziroma premog.

Vprašani so opredelili, da je bila skoraj polovica stavb zgrajenih med leti 1951 in 1990. Pri 35 % vprašanih je bil azbest uporabljen kot gradbeni material. Prav tako okoli 22 % vprašanih navaja, da se je doma razbil termometer oziroma katera druga naprava, ki vsebuje živo srebro.

Zaskrbljujoča pa je izpostavljenost zaradi uporabe kozmetičnih proizvodov. Malo manj kot polovica staršev je odgovorila, da njihov otrok uporablja ličila, balzam za lase ter izdelke za oblikovanje pričeske. Več kot polovica opazovanih otrok uporablja dišave, parfume, toaletne vodice in dezodorante. Prav tako pomemben vir izpostavljenosti predstavlja uporaba sredstev za zatiranje škodljivcev in razkužila ter repelentov pri delu doma oziroma v njihovi okolici.

Prav tako odvisno od izpostavljenosti na delovnem mestu lahko potencialno izpostavljenost v bivalnem okolju predstavlja pranje delovne obleke doma. Skoraj polovica očetov pere delovno obleko doma.

Glede prehranske anamneze in povezanosti s potencialno izpostavljenostjo, so starši navedli, da skoraj dve tretjini opazovanih otrok uživa ribe več kot 3 krat mesečno.

Glede uporabe vode za pitje in kuhanje največji delež uporablja vodo iz javnega vodovoda, kjer je tudi vzpostavljen sistem stalnega nadzora nad zdravstveno ustreznostjo in varnostjo. Zelo majhen delež uporablja kot vir kapnico.

Prav tako ima zelo majhen delež otrok amalgamsko zalivko ali so mu jo odstranili. Malo več kot 20 % otrok jev domačem okolju izpostavljeno pasivnemu kajenju.

Ugotavljamo, da se kljub številnim javnozdravstvenim aktivnostim, ki se izvajajo v sklopu projektov in programov za ohranjanje in krepitev zdravja na NIJZ še vedno pojavljajo nekatera okoljska tveganja. Predvsem skozi prizmo uporabe energentov za ogrevanje, uporabe in vgradnje nezdravih gradbenih materialov. Široka uporaba kozmetičnih proizvodov za osebno nego. Prav tako pogosta uporaba sredstev za zatiranje škodljivcev in razkužil ter repelentov. Še vedno zaznavamo, da se delovna obleka pere v domačem okolju. Po drugi strani pa so gotovo

vsa prizadevanja, aktivnosti in ozaveščanje pripomogli k temu, da so se je pogostost nekaterih okoljskih dejavnikov zmanjšala (npr. izpostavljenost pasivnemu kajenju v javnih stavbah).

4.2 Policiklični aromatski ogljikovodiki

Vsota vseh analiziranih urinskih presnovkov PAH zajema vsoto 1-OH-PYR, 2-OH-NAP, 2-OH-FLU, 3-OH-FLU ter 1, 9, 2, 3 in 4-OH-PHE (v nadaljevanju Σ OH-PAH). Med urinskimi presnovki PAH je največ raziskav narejenih za 1-OH-PYR, ki je primeren indikatorski presnovek (surogate) za izpostavljenost PAH (Jongeneelen, 2001). Med analiziranimi urinskimi presnovki pripada največji delež 2-OH-NAP in sicer povprečno 87,5 %, pri čemer najmanjši delež 2-OH-NAP izmed vseh analiziranih presnovkov PAH znaša 56,5 %, največji pa 99,7 %. Po pogostosti sledijo metaboliti fenantrena, v povprečju 6,4 % (0,16-34 %), fluorena, v povprečju 4,5 % (0,13-19,3 %) in pirena, povprečno 1,6 (0,04-7,3 %). Deleži so primerljivi s podatki nekaterih drugih raziskav v populaciji otrok in mladostnikov, kjer je bil izmed vseh preiskanih presnovkov ravno tako ugotovljen najmanjši delež za 1-OH-PYR, okoli 2 % (Sochacka-Tatara in sod., 2018; Oliveira in sod., 2017; Fan in sod., 2012; Li in sod., 2008).

4.2.1 1-OH-piren

Podatkov o koncentraciji urinskih presnovkov pirena, pri kateri so pričakovani prehodni škodljivi biološki učinki, ni na voljo. Obstaja nekaj podatkov o populacijskih referenčnih vrednostih (Tabela 1), izmed katerih upoštevamo nemško referenčno vrednost 0,5 $\mu\text{g/L}$ (oziroma 0,3 $\mu\text{g/g}$ kreat) let (Schulz in sod., 2011). Ta vrednost je naši raziskavi presežena le v dveh primerih (0,8 %). Srednja vrednost urinske koncentracije 1-OH-PYR, ugotovljena v naši raziskavi, je primerljiva s podatki drugih raziskav v različnih delih sveta, v povprečju pa so celo nižje od večine razpoložljivih rezultatov, ki so zbrani v Tabela 2 Pri preiskovanki v starostni skupini 12-15 let z območja Goričkega, pri kateri je vrednost 1-OH-PYR znašala 1,41 $\mu\text{g/L}$ (1,004 $\mu\text{g/g}$ krea), gre predvidoma za nedavno prehransko izpostavljenost oziroma izpostavljenost cigaretnemu dimu. Smiselno je preveriti konkretno izpostavljenost na osnovi ponovljenega vzorčenja. Na izločanje 1-OH-PYR v urin vpliva tudi vnos ostalih predstavnikov PAH, npr. benzo(a)pirena, BaP, (Buckley in Lioy, 1992; v IPCS, 1998). Avtorja sta pokazala, da povečanje odmerka BaP (npr. s prehrano) lahko inducira povečano izločanje 1-OH-PYR (ob nespremenjenem vnosu pirena). V primerih velike prehranske izpostavljenosti BaP je zato lahko taka izpostavljenost potencialno primerljiva z nekaterimi poklicnimi izpostavljenostmi PAH, ki sicer veljajo za veliko večje, kot izpostavljenost splošne populacije (Buckley and Lioy, 1992; v IPCS, 1998). Prehransko izpostavljenost so na osnovi urinskega 1-OH-PYR proučevali tudi Kang. (1995; v EFSA, 2002). Pri desetih prostovoljcih, ki so pet dni uživali na oglju pečeno goveje meso, je bilo izločanje 1-OH-PYR v urinu 10-80-krat večje od vrednosti ozadja in se je na vrednost ozadja vrnilo v 24-72 urah (Kang in sod., 1995; v EFSA 2002), pri čemer se vrednost ozadja (orientacijska vrednost) za 1-OH-PYR v urinu prebivalcev v različnih državah giblje med 0,116 in 0,444 g/g krea (Kang in sod., 1995; v EFSA, 2002). Iz razpoložljivih raziskav je tudi znano, da imajo kadilci, ki sicer niso izpostavljeni PAH iz drugih virov (npr. na delovnem mestu), v urinu približno dvakrat večjo koncentracijo 1-OH-PYR v primerjavi z nekadilci (Jongeneelen in sod., 1990; Sherson in sod., 1992; Van Rooij in sod., 1994a; Levin in sod., 1995; v IPCS, 1998). Privzem pirena iz cigaretnega dima zaradi kajenja je ocenjen na 12 nmol/dan , kar je približno enako kot privzem iz »normalne« hrane 9,4 nmol/dan (EFSA, 2002). Glede na podatke iz literature ocenjujemo, da preiskovana populacija na obravnavanem območju ne kaže na večjo izpostavljenost pirenu. Vendar pa je naša raziskava pokazala, da spremljanje samo urinskega presnovka pirena ne zadostuje za kompleksno oceno izpostavljenosti. V sheme prihodnjih izvedb HBM je zato poleg 1-OH-PYR nujna vključitev več različnih presnovkov PAH.

4.2.2 2-OH-naftalen

Podatkov o koncentraciji urinskih presnovkov naftalena, pri kateri so pričakovani prehodni škodljivi biološki učinki, ni na voljo. Obstaja orientacijska vrednost za ozadje 20 µg/L, postavljene za meško populacijo (Schulz in sod., 2011). V naši raziskavi je ta vrednost presežena v 7,5 % vzorcev, največje ugotovljena vrednost (kot 95 percentil), ki je 45,6 µg/L, pa je več kot 10-krat večja v primerjavi z nekaterimi drugimi raziskavami, npr. NHANES (CDC, 2018). Srednja vrednost (GM) urinske koncentracije 2-OH-NAP v naši raziskavi je sicer primerljiva s podatki drugih raziskav v različnih delih sveta (Tabela 2), kjer urinske vrednosti 2-OH-NAP varirajo med okoli 1,50 in okoli 8,30 µg/L (srednja vrednost oziroma mediana). Iz raziskave NHANES iz leta 2013-14 je razvidno, da geometrijska sredina za 2-OH-NAP v starostni skupini 6-11 let znaša 3,13 µg/L, v starostni skupini 12-19 let pa 5,09 µg/L, 95 percentil za obe skupini pa je 18,6 µg/L oziroma 28,6 µg/L (CDC, 2018). Večje koncentracije urinskega 2-OH-NAP lahko kažejo na izpostavljenost onesnaženemu zraku v bivalnem okolju zaradi cigaretnega dima (Nethery in sod., 2012), vendar v naši raziskavi te povezave nismo potrdili. Na izločanje urinskega 2-OH-NAP lahko vpliva tudi hkratna izpostavljenost drugim PAH v mešanici, kar je odvisno od mnogih dejavnikov, zlasti individualnih posebnosti, metabolizma, genetike, itd. in kar je sicer značilno tudi za ostale spojine PAH (Ramesh in sod., 2016). Ravno tako je pri izpostavljenosti naftalenu pomembna onesnaženost zunanega zraka z delci PM10, kar so ugotovili v raziskavi na Poljskem (Sochacka-Tatara in sod., 2018). Po podatkih ARSO (ARSO, letna poročila) spada obravnavano območje med območja z veliko obremenitvijo z delci PM10, za katere je znano, da so medij za absorpcijo hlapnih organskih snovi, kot so PAH. Posledično na koncentracije urinskih presnovkov PAH lahko vplivajo tudi letni časi, kar so pokazali Sochacka-Tatara in sod. (Sochacka-Tatara in sod., 2018).

Naftalen je razvrščen kot potencialna kancerogena snov za človeka (IARC, 2018) zato je v zadnjem času vse več pozornosti namenjene spremljanju tega urinskega presnovka v okviru shem HBM. V naši raziskavi smo pokazali, da so koncentracije tega presnovka v primerjavi s koncentracijami presnovkov drugih PAH veliko večje in tudi delež 2-OH-NAP je bil med vsemi presnovki največji. Podobno so ugotovili tudi v drugih HBM raziskavah (Wilhelm in sod., 2008). Vključevanje 2-OH-NAP v sheme HBM je zato ključno pri ugotavljanju potencialne izpostavljenosti ljudi potencialnim kancerogenim predstavnikom PAH, kot je naftalen z namenom, da se izpostavljenost spremlja in nadzira ter z ustreznimi ukrepi zmanjša na najmanjšo možno mero.

4.2.3 Vsota hidroksi fenantrenov, ΣOH-PHE

Podatkov o koncentraciji urinskih presnovkov fenantrena, pri kateri so pričakovani prehodni škodljivi biološki učinki, ni na voljo. Ravno tako niso na voljo referenčne vrednosti oziroma vrednosti ozadja za splošno populacijo. Srednje vrednosti vsote urinskih hidroksi fenantrenov (vsota 1+9-hidroksi, 2-hidroksi, 3-hidroksi in 4-hidroksi fenantrena), ugotovljene v naši raziskavi, so primerljive oziroma nižje glede na vrednosti drugih podobnih raziskav v populaciji otrok in mladostnikov. V naši raziskavi ugotovljen 95 percentil za ΣOH-PHE pri 0,65 µg/L oziroma 0,71 µg/g krea (z intervalom zaupanja 0,58-0,912 µg/L, oziroma 0,61-0,97 µg/g krea), ni odstopal od predlagane populacijske referenčne vrednosti 1,5 µg/L (Schulz in sod., 2011). Primerjava z vrednostmi geometrijske sredine za ΣOH-PHE iz razpoložljive literature (Tabela 2) ravno tako pokaže podobne vrednosti z rezultati naše raziskave. V primeru naše raziskave se sicer v nekaterih posameznih primerih te vrednosti razlikujejo, vendar so te razlike verjetna posledica seštevka različnega števila posameznih hidroksiliranih presnovkov fenantrena oziroma njihove kombinaciji v skupni vsoti. Na primer, v raziskavi NHANES upoštevajo samo dva presnovka in sicer 2-hidroksi in 3-hidroksi fenantrena (CDC, 2018). V raziskavi na Poljskem (Sochacka-Tatara in sod., 2018) so ugotavljali vsoto enakega števila in istih hidroksi

fenantrenov, kakor v naši raziskavi. Na Poljskem je srednja vrednost za enako vsoto Σ OH-PHE pri 3-letnih otrocih znašala 1,352 $\mu\text{g/g}$ krea, v raziskavi NHANES (CDC, 2018) pa je vsota 2- in 3-hidroksi fenantrena (GM) za otroke v starosti 6-11 znašala 0,136 $\mu\text{g/g}$ krea, v starostni skupini 12-19 let pa 0,111 $\mu\text{g/g}$ krea. Urinski presnovki fenantrena lahko kažejo na nedavno potencialno izpostavljenost PAH v onesnaženem zraku v bivalnem okolju, predvsem cigaretnemu dimu, vendar primerjava v našem primeru ni pokazala statistično značilnih razlik. Poleg cigaretnega dima lahko prisotnost presnovkov fenantrena v urinu kaže na izpostavljenost onesnaženemu zraku v bivalnem okolju zaradi kurjenja lesa oziroma kurilnega olja, kuhanja na plin in podobno (Böström in sod., 2002). Pomemben dejavnik je lahko tudi onesnaženost zunanjskega zraka (prometnice, kurjenje na prostem, itd). Zhang in sod. (2014) pa so kontrolirani raziskavi prehranske izpostavljenosti PAH s hkratno izpostavljenostjo PAH v zraku pokazali povezavo med kratkoročno prehransko izpostavljenostjo PAH in večjimi koncentracijami urinskih presnovkov fenantrena (Zhang in sod., 2014).

4.2.4 Vsota hidroksi fluorenov, Σ OH-FLU

Podatkov o koncentraciji urinskih presnovkov fluorena, pri kateri so pričakovani prehodni škodljivi biološki učinki, ni na voljo. Ravno tako niso na voljo referenčne vrednosti oziroma vrednosti ozadja za splošno populacijo. Ugotovljene vrednosti za vsoto urinskih presnovkov fluorena lahko primerjamo s podobnimi raziskavami populacije otrok in mladostnikov. Srednja vrednost (GM) za vsoto presnovkov fluorena (vsota 2-OH-fluorena in 3-OH-fluorena), ugotovljena v naši raziskavi, je manjša od vrednosti, ugotovljenih v nekaterih podobnih raziskavah in znaša 0,195 $\mu\text{g/g}$ krea. Geometrijska sredina za Σ OH-FLU je npr. v raziskavi NHANES (CDC, 2018) v starostni skupini 6-11 let znašala 0,265 $\mu\text{g/g}$ krea, 95. percentil pa je bil 0,733 $\mu\text{g/g}$ krea, medtem ko je v starostni skupini 12-19 let geometrijska sredina bila 0,228 $\mu\text{g/g}$ krea, 95. percentil pa 1,268 $\mu\text{g/g}$ krea. V študiji 3-letnih otrok na Poljskem (Sochacka-Tatara in sod., 2018) so ugotovili geometrijsko sredino za Σ OH-FLU v urinu pri 2,387 $\mu\text{g/g}$ krea, 95. percentil je znašal 5,879 $\mu\text{g/g}$ krea. Vrednosti za Σ OH-FLU v urinu so bile večje pri otrocih, ki so bili izpostavljeni cigaretnemu dimu (pasivno kajenje) (Sochacka-Tatara in sod., 2018). Urinske presnovke fluorena povezujemo z nedavno prehransko izpostavljenostjo in izpostavljenostjo onesnaženemu zraku zaradi cigaretnega dima, kurjenja lesa, premoga, kurilnega olja, plina). Pogosto je vir fluorena tudi onesnažen zunanji zrak (PM10), zlasti ob prometnicah, vrednosti Σ OH-FLU v urinu pa so bile povezane z letnim časom vzorčenja in sicer so bile večje spomladi in pozimi v primerjavi s poletjem in jesenjo (Sochacka-Tatara in sod., 2018). Fluoren je drugi najpogostejši predstavnik PAH v cigaretnem dimu (Ding in sod., 2005) in je zaradi več razlogov predlagan kot najbolj specifičen in selektiven biomarker PAH za razlikovanje izpostavljenosti PAH med kadilci in nekadilci (Chetiyankulkul in sod., 2004).

5 OCENA TVEGANJA

Prisotnost kemikalij v biološkem material še ne pomeni ogrožanja zdravja. Dejstvo je namreč, da so ljudje neprestano izpostavljeni različnim kemikalijam iz okolja, preko prehrane in v okviru delovne aktivnosti. Pomembno pa je, da vsebnost, ki pride v telo, ne presega meje, za katero velja, da ni pričakovati škodljivih vplivov na zdravje. Desetletja dolgo nam raziskave dajejo vedno več odgovorov na to, kako človeško telo sprejema, presnavlja in izloča posamezne kemične snovi in vedno več je takih snovi, kjer imamo tudi podatke o koncentracijah, ki so še varne za zdravje.

Napredek analitične tehnologije omogoča odkrivanje in merjenje izjemno majhnih koncentracij naravnih in umetnih snovi v človeškem telesu. S pomočjo biomonitoringa o izpostavljenosti

kemikalijam iz okolja zagotavljamo dragocene, močne podatke o prisotnosti kemikalij v sledovih v telesnih tekočinah oziroma izločkih.

Da bi bili podatki za širšo javnost ter seveda za nosilce odločitev koristni in razumljivi, so postavljeni v kontekst tveganja za zdravje. Brez takšnega konteksta bi bili podatki o biomonitoringu za prizadevanja za zaščito zdravja zelo omejeni in hitro lahko pride tudi do napačne interpretacije. Pri tem so nam v pomoč podatki epidemioloških in toksikoloških raziskav o tem, kakšne so tiste vsebnosti posameznih onesnažil, ki jih najdemo v telesu, pri katerih glede na dosedanje znanstvene raziskave, ne pričakujemo negativnih posledic za zdravje. V okviru ocene tveganja za zdravje smo najdene vsebnosti prvenstveno primerjali nemškimi HBM vrednostmi in BE vrednostmi, ki so jih opredelili v ZDA.

Vrednosti humanega biomonitoringa HBM I in HBM II

Vrednosti humanega biomonitoringa HBM I in HBM II je v Nemčiji razvila komisija HBM Zvezne agencije za okolje. Te vrednosti so bile opredeljene na osnovi rezultatov epidemioloških in toksikoloških raziskav (Schulz in sod., 2011; Apel in sod., 2017).

Vrednost HBM I opredeljuje tisti nivo vsebnosti snovi v telesni tekočini, za katerega velja, da v primeru, kadar ni presežen, glede na sedanje znanje, ne pričakujemo negativnih vplivov na zdravje.

Vrednost HBM II pa opredeljuje tisti nivo vsebnosti snovi v telesni tekočini, pri kateri je, če je presežena, potrebno ukrepati, saj obstaja možnost negativnega vpliva na zdravje. Ukrepi so usmerjeni predvsem v zmanjševanje izpostavljenosti, lahko pa tudi v smeri odkrivanja negativnih posledic na zdravju in zdravljenje.

BE (Biomonitoring Equivalent)

BE (Biomonitoring Equivalent) je opredeljen kot tista koncentracija kemikalije v krvi ali urinu, za katero se na osnovi dosedanjih raziskav smatra, da je varna in v primeru, da jo najdemo v preiskovančevemu biološkemu materialu, ni pričakovati škodljivih posledic na zdravju (Hays in Aylward, 2009).

Pri ocenjevanju tveganja za zdravje, smo prvenstveno sledili HBM I, za snovi, kjer HBM I še ni opredeljen, pa smo uporabili BE.

Poleg tega smo upoštevali tudi usmeritve ki so bile podane v okviru projekta HBM4EU.

5.1 Potencialno strupene kovine in drugi kemijski elementi

Smernice nemške komisije (Schulz in sod., 2011) dajo omejeno število HBM vrednosti za naš nabor preiskovanih kovin. Za živo srebro imamo HBM vrednosti za vsebnost le-tega v krvi in urinu, ter za kadmij v urinu. Za svinec so HBM vrednosti umaknjene in je namesto tega problematična že kakršnakoli izpostavljenost. V pričujoči študiji so bile poleg teh najbolj proučevanih kovin (živega srebra (Hg), svinca (Pb) in kadmija (Cd)) izmerjene še koncentracije arzena (As), selena (Se), bakra (Cu) in cinka (Zn), za katere so enolični številčni podatki o kakršnihkoli mejnih vrednostih skopi. Poleg tega so bila vsa onesnažila izmerjena tudi v plazmi in v laseh, za kar pa so informacije glede HBM vrednosti omejene ali jih ni na voljo.

Koncentracija živega srebra v urinu in plazmi predstavlja skupno živo srebro (elementarno in organsko), vendar je v glavnem odraz izpostavljenosti elementarnemu, medtem ko koncentracija v rdečih krvničkah predstavlja izpostavljenost organskemu živemu srebru. Tudi lasje predstavljajo dober matriks za oceno izpostavljenosti organskemu živemu srebru. HBM vrednosti imamo postavljene za živo srebro v krvi (HBM I 5 µg/L oz. 4,72 ng/g) in urinu (HBM

I 5 µg/g kreatinina). V naši raziskavi noben otrok ni presegel teh vrednosti, GM pa je v odnosu na HBM I vrednosti zelo nizka.

Na vsebnost živega srebra v krvi, laseh in urinu je vplivala pogostnost uživanja morske hrane. Pričakovano s pogostostjo uživanja morske hrane vsebnost živega srebra v krvi raste. Prisotnost amalgamskih zalivk je vplivala na koncentracijo živega srebra v krvi in sicer je bila koncentracija pri otrocih brez amalgamskih zalivk nižja kot pri tistih z njimi. Vse vrednosti so tudi tukaj daleč pod HBM I.

Svinec v krvi (večinoma je v eritrocitih) je reprezentativen za svinec v mehkih tkivih in prikazuje izpostavitve zadnjih nekaj mesecev, ne odraža pa celotnega bremena svinca v telesu. Svinec se veliko počasneje izloča iz kosti in svinec v kosteh je biomarker kumulativne izpostavljenosti tekom življenja in je napovedni dejavnik številnih zdravstvenih izidov. Svinec v plazmi je težko meriti (je blizu kvantifikacijskih mej metode merjenja), problem je tudi hemoliza, ki se pojavi pri tipičnih laboratorijskih praksah. Po drugi strani pa je boljši biomarker kot kri pri visoki izpostavitvi. Svinec v urinu kaže na kratkoročno izpostavitve, pri svincu v laseh pa je problem kontaminacija površine lasu (Tiesjema in Mengelers, 2017). Kot smo navedli, je HBM vrednost umaknjena, iz 2011 pa obstaja referenčna vrednost 35 ng/mL za otroke stare 3 – 14 let (Schulz in sod., 2011), katero je preseгло 8% otrok v naši raziskavi.

Na vsebnost svinca v krvi ni pomembno vplival način pridobitve vode za pitje in kuhanje, vrednosti so bile nekoliko nižje le pri uporabi kapnice in pri komercialnem dobavitelju vode za pitje. Na vsebnost svinca v urinu in laseh je pomembno vplival način oskrbe z vodo za pitje in kuhanje, vrednosti so bile pomembno višje, kjer je bila oskrba z vodo organizirana preko manjšega javnega vodovoda.

Za kadmij v laseh je znano, da je zanesljiv kazalnik v primerih oseb z najvišjo izpostavljenostjo, pri nizki izpostavljenosti pa ne. Za kadmij velja tudi, da koncentracija v krvi prispeva informacijo o kratkoročni izpostavljenosti, ne pa o celotnem bremenu tega onesnažila v telesu ali obsežnosti prizadetosti specifičnih tarčnih organov. Široko sprejeto pa je, da je nivo kadmija v urinu mera za obremenitev telesa s kadmijem (Tiesjema in Mengelers, 2017). HBM I vrednost za kadmij v urinu (0.5 µg/L oz 0,4 µg/g kreatinina) sta v naši študiji pri prvem vzorčenju presegala samo dva posameznika in pri drugem vzorčenju 23 posameznikov (10 %). Maksimum vseh meritev je bil 1,40 µg/g kreatinina, kar je še vedno manj od HBM II vrednosti za otroke in mladostnike (2 µg/L oz. 1,6 µg/g kreatinina). Izpostavljenost pasivnemu kajenju ni pomembno vplivala na rezultate.

5.2 Policiklični aromatski ogljikovodiki

Velja poudariti, da so referenčne vrednosti oziroma populacijske orientacijske vrednosti ozadja statistično izpeljane vrednosti in ne predstavljajo biološko-relevantnih mej, ki so praviloma pridobljene s toksikološko študijo, zato jih ne moremo uporabiti za vrednotenje zdravstvenega tveganja. Podatkov o koncentraciji urinskih presnovkov PAH, pri kateri so pričakovani prehodni škodljivi biološki učinki, ni na voljo. V primeru genotoksičnih-rakotvornih snovi, kot so PAH, ni vrednosti praga, kar pomeni, da obstaja neka stopnja tveganja pri kateri koli stopnji izpostavljenosti (IPCS 2009). Tveganje za zdravje zaradi izpostavljenosti PAH na osnovi podatkov HBM bomo lahko ocenili, ko bodo na razpolago ustrezne smernice (guiding values), npr. BE ali HBGV. Pričakujemo, da bodo aktivnosti v okviru projekta HBM4EU usmerjene tudi v smer izpeljave ustreznih vrednosti za PAH za namen vrednotenja podatkov HBM z vidika zdravstvenega tveganja. V trenutni situaciji pa lahko prikažemo pristop k opredelitvi tveganja, ki je bil uporabljen (oziroma predlagan) v okviru omenjenega projekta HBM4EU.

V primeru PAH se zdravstveno tveganje nanaša na potencialni pojav raka. Epidemiološke raziskave (večinoma v zvezi s poklicno izpostavljenostjo) so pokazale povečano umrljivost raka pri delavcih, ki so bili izpostavljeni mešanici PAH (IARC, 2010). V zadnjih nekaj letih so PAH intenzivno ocenjevali pri različnih mednarodnih strokovnih organizacijah, kot so npr. Mednarodni program za kemijsko varnost (IPCS) (WHO/IPCS), Znanstveni odbor za hrano (SCF) in Skupni strokovni odbor FAO/WHO za aditive v hrani (JECFA). Kot ključne končne točke za vrednotenje izpostavljenosti PAH so opredeljeni raki pljuč, mehurja in kože (IARC, 2010).

Zmesi PAH in benzo[a]piren (BaP) so genotoksične rakotvorne snovi, za katere ni mogoče določiti mejnih vrednosti izpostavljenosti za zdravje za splošno populacijo. Vendar pa lahko kot približek rakotvornega tveganja uporabimo pristop količinske ocene tveganja v odvisnosti od odmerka PAH in z uporabo BaP (za katerega obstajajo ustrezni podatki) kot indikatorja mešanice PAH (ECHA-RAC, 2018). Za ta namen je leta 2018 Komisija za oceno tveganja pri Evropski agenciji za kemikalije (ECHA-RAC), v nadaljevanju RAC, pripravila pregled referenčnih razmerij med odmerkom in odzivom na kancerogene lastnosti mešanice PAH (CTPHT; coal tar, pitch, high temperature) na podlagi koncentracije BaP, PAH⁴¹ in PAH⁸²) v teh mešanicah. RAC je tudi postavila referenčna razmerja za izračun dodatnega tveganja za pojav raka zaradi vseživljenjske (70 let) prehranske izpostavljenosti PAH ali ELCR (ELCR; Excess Life-time Cancer Risk) za PAH⁴ in PAH⁸ (RAC, 2018). Referenčna razmerja med odmerkom in odzivom za izračun ELCR, ki jih je izpeljala RAC za prehransko izpostavljenost temeljijo na mejni vrednosti referenčnega odmerka (BMDL, Benchmark Dose Limit) pri nižji meji zaupanja (10 %) ali BMDL₁₀. Podrobnosti so opisane v nadaljevanju.

BMDL₁₀ je določila Evropska agencija za varnost hrane (EFSA) na podlagi rezultatov dvoletne peroralne študije rakotvornosti mešanic PAH (premogov katran), ki so jo opravili Culp in sod., (1998; v EFSA, 2008) in 10 % odziva testnih živali v primerjavi s kontrolo glede na pojav tumorjev jeter, pljuč, želodca, tankega črevesa, hemangiosarkomi, histiocitni sarkomi in sarkomi mezenterija, kože in ledvic (EFSA, 2008).

Ugotovljene vrednosti BMDL₁₀ so znašale (EFSA, 2008):

- BMDL₁₀ za PAH⁴ = 340 µg/kg_{tm}/dan
- BMDL₁₀ za PAH⁸ = 490 µg/kg_{tm}/dan

Z upoštevanjem alometričnega faktorja in deleža 0,1 (za preračun na ljudi) je RAC nato izpeljal naslednje referenčno razmerje za oceno ELCR (RAC, 2018):

- ELCR za PAH⁴ = $0,1 \times 7/340 = 2,06 \times 10^{-3} \times \text{izpostavljenost (odmerek) v } \mu\text{g/kg}_{\text{tm}}/\text{dan}$
- ELCR za PAH⁸ = $0,1 \times 7/490 = 1,43 \times 10^{-3} \times \text{izpostavljenost (odmerek) v } \mu\text{g/kg}_{\text{tm}}/\text{dan}$

V okviru projekta HBM4EU v okviru delovnega sklopa WP12.5 sta Sarigiannis in Karakitsios (2018) ocenila prehransko izpostavljenost (zunanji odmerek PAH) na podlagi HBM podatkov o urinskih koncentraciji 1-hidroksi pirena z uporabo PBPK modeliranja. Za rekonstrukcijo izpostavljenosti so bili uporabljeni splošni podatki o koncentracijah biomarkerjev PAH (1-hidroksi piren) v nekaterih državah EU (Belgija, Češka, Danska, Francija, Nemčija, Grčija, Italija). Glede na poročilo WP12.5 je povprečna prehranska izpostavljenost PAH (kot piren) znašala med 25 ng/kg_{tm}/dan za nekadilce v Belgiji do 240 ng/kg_{tm}/dan za kadilce na Nizozemskem, srednja vrednost dnevnega vnosa v državah EU pa je bila približno 50 µg/kg_{tm}/dan (Sarigiannis in Karakitsios, 2018). V tem poročilu je bilo tudi ocenjeno, da

¹ **PAH⁴**: Benz[a]anthracene, Chrysene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[a]pyrene

² **PAH⁸**: Benz[a]anthracene, Chrysene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[k]fluoranthene, Benzo[a]pyrene, Indeno[1,2,3-cd]pyrene, Dibenz[a,h]anthracene, Benzo[ghi]perylene

prehranski vnos predstavlja približno 90 % celotne izpostavljenosti PAH v splošni evropski populaciji (brez poklicne izpostavljenosti in kadilcev). Te vrednosti, ne glede na nezanesljivost modelnih izračunov (ki so stvar razprave), se relativno dobro ujemajo s podatki EFSA (glej v nadaljevanju).

Prehransko izpostavljenost PAH v okviru svojih pristojnosti in aktivnosti ocenjuje tudi EFSA, posebej za povprečne in posebej za velike porabnike živil, potencialno onesnaženih s PAH. Po podatkih EFSA (2008) znaša srednja prehranska izpostavljenost PAH₄ za povprečne porabnike 19,5 ng/kg_{tm}/dan, srednja prehranska izpostavljenost PAH₄ za velike porabnike pa znaša 34,5 ng/kg_{tm}/dan (EFSA, 2008).

Ob predpostavki, da je piren indikator izpostavljenosti mešanici PAH in da je 1-OH-PYR indikatorski biomarker, povezan zlasti s prehransko izpostavljenostjo (Nethery in sod., 2012), je bil nato v okviru projekta HBM4EU izračunan ELCR, Tabela 13 (Santonen in sod., 2019).

Tabela 13: Izračun dodatnega tveganja za pojav raka (ELCR) zaradi vseživljenjske prehranske izpostavljenosti PAH₄ na podlagi referenčnih razmerij po RAC (ECHA RAC, 2018)

Država/območje	Populacija	Odmerek* (µg/kg _{tm} /d)	ELCR* (RR=2.06 x10 ⁻³)	Odmerek** (µg/kg _{tm} /d)	ELCR** (RR=2.06 x10 ⁻³)
Belgija*	Splošna nekadilci	0.0225	4.64 x10 ⁻⁵		
Nizozemska*	Splošna kadilci	0.216	4.45 x10 ⁻⁴		
EU*	Splošna	0.045	9.27 x10 ⁻⁵		
EU**	Povprečni porabnik			0,019	3,9 x10 ⁻⁵
EU**	Velik porabnik			0.035	7,21x10 ⁻⁵

*na osnovi rekonstrukcije izpostavljenosti (HBM4EU)

**na osnovi izračuna odmerka (=količina živila x koncentracija PAH₄) (podatki EFSA, 2008)

Čeprav ni zakonodaje, ki bi določala sprejemljivo raven tveganja za raka zaradi izpostavljenosti PAH, se kot okvirno dopustno raven tveganja za splošno populacijo v skladu s priporočili WHO oziroma EU upošteva vrednost med 10⁻⁵ (low risk) do 10⁻⁶ (tolerable risk), vrednost >10⁻⁴ pa predstavlja veliko tveganje (high risk) (WHO in EC, 2001). Na podlagi tega iz zgornje tabele izhaja, da vseživljenjska prehranska izpostavljenost PAH₄ v primeru nekadilcev v Belgiji in za splošno populacijo v EU predstavlja majhno tveganje za pojav raka (46 oziroma 92 primerov na 1.000.000), v primeru kadilcev na Nizozemskem pa veliko (445 primerov na 1.000.000). Za primerjavo je ELCR izračunan tudi na podlagi podatkov EFSA o prehranskem vnosu PAH₄, ki v obeh primerih (povprečni in velik porabnik živil na EU trgu) predstavlja majhno tveganje za pojav raka.

Zanesljivost (točnost) tega načina je seveda stvar razprave. Vendar v trenutni situaciji predstavlja eno izmed možnosti tako za grobo oceno kot za izhodišče (potrebo) za zbiranje ustreznih podatkov, učenje in posledično izboljšano opredelitev tveganja v bodoče. V konkretnem primeru pa tudi možnost poskusa interpretacije rezultatov HBM za slovensko populacijo, kar je nujna vsebina naslednjega projekta in prihodnjih raziskav na tem področju.

Za opredelitev tveganja zaradi prehranske izpostavljenosti se uporablja tudi pristop primerjave dejanske (ugotovljene) izpostavljenosti z BMDL, t.i. pristop MOE oziroma določitev meje izpostavljenosti (MOE, Margin of Exposure) (EFSA, 2008). V tem primeru podatke o dejanski izpostavljenosti pridobimo iz statističnih podatkov o porabi hrane (dejansko zaužitih količin) in vrednosti konkretnega onesnaževala v hrani (rezultati analiz živil) (IPCS 2009; EFSA; 2008). Razmerje med obema prvinama (MOE) predstavlja stopnjo izpostavljenosti, pri čemer vrednost

MOE \geq 10000 nakazuje, da ugotovljena izpostavljenost z upoštevanjem celotne negotovosti pri interpretaciji predstavlja sprejemljivo tveganje za javno zdravje (EFSA, 2008).

Po principu izračuna MOE je bila nedavno narejena ocena izpostavljenosti PAH in opredelitev tveganja tudi za slovensko populacijo (Kirinčič, 2015) in sicer na osnovi koncentracije PAH v živilih na slovenskem trgu (podatki nacionalnega monitoringa živil) ter zaužitih količin posameznih živil (statistični podatki o količinah zaužitih živil). Študija je na osnovi izračuna MOE pokazala, da dolgoročna izpostavljenost prebivalcev Slovenije PAH iz hrane predstavlja nizko tveganje za zdravje za povprečne porabnike pri mladostnikih in odraslih. Večje tveganje za zdravje lahko predstavlja potencialna izpostavljenost PAH za povprečne porabnike pri otrocih ter za velike porabnike pri otrocih, mladostnikih in odraslih. Pri tem je pomembno poudariti, da je bila izpostavljenost ocenjena konzervativno in z omejenimi podatki (Kirinčič, 2015).

Zgoraj omenjena raziskava lahko predstavlja dodaten vzorčni primer primerjave opredelitve tveganja na podlagi zunanjega odmerka, izračunanega iz dejanske porabe živil in odmerka, izpeljanega iz podatkov HBM, ki so sedaj na voljo tudi za izbrano slovensko populacijo.

Za opredelitev tveganja na podlagi podatkov HBM so potrebne ustrezne vrednosti BE ali HBGV za izbrane urinske (ali druge) biomarkerje PAH, ki so povezane s konkretnimi zdravstvenimi učinki in posledicami za zdravje. Izpeljavo teh vrednosti, ki bodo temeljile izključno na učinkih na zdravje (i.e. ni škodljivih učinkov na zdravje pod konkretno vrednostjo) oziroma na sprejemljivem tveganju (mejnih referenčnih vrednostih, izpeljanih za analizirane biomarkerje) lahko pričakujemo v bodoče v okviru projekta HBM4EU.

5.3 Bisfenoli

Glavni vnos bisfenolov v človeka je preko živil, ki so v stiku s polikarbonatno plastiko ali zaščitnimi premazi v notranjosti pločevink, manjši vir pa predstavljajo dentalni materiali ter absorpcija skozi kožo npr. zaradi izpostavitve termičnemu papirju. Bisfenol A deluje kot endokrini motilec, nedavne raziskave pa so pokazale, da uporabo zamenjav BPA, kot sta BPF in BPS, prav tako spremlja potencialno tveganje. Strožja zakonodaja sicer omejuje uporabo BPA, hkrati pa se povečuje uporaba alternativnih spojin. EU je sicer preventivno prepovedala uporabo BPA v plastičnih stekleničkah za dojenčkah, le določene članice pa tudi uporabo BPA v vseh materialih, ki so v stiku z živilih. Slovenija prepoved uporabe BPA zavrača, v skladu se tem so tudi rezultati, saj so vrednosti BPA višje kot npr. v ZDA, povprečni koncentraciji BPF in BPS pa sta pri nas bistveno nižji kot pri ameriški populaciji. Uporaba nadomestka BPS je kljub nizkim vrednostim pri prekmurski populaciji sicer razvidna iz pričujoče študije, saj je bila koncentracija BPS v urinu pozitivno povezana z uživanjem hrane pogrete v plastični posodi.

Izpostavljenost BPA v EU je nižja od tistih, ki povzročajo škodljive učinke na zdravje, enako smo ugotovili tudi v preiskovani populaciji prekmurskih otrok, saj nihče od otrok ni presejal mejne vrednosti HBM I za otroke. Za BPF in BPS zaenkrat še ni na voljo HBM I ali II vrednosti, saj ni na voljo podatkov o koncentracijah, pri kateri so pričakovani negativni biološki učinki. Glede na podatke o vsebnosti teh spojin pri splošni populaciji otrok iz ameriške študije NHANES, pa je 95. percentil za BPF presegal 11 otrok iz naše študije, 95. percentil za BPS pa 5 otrok.

5.4 Triklozan

Triklozan so razvili v 60-letih in je antibakterijsko in protiglivično sredstvo. Snov uporabljajo v številnih higienskih izdelkih kot na primer v zobni pasti, milu, detergentih, najti pa ga je mogoče tudi v igračah in nekaterih kirurških pripomočkih.

Poleg antibakterijskega in antiglivičnega delovanja pa je bilo ugotovljeno tudi, da deluje triklosan kot šibek endokrini motilec. Veže se tako na androgenski receptor kot na estrogenski receptor, odgovor pa je tako agonističen kot antagonističen. To dejstvo in dejstvo, da je v okolju zaradi široke uporabe prisoten tako v vodah kot tudi v tleh, kar vpliva na mikroorganizme v okolju, je prispevalo k temu, da je spojini namenjena veliko večja previdnost. Zaenkrat še ni pojasnjeno v kolikšni meri lahko izpostavljenost triklosanu ogrozi razvoj in zdravje, zato je ta previdnost zelo umestna. Na osnovi dosedanjih raziskav o biološkem delovanju teh snovi so bile postavljene tudi BE vrednosti, torej tiste koncentracije triklosanov oziroma njihovih presnovkov, za katere velja, da ne pričakujemo škodljivih posledic, če niso presežene.

V okviru humanega biološkega monitoringa pri otrocih v Prekmurju ni bilo ugotovljenih preseganj mejne vrednosti HBM I, zato niso bili predlagani posebni ukrepi za zmanjšanje vnosa triklosana.

5.5 Parabeni

Parabeni so konzervansi, ki se že od tridestih let naprej široko uporabljajo v farmacevtski in kozmetični industriji. Parabeni in njihove soli imajo namreč baktericidne in fungicidne lastnosti. V okolju jih najdemo v odpadnih vodah, površinskih vodah, pa tudi hišnem prahu in prsti. Nasplošno še vedno velja, da je njihova uporaba varna, je pa v zadnjem času vedno več raziskav, ki kažejo, da imajo vlogo pri pojavu endokrinih motenj., kadar gre za visoko izpostavljenost. Tako in vitro kot tudi in vivo je bilo ugotovljeno, da imajo parabeni izraženo estrogeno aktivnost.

Najpogosteje uporabljeni parabeni so: metilparaben, etilparaben, propilparaben in butilparaben.

Znano je, da parabeni dražijo kožo, povzročajo alergične reakcije na koži, v primeru večje občutljivosti kože ali kadar je že poškodovana, kontaktni dermatitis.

Raziskave humanega biološkega monitoringa kažejo, da je raven parabenov v humanih vzorcih tesno povezana z uporabo kozmetičnih izdelkov, ki so jim te snovi dodane. Kozmetični izdelki so glavni vir izpostavljenosti.

Glede na podatke o vsebnosti teh presnovkov pri splošni populaciji otrok, je bila vsebnost v urinu pri več kot eni tretjini otrok nekoliko višja od mejnih vrednosti, ki opredeljujejo vrednosti pod katerimi ne pričakujemo zaznavnih bioloških učinkov. Kot neposreden ukrep smo staršem priporočili, da pregledajo izdelke za osebno nego, ki jih otrok uporablja in izločijo tiste, ki po navedbah na etiketi vsebujejo parabene. Pričakujemo, da bo vsebnost parabenov zaradi manjše izpostavljenosti zatem upadla. Staršem smo omogočili ponovno testiranje.

6 DISEMINACIJA

Pripravili smo komunikacijski material v času rekrutiranja: Predstavitve za starše in Vabilo k sodelovanju (Priloga 4).

Partnerji pri raziskavi smo aktivni pri izvajanju nekaterih EU projektov s področja okolja in zdravja. Na rednih sestankih projektov HBM4EU (IJS, NIJZ), HEALS (IJS) in ICARUS (IJS) smo nadaljevali s povezovanjem s partnerji s področja analitike, da bi tako povečali zmogljivosti glede izvedbo nekaterih analiz, za katere v Sloveniji ni kapacitet.

V okviru HBM4EU smo med drugim sodelovali pri pripravi prioritetnega seznama kemikalij za 2018. Predlagali smo tudi piretroide, ki so med izbranimi kemikalijami, ki jih gledamo v okviru CRP V3-1640 in za katere v Sloveniji ni analitskih kapacitet. Prioritetni seznam v drugi

fazi po izborih sedaj vključuje dodatnih 9 substanc, med drugim arzen, svinec, živo srebro in tudi pesticide (glifosat, klorpirifos, fipronil in piretroide).

Objavili smo več znanstvenih člankov, ki se navezujejo tudi na ta projekt:

- Snoj Tratnik, Janja, Kosjek, Tina, Heath, Ester, Mazej, Darja, Čehić, Sulejma, Karakitsios, Spyros P., Sarigiannis, Dimosthenis, Horvat, Milena. Urinary bisphenol A in children, mothers and fathers from Slovenia : overall results and determinants of exposure. *Environmental research : multidisciplinary journal of environmental sciences, ecology, and public health*, ISSN 0013-9351, 2019, vol. 168, str. 32-40, doi: [10.1016/j.envres.2018.09.004](https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.09.004). [COBISS.SI-ID [31702567](#)]
- Sarigiannis, Dimosthenis, Snoj Tratnik, Janja, Mazej, Darja, Kosjek, Tina, Heath, Ester, Horvat, Milena, Anesti, Ourania, Karakitsios, Spyros P. Risk characterization of bisphenol-A in the Slovenian population starting from human biomonitoring data. *Environmental research : multidisciplinary journal of environmental sciences, ecology, and public health*, ISSN 0013-9351, 2019, vol. 170, str. 293-300, doi: [10.1016/j.envres.2018.12.056](https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.12.056). [COBISS.SI-ID [32327463](#)]
- Snoj Tratnik, Janja, Mazej, Darja, Horvat, Milena. Analytical quality requirements in human biomonitoring programs : trace elements in human blood. *International journal of environmental research and public health*, ISSN 1660-4601, 2019, vol. 16, no. 13, str. 2287-1-2287-16, doi: [10.3390/ijerph16132287](https://doi.org/10.3390/ijerph16132287). [COBISS.SI-ID [32477479](#)]
- Snoj Tratnik, Janja, Falnoga, Ingrid, Mazej, Darja, Kocman, David, Fajon, Vesna, Jagodic, Marta, Stanjko, Anja, Trdin, Ajda, Šlejkovec, Zdenka, Jeran, Zvonka, Osredkar, Joško, Sešek-Briški, Alenka, Krsnik, Mladen, Kobal, Alfred Bogomir, Kononenko, Lijana, Horvat, Milena. Results of the first national human biomonitoring in Slovenia : trace elements in men and lactating women, predictors of exposure and reference values. *International journal of hygiene and environmental health*, ISSN 1438-4639, 2019, vol. , iss. , str., tabele. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438463918308290?via%3DIhuh>, doi: [10.1016/j.ijheh.2019.02.008](https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.02.008). [COBISS.SI-ID [4685169](#)]
- Basu, Nilardi, Horvat, Milena, Evers, David C., Zastenskaya, Irina, Weihe, Pal, Tempowski, Joanna. A state-of-the-science review of mercury biomarkers in human populations worldwide between 2000 and 2018. *Environmental health perspectives*, ISSN 1552-9924, [in press] 2018, 14 str., doi: [10.1289/EHP3904](https://doi.org/10.1289/EHP3904). [COBISS.SI-ID [31763495](#)]
- Steckling, Nadine, Heath, Ester, Jagodic, Marta, Kosjek, Tina, Mazej, Darja, Stajnko, Anja, Snoj Tratnik, Janja, Horvat, Milena, in sod. Biomarkers of exposure in environment-wide association studies: opportunities to decode the exposome using human biomonitoring data. *Environmental research : multidisciplinary journal of environmental sciences, ecology, and public health*, ISSN 0013-9351, 2018, vol. 164, str. 597-624, doi: [10.1016/j.envres.2018.02.041](https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.02.041). [COBISS.SI-ID [31320103](#)]
- Jagodic, Marta, Potočnik, Doris, Snoj Tratnik, Janja, Mazej, Darja, Pavlin, Majda, Trdin, Ajda, Eftimov, Tome, Kononenko, Lijana, Ogrinc, Nives, Horvat, Milena. Selected elements and fatty acid composition in human milk as indicators of seafood dietary habits. *Environmental research : multidisciplinary journal of environmental sciences, ecology, and public health*, ISSN 0013-9351, 2019, Available online 14 October 2019, 108820; In Press, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108820>
- Šömen Joksić, Agnes, Kukec, Andreja, Golja, Viviana, Lešnik, Uroš, Gobec, Matevž, Eržen, Ivan, Farkaš-Lainščak, Jerneja. Onesnaženost zraka z ultra-finimi delci in ocena potencialne izpostavljenosti prebivalcev zaradi ognjemetov = Air pollution with ultrafine particles and potential exposure assessment due to fireworks. *Javno zdravje*, ISSN 2591-0906, 2018, vol. 2, št. 1, str. 29-39. http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/somen_joksic_et_al._jz_02-04.pdf. [COBISS.SI-ID [4187365](#)]

- Galičič, An, Šömen Joksić, Agnes, Golja, Viviana, Kirinčič, Stanislava, Otorepec, Peter, Eržen, Ivan, Blaznik, Urška. Pristop k določitvi prizadetega območja in vzorčenja segmentov okolja za oceno dolgoročnega vpliva požara v podjetju Kemis d.o.o. na Vrhniki na zdravje ljudi = The approach to the sampling of environment for assessing the long - term impact on human health due to fire in the Kemis d.o.o. company in Vrhnika. *Javno zdravje*, ISSN 2591-0906, 2018, vol. 2, št. 1, str. 21-28. http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/galicic_et_al._jz_02-03.pdf. [COBISS.SI-ID [4187109](#)]

Delo povezano s projektom smo predstavili na konferenci, posvetih in v intervjujih:

- Znanstveni prispevek na konferenci: Jagodic, Marta, Snój Tratnik, Janja, Potočnik, Doris, Mazej, Darja, Eftimov, Tome, Ogrinc, Nives, Horvat, Milena. Maternal dietary habits, levels of selected elements and fatty acids composition in human milk from coastal and inland areas of Slovenia. V: *Book of abstracts*, European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Pau, Feb. 3-8, 2019. Pau: [s. n.]. 2019, str. 424. https://drive.google.com/file/d/1YaOVi8eYaJaEfRDNr0tmK_8oI8IE1H55/view. [COBISS.SI-ID [32122663](#)]
- Predavanje: Snój Tratnik Janja in sod. Humani biomonitoring v Sloveniji: izbrani elementi pri odraslih moških in doječih ženskah 10. Posvet Kemijska varnost za vse, Laško, 23. in 24. oktober 2018. *Varno ravnanje z nevarnimi snovmi za zdrava delovna mesta in okolje : [zbornik razširjenih povzetkov]*. Ljubljana: Nacionalni inštitut za javno zdravje, 2019. ISBN 978-961-7002-76-8. http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/zbornik_kv_2018_10-posvet.pdf. [COBISS.SI-ID [299062272](#)]
- Predavanje v okviru dogodkov Znanost na cesti:
Horvat, Milena. Prisotnost kemikalij v vsakdanjem življenju. *VideoLectures.net : exchange ideas & share knowledge*, 14. jun. 2019. http://videlectures.net/znanostnacesti_horvat_prisotnost_kemikalij/. [COBISS.SI-ID [32458023](#)]
- Intervju v tiskanih medijih
Horvat, Milena (intervjuvanec). Državljan izbira in dirigira. *Gea : poljudnoznanstvena revija*, ISSN 0353-782X. [Tiskana izd.], feb. 2019, letn. 29, str. 26-30, portreti. [COBISS.SI-ID [32136487](#)]
Horvat, Milena (intervjuvanec). Ne ve se, kaj gre iz okolja v telo. *Vestnik*, ISSN 0351-6407. [Tiskana izd.], 12. okt. 2017, letn. 69, št. 41, str. 2-3. [COBISS.SI-ID [30845991](#)]
Horvat, Milena. Kemikalije v okolju in človek : 18. decembra 2018. *Glasnik Slovenske matice*, ISSN 0351-0298, 2018, letn. 35, str. 119. [COBISS.SI-ID [300986880](#)]
- Radijski ali TV dogodek:
Horvat, Milena (intervjuvanec). *Kemikalije v našem okolu : intervju : RTV Slovenija 1, oddaja Dobro jutro*. 3. jun. 2019. [COBISS.SI-ID [32402727](#)]
Horvat, Milena, ŠÖMEN JOKSIĆ, Agnes, KOREN, Nataša, TRDIN, Ajda. *Humani biomonitoring: oddaja U3nek, RTV SLO 1, 22. feb. 2018*. [COBISS.SI-ID [31227175](#)]
Horvat, Milena (intervjuvanec). *Strupene kovine = RTV Slovenija 1, oddaja Dobro jutro, 25. oktober, 2018*. [COBISS.SI-ID [31819303](#)]

6.1 Komunikacija individualnih rezultatov

Po pridobitvi rezultatov, ki so predstavljeni v pričujočem poročilu, smo pripravili tudi individualna obvestila za posamezne preiskovance, ki so sodelovali v študiji. Primer obvestila je predstavljen v Prilogi 8.

Obvestila posameznim priskovancem smo razdelili na tista, kjer so vsi parametri v mejah, kjer ne pričakujemo nobenih negativnih posledic na zdravju ter na tista, kjer so posamezni parametri mejni oziroma nekoliko višji od mejnih. V teh primerih smo obvestilu dodali tudi pojasnilo, kaj rezultat pomeni v luči tveganja za zdravje ter pripravili predloge za ukrepanje, da bi nivo posameznega onesnažila znižali. V nekaterih primerih smo preiskovancem sporočili, da lahko preiskavo ponovimo, če se bodo za to odločili.

Vsa individualna sporočila so v fazi pošiljanja. Niso pa še vsa odposlana, saj je bilo potrebno zaradi dodatnih analiz, s to aktivnostjo nekoliko počakati. Vsekakor bodo v prvi polovici decembra vsi preiskovanci individualna poročila tudi prejeli.

6.2 Komunikacija strokovni in laični javnosti

Na tem področju smo pristopili tako, da smo se s Pomurskim valom, ki ima visoko stopnjo poslušnosti, dogovorili za kontaktno radijsko oddajo, kjer bomo poslušalcem predstavili pomen humanega biološkega monitoringa ter rezultate, ki smo jih pridobili v okviru raziskave. Poleg tega smo se dogovorili tudi za intervju, ki bo objavljen v VESTNIKU- to je regijski tedenski časopis. Tudi tu bo vsebina podobna, kot jo bomo predstavili v radijski oddaji. Izvedba teh aktivnosti bo potekala v januarju, saj želimo pred tem poslati vsa individualna obvestila staršem otrok, ki so bili vključeni v raziskavo. Ta bodo v celoti razposlana v decembru.

Naslednji način komuniciranja bo potekal preko sodobnih komunikacijskih kanalov: spletna stran, Facebook in Twitter. Na spletni strani <https://www.nijz.si/sl/humani%20biomonitoring> bomo objavili zaključno poročilo. Poleg tega bomo v času predstavitve rezultatov laične javnosti na območju Prekmurja, intenzivno komunicirali ugotovitve humanega biološkega monitoringa tudi preko socialnih medijev. Na ta način bomo s ključnimi sporočili dosegli velik del prebivalcev Slovenije in jih spodbudil, da obišejo tudi spletno stran. NIJZ ima preko 36000 kontaktov na Facebook profilu, tako, da je doseg sporočil izjemno velik. Na ta način želimo preko rezultatov raziskave tudi širši javnosti v Sloveniji predstaviti pomen humanega biološkega monitoringa za spremljanje tveganj za zdravje ljudi v povezavi z onesnažili.

Za strokovno javnost načrtujemo posebne komunikacijske aktivnosti. V sodelovanju z SB Murska Sobota bomo udeležencem strokovnega posveta predstavili pomen biomonitoringa, izzive, s katerimi se pri izvajanju soočamo ter rezultate biomonitoringa v Prekmurju. Podobno bomo pristopili tudi na področju osnovnega zdravstva, kjer načrtujemo posvet za vse zdravnike iz primarne ravni v regiji. Srečanje bo potekalo v sodelovanju z zdravstvenim domom Murska Sobota.

7 ZAKLJUČEK

Namen raziskave je ocenjevanje izpostavljenosti otrok in mladostnikov kemikalijam iz okolja. V ta namen smo na izbranem območju Prekmurja rekrutirali 246 otrok (6-9 let) in mladostnikov (12-15 let). Zbrali smo podatke iz vprašalnikov o prehranskih navadah, bivalnem okolju, hobijih in socio-ekonomskem statusu ter vzorčili kri, urin, lase in slino. V zbranih vzorcih so bile do sedaj opravljene naslednje analize:

- Multielementna analiza las
- Multielementna analiza krvi in plazme
- Multielementna analiza urina
- Specijacija As v vzorcih urina
- Določitev bisfenolov A, F in S, parabenov in triklosana v urinu
- Določitev glifosata in AMPA v urinu
- Določitev PAHov v urinu
- organofosforni pesticidi
- Izolacija DNA za genotipizacijo izbranih genov pomembnih za povečano ali zmanjšano občutljivost na prisotnost preiskovanih kemikalij
- Spremljevalne biokemijske analize: osnovna analiza krvi - hemogram, v urinu kreatinin, NAG, Alb, IgG in alfa-1-mikroglobulina in v serum kreatinin, celokupni holesterol in trigliceridi.

Za organofosforne pesticide smo se dogovorili z laboratorijem iz Barcelone, s katerim smo že sodelovali v okviru projekta CROME Life+:Center of Research and Development, Spanish Research Council (CSIC). Aalize so v teku, o rezultatih bomo poročali, ko bodo le-ti na voljo, predvidoma do konca februarja 2020.

Ker je Slovenija aktivna v EU programu HBM4EU, smo program raziskave razširili še na prvo skupino prioritetni substanc (ftalati in DINCH, bromirani zaviralci gorenja, PFAS) in uspeli vključiti populacijo otrok in mladostnikov CRP projekta v aktivnost HBM4EU 8.1 (»Aligned studies«). Te analize mora Slovenija sofinancirati, v deležu 50 % celotnega stroška, vendar le v obsegu 150 vzorcev na analit. O dodatnem sofinanciranju preostalih vzorcev pa je potrebno skleniti dodatni dogovor. Žal analize do danes še niso končane, saj so bili laboratoriji za analize vzorcev s strani HBM4EU potrjeni šele pred kratkim. Analize bodo tako izvedene šele v prvi polovici leta 2020, zato bomo rezultate vključili v podatkovno bazo naknadno ter o njih primerno poročali.

Pri pripravi podatkovne baze in kodiranju vprašalnikov in vzorcev smo sledili že uporabljenemu načinu v nacionalnem HBM. V predlogu CRP projekta smo planirali strukturo, podatkovne baze v obliki, ki bo primerna za EU IPChem v skladu z programom projekta HBM4EU. Žal v okviru projekta HBM4EU še ni dogovora, zato bomo sledili procesu usklajevanja na HBM4EU ravni ter o tem naknadno poročali. Glavni vzrok je GDPR uredba, ki zahteva anonimizirane individualne podatke (ključ do posameznika uničen). Podatki bi morali biti izključno anonimizirani (ključ do posameznika uničen). Možna je le predstavitev rezultatov v agregirani obliki. Ko bo v okviru HBM4EU sprejet končen dogovor, se bomo v posvetu z nacionalnim vozlišče HBM odločili o nadaljnjih postopkih.

Razvita metodologija se je izkazala kot primerna za razširitev na celotno Slovenijo in je bila osnova za nadaljevanje v okviru slovenskega humanega biomonitoringa HBM 2018-2022.

Predstavljena študija je izjemnega pomena, saj smo prvič poleg otrok v raziskavo vključili tudi mladostnike, poleg tega tudi kemikalije, za katere v Sloveniji obremenjenost pri splošni

populaciji še ni bila preučena. Ker vzorčena populaciji živi v neposredni bližini intenzivne kmetijske obdelave, bodo podatki za pesticide zelo pomembni pri oceni izpostavitve in tveganja za zdravje pri tovrstni populaciji. Zaenkrat imamo na voljo le rezultate za glifosat in njegov presnovek AMPA, ki pa kažeta na nizko izpostavljenost, ki kot kažejo podatki ne izhaja neposredno iz uporabe herbicida.

Vsebnost potencialno strupenih elementov, ki smo jih določili pri preučevani populaciji otrok iz Prekmurja, je bila relativno nizka in le malo otrok je presegalo mejne vrednosti. Med posameznimi skupinami nismo opazili izrazitih razlik, je pa zelo zanimivo, da se kažejo razlike med prvim (zimskim) in drugim (poletnim) vzorčenjem za nekatere elemente, in sicer višje vsebnosti Cd pri poletnem vzorčenju, prav tako nekoliko višje vsebnosti As in Cu, ki so lahko posledica uporabe pesticidov in/ali gnojil.

Pomembna pridobitev za Slovenijo so tudi podatki za PAH, ki doslej pri splošni populaciji v Sloveniji niso bili na voljo. Prisotnost presnovkov PAH v urinu je nakazala povezavo z izpostavljenostjo pasivnemu kajenju. Za spremljanje in potrditev tovrstne izpostavljenosti je smiselno v shemo HBM uvesti tudi testiranje populacije na ustrezne biomarkerje (npr. kotinin). V primerih posameznih preseženih vrednostih, zlasti presnovka pirena in naftalena, je smiselno ponoviti vzorčenje, za bolj zanesljivo oceno izpostavljenosti pa je smiselna izvedba HBM v rednih časovnih razmikih, z upoštevanjem letnega časa in vključitve večjega števila preiskovancev.

V shemah HBM se kot najpogostejši biomarker največkrat pojavlja 1-OH-PYR, ki velja kot indikatorski biomarker izpostavljenosti PAH. Za razliko od večine študij, smo v okviru naše raziskave poleg presnovkov pirena, ugotavljali koncentracije urinskih presnovkov tudi nekaterih drugih nizkomolekularnih predstavnikov PAH, in sicer fenantrena, naftalena in fluorena. Pokazali smo, da je osredotočenost v okviru HBM samo na piren nezadostna, saj je bil njegov delež izmed vseh analiziranih presnovkov najmanjši.

Določitev genske občutljivosti, ki smo jih vključili v HBM program, bistveno izboljša moč interpretacije rezultatov notranje izpostavljenosti in posledično prispeva k oceni izpostavljenosti in oceni tveganja. Biomarkerji občutljivosti, ki smo jih vključili v pričujočo raziskavo so le nekateri izmed mnogih možnih. Izbor genov v pričujoči študiji je omejen na tiste, za katere že obstajajo podatki, da lahko vplivajo, bodisi na privzem, prerazporejanje, presnovo in/ali izločanje okoljskih onesnaževal v telesu. Na podlagi rezultatov ugotavljamo, da je nabor biomarkerjev občutljivosti smiselno vključiti tudi v nacionalni program HBM.

Komunikacijske dejavnosti so izvedene na ravni pošiljanja delnih individualnih obvestil o rezultatih posameznim preiskovancem. Ker pričakujemo pridobitev dodatnih rezultatov, kot je navedeno zgoraj, je smiselno te dejavnosti planirati tako, da bo informacija kar se da celostna. Zato bomo dejavnosti sporočanja rezultatov strokovni in laični javnosti izvedli, ko bodo na voljo tudi dodatni rezultati.

8 LITERATURA

- Adeli K., Ceriotti F., & Nieuwesteeg M., (2018). Reference Information for the Clinical Laboratory. V Tietz Textbook of CLINICAL CHEMISTRY and MOLECULAR DIAGNOSTICS (6. izdaja, strani 1745–1818). ZDA, Elsevier Life Science.
- Åkesson, A. in sod., 2014. Non-Renal Effects and the Risk Assessment of Environmental Cadmium Exposure. *Environmental Health Perspectives*, 122, 431-438, DOI: /dx.doi.org/10.1289/ehp.1307110.
- Andra, SS, Makris KC. 2012. Thyroid disrupting chemicals in plastic additives and thyroid health. *Journal of Environmental Science and Health* 30, 107–51, DOI: 10.1080/10590501.2012.681487.
- Apata, M., Arriaza, B., Llop, E., & Moraga, M. (2017). Human adaptation to arsenic in Andean populations of the Atacama Desert. *American Journal of Physical Anthropology*, 163 (1), 192–199. <https://doi.org/10.1002/ajpa.23193>.
- Apel, P., Angerer, J., Wilhelm, M., Kolossa-Gehring, M., 2017. New HBM values for emerging substances, inventory of reference and HBM values in force, and working principles of the German Human Biomonitoring Commission. *Int J Hyg Environ Health*. 220(2 Pt A):152-166. doi: 10.1016/j.ijheh. .2016.09.007.
- Aquilina, N. J., Delgado-Saborit, J. M., Meddings, C., Baker, S., Harrison, R. M., Jacob, P., in sod.. (2010). Environmental and biological monitoring of exposures to PAHs and ETS in the general population. *Environ. Int.* doi:10.1016/j.envint.2010.05.015.
- Arcadis. 2011. Identification and evaluation of data on flame retardants in consumer products. Final report. Brussels: European Commission, Health and Consumers Directorate General.
- ARSO, 2015. Vsebnost svinca v krvi otrok na območju Zgornje Mežiške doline, http://kazalci.arso.gov.si/?data=indicator&ind_id=710.
- ATSDR, 1995. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp69.pdf> [Pridobljeno August 2, 2018].
- ATSDR, 2009. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Case Studies in Environmental Medicine Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). <https://www.atsdr.cdc.gov/csem/pah/docs/pah.pdf> [Pridobljeno August 2, 2018].
- ATSDR, 2013. Hazardous Substance Priority List; <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/>.
- Barcelos GR, Grotto D, de Marco KC, Valentini J, Lengert AV, Oliveira AA, in sod. (2013). Polymorphisms in glutathione-related genes modify mercury concentrations and antioxidant status in subjects environmentally exposed to methylmercury. *Sci Total Environ* 463-464C: 319-325.
- Bartolomé, M., Ramos, J. J., Cutanda, F., Huetos, O., Esteban, M., Ruiz-Moraga, M., in sod.. (2015). Urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites levels in a representative sample of the Spanish adult population: The BIOAMBIENT.ES project. *Chemosphere*. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.12.008.
- Benbrook, C. M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>
- Berglund, M. in sod., 2015. Exposure determinants of cadmium in European mothers and their children. *Environmental research*, 141, 69-76, DOI: 10.1016/j.envres.2014.09.042.
- Bešter in sod. 2013: Prediction of cadmium concentration in selected home-produced vegetables. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 96, 182–190.
- Błądzka Dorota, Gromadzińska Jolanta, Wąsowicz Wojciech (2014). Parabens. From environmental studies to human health. *Environment International* 67, 27-42.
- Boström, C.E., Gerde, P., Hanberg, A., Jernström, B., Johansson, C., Kyrklund, T., Rannug, A., Törnqvist, M., Victorin, K., Westerholm, R. (2002). Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environ Health Perspectives*, 110 (3), 451-88.
- Broberg, K., Engström, K., & Ameer, S. (2015). Gene-Environment Interactions for Metals. In G. F. Nordberg, B. A. Fowler, & M. Nordberg (Eds.), *Handbook on the Toxicology of Metals* (4th ed., pp. 239–264). USA: Elsevier, Academic Press.
- Caldwell, K. L., Jones, R. L., Verdon, C. P., Jarrett, J. M., Caudill, S. P., & Osterloh, J. D. (2009). Levels of urinary total and speciated arsenic in the US population: National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2004.

- Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 19(1), 59–68. <https://doi.org/10.1038/jes.2008.32>
- Campo, L., Polledri, E., Bechtold, P., Gatti, G., Quattrini, G., Olgiati, L., Romolo, M., Ranzi, A., Lauriola, P., Carrozzi, G., Fustinoni, S. (2018). ETS Exposure and PAH Body Burden in Nonsmoking Italian Adults. *Int J Environ Res Public Health*. 15(6): 1156. doi:10.3390/ijerph15061156.
- CDC (2005). Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Atlanta Dostopno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24> [Pridobljeno Avgust 2, 2018].
- CDC (2018). Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, Updated Tables, March 2018.
- Chemical Substances. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). Ottawa, ON: Government of Canada, 2012.
- Chetianukornkul, T., Akira Toriba, A., Ryoichi Kizu, R., Hayakawa, K. (2004). Urinary 2-hydroxyfluorene and 1-hydroxypyrene levels in smokers and nonsmokers in Japan and Thailand, Polycyclic Aromatic Compounds, 24:4-5, 467-474. DOI: 10.1080/10406630490471483.
- Chia SE, Yap E, Chia KS, 2004. d-Aminolevulinic Acid Dehydratase (ALAD) Polymorphism and Susceptibility of Workers Exposed to Inorganic Lead and Its Effects on Neurobehavioral Functions. *Neurotoxicology* 25, 1041-1047.
- Choi J, Aarøe Mørck T, Polcher A, Knudsen LE, Joas A. 2015. Review of the state of the art of human biomonitoring for chemical substances and its application to human exposure assessment for food safety. EFSA supporting publication 2015:EN-724. Dostopno 22.11.2016 na <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2015.EN-724/pdf>.
- Covaci, A. in sod., 2006. Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in the Environment and Humans: A Review. *Environ. Sci. Technol.*, 40, 3679–3688, DOI: 10.1021/es0602492.
- Covaci, A. in sod., 2015. Urinary BPA measurements in children and mothers from six European member states: Overall results and determinants of exposure. *Environmental research*, 141, 77-85, DOI: 10.1016/j.envres.2014.08.008.
- C.-N. Lin in sod. Pediatric reference intervals for serum copper and zinc. *Clinica Chimica Acta* 413 (2012) 612–615.
- Curwin BD, Hein MJ, Sanderson WT, Striley C, Heederik D, Kromhout H, Reynolds SJ, Alavanja MC. Urinary pesticide concentrations among children, mothers and fathers living in farm and non-farm households in Iowa. *Ann Occup Hyg*. 2007a;51(1):53–65
- Česen Marjeta, Lambropoulou Dimitra, Laimou-Geraniou Maria, Kosjek Tina, Blaznik Urška, Heath David, Heath Ester (2016). Determination of Bisphenols and Related Compounds in Honey and Their Migration from Selected Food Contact Materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Den Hond in sod., 2015. First steps toward harmonized Human Biomonitoring in Europe: Demonstration project to perform Human Biomonitoring on a European scale. *Environmental Health Perspectives*, 123 (3), 255-263.
- Ding, Y.S., Trommel, J.S., Yan, X.J., Ashley, D., Watson, C.H. (2005). Determination of 14 polycyclic aromatic hydrocarbons in mainstream smoke from domestic cigarettes *Environ. Sci. Technol.* 39, 471-478.
- ECHA RAC-Committee for Risk Assessment, 2018. Note on reference dose-response relationship for the carcinogenicity of pitch, coal tar, high temperature and on PBT and vPvB properties. Helsinki Dostopno na: https://echa.europa.eu/documents/10162/13637/ctpht_rac_note_en.pdf/a184ee42-0642-7454-2d18-63324688e13d
- Engström, K., Vahter, M., Mlakar, S. J., Concha, G., Nermell, B., & Raqib, R. (2011). Polymorphisms in Arsenic(+III Oxidation State) Methyltransferase. *I82(2)*, 182–188. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002471>.
- EFSA, 2008. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. doi:10.2903/j.efsa.2008.724.
- EPA, 2018. Revised Glyphosate Issue Paper: Evaluation of Carcinogenic Potential. Retrieved October 17, 2019, from <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/draft-human-health-and-ecological-risk-assessments-glyphosate>.
- Eržen I. in sod., 2002. Assessment of dietary intake of cadmium, lead, mercury and nitrates via foods of the plant and animal origin in Slovenia. *Medicinski arhiv*, ISSN 0350-199X, 2002, 56, 2, str. 105-109.

- Eržen I., 2011. An assessment of lead exposure among children attending kindergartens in Celje, *Slovenian Journal of Public Health*, 50:2, 113 – 120.
- Eržen in sod., 2004. Exposure assessment of male recruits in Slovenia to cadmium and lead due to biological monitoring, *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 14:5, 385 – 90.
- European Food Safety Authority, 2009, Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cadmium in food. *The EFSA Journal*, 980, 1-139.
- European Food Safety Authority, 2012. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Emerging and Novel Brominated Flame Retardants (BFRs) in Food. *EFSA J.*, 10, 125, DOI:10.2903/j.efsa.2012.2908.
- European Food Safety Authority, EFSA (2014). The 2011 European Union Report on Pesticide Residues in Food. *EFSA Journal* 2014;12(5):3694, 511 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3694.
- European Food Safety Authority, EFSA (2015), The 2013 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA Journal* 2015;13(3):4038, 169 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4038.
- Fowler, B. A., Chou, S. J., Jones, R. L., Sullivan JR, D. W., & Chen, C. (2015). Arsenic. In G. F. Nordberg, B. A. Fowler, & M. Nordberg (Eds.), *Handbook on the Toxicology of Metals* (4th ed., pp. 581–624). USA: Elsevier, Academic Press.
- Fromme, H. in sod., 2009. Human exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), as evidenced by data from a duplicate diet study, indoor air, house dust, and biomonitoring in Germany, *Environment International*, 35, 1125-1135, DOI: 10.1016/j.envint.2009.07.003.
- Gatti, M. G., Bechtold, P., Campo, L., Barbieri, G., Quattrini, G., Ranzi, A., in sod., 2017. Human biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons and metals in the general population residing near the municipal solid waste incinerator of Modena, Italy. *Chemosphere*. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.07.122.
- Giau, V.V., Bagyinszky, E., An, S.S.A., Kim, S., 2015. Role of apolipoprotein E in neurodegenerative diseases. *Neuropsychiatr Dis Treat* 11, 1723–1737. <https://doi.org/10.2147/NDT.S84266>
- Gill U, Chu I, Ryan JJ in Feely M. 2004. Polybrominated diphenyl ethers: human tissue levels and toxicology. *Rev Environ Contam Toxicol*; 183: 55-97.
- Gillezeau, C., van Gerwen, M., Shaffer, R. M., Rana, I., Zhang, L., Sheppard, L., & Taioli, E. (2019). The evidence of human exposure to glyphosate: a review. *Environmental Health*, 18 (1), 2. <https://doi.org/10.1186/s12940-018-0435-5>.
- Goldinger Daniela M., Demierrea Anne-Laure, Zollerb Otmar, Rupp Heinz, Reinhard Hans, Magnin Roxan, Becker Thomas W., Bourqui-Pitteta Martine. 2015. Endocrine activity of alternatives to BPA found in thermal paper in Switzerland. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 71, 453-462.
- Gosar M. in Šajn R. 2005, Arzen v okolju: vsebnosti v tleh na nekaterih območjih Slovenije, *Geologija* 43/2, 253 – 262.
- Gundacker C, Wittmann KJ, Kukuckova M, in sod., 2009. Genetic background of lead and mercury metabolism in a group of medical students in Austria. *Environ Res* 109, 786-796.
- Hanioka, N., Oka, H., Nagaoka, K., Ikushiro, S., Narimatsu, S., 2011. Effect of UDP-glucuronosyltransferase 2B15 polymorphism on bisphenol A glucuronidation. *Arch Toxicol*. 85, 1373-81
- Harrad, S. in sod., 2010. Indoor contamination with hexabromocyclododecanes, polybrominated diphenyl ethers, and perfluoroalkyl compounds: An important exposure pathway for people? *Environ. Sci. Technol.*, 44, 3221–3231, DOI: 10.1021/es903476t.
- Hata, A., Kurosawa, H., Endo, Y., Yamanaka, K., Fujitani, N., & Endo, G. 2016. A biological indicator of inorganic arsenic exposure using the sum of urinary inorganic arsenic and monomethylarsonic acid concentrations. *Journal of Occupational Health*, 58(2), 196–200. <https://doi.org/10.1539/joh.15-0241-OA>
- Hays SM, Aylward LL., 2009. Using Biomonitoring Equivalents to interpret human biomonitoring data in a public health risk context. *J Appl Toxicol*. 29(4):275-88. doi: 10.1002/jat.1410.
- Health Canada, 2015. Third Report on Human Biomonitoring of Environmental Chemicals in Canada – Results of the Canadian Health Measures Survey Cycle 3298.
- Choi in sod., 2017. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 220, 282–298 (2012–2013), Dostopno na <http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-sem/sem/contaminants/chms-ecms-cycle3/index-eng.php>

- Henderson, A. M., Gervais, J. A., Luukinen, B., Buhl, K., Stone, D., Strid, A., & Cross, A. 2010. Glyphosate Technical Fact Sheet. Pridobljeno Oktober 17, 2019, s spletne strani: National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services: <http://npic.orst.edu/factsheets/archive/glyphotech.html>.
- Herbstman, JB. in sod., 2010. Prenatal exposure to PBDEs and neurodevelopment. *Environ. Health Perspect.*, 118, 712–719, DOI: 10.1289/ehp.0901340.
- Hesketh J in Meplan C, 2011. Transcriptomics and functional genetic polymorphisms as biomarkers of micronutrient function: focus on selenium as an exemplar. *Proc Nutr Soc* 70, 365-373.
- Horvat in sod., 2012. Arsenic: biomarkers and human biomonitoring; V: Issues in Toxicology, Biomarkers and Human Biomonitoring, Volume 1, (ur. L. E. Knudsen, D.F. Merlo), strani 418- 445.
- Horvat in sod. (2012) Mercury: biomarkers and human biomonitoring; V: Issues in Toxicology, Biomarkers and Human Biomonitoring, Volumen 1, (ur. L. E. Knudsen, D.F. Merlo), strani 381-417.
- Horvat M. in sod., 2015. Monitoring kemikalij in njihovih ostankov v ljudeh za leto 2011-2014: zaključno poročilo o rezultatih kemijskih analiz, (IJS delovno poročilo, 11985).
- Hruba in sod., 2012. Blood cadmium, mercury, and lead in children: an international comparison of cities in six European countries, and China, Ecuador, and Morocco. *Environment International*, 41: 29-34.
- Hu, H., Wu, M. T., Cheng, Y., Sparrow, D., Weiss, S., & Kelsey, K., 2001. The delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) polymorphism and bone and blood lead levels in community-exposed men: the Normative Aging Study. *Environmental Health Perspectives*, 109(8), 827–832. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109827>
- Huang PC, Tsai EM, Li WF, Liao PC, Chung MC, Wang YH, Wang SL, 2010. Association between phthalate exposure and glutathione S-transferase M1 polymorphism in adenomyosis, leiomyoma and endometriosis. *Human Reproduction*, 25 (4), 986-994.
- Huang, Y., Mahley, R.W., 2014. Apolipoprotein E: Structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. *Neurobiol Dis* 72, 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.08.025>
- IARC (2002). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. Volume 82. Dostopno na: <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono82.pdf>
- IARC, 2010. Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon. Dostopno na: <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono92.pdf>
- IARC. (2016). Glyphosate. Pridobljeno Oktober 17, 2019, s spletne strani: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, volume 112. Dostopno na: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol112/mono112-10.pdf>.
- International Programme on Chemical Safety, 2004. Environmental Health Criteria 224: ARSENIC AND ARSENIC COMPOUNDS. Retrieved November 14, 2018. Dostopno na: Environmental Health Criteria spletni strani: http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_224/en/
- IPCS, 1998. Selected Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Environmental Health Criteria 202. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva.
- Ivartnik in sod., 2015. Visoke vsebnosti svinca v Zgornji Mežiški dolini, NIJZ.
- Jongeneelen, F. 2001. Benchmark Guideline for Urinary 1-Hydroxypyreneas Biomarker of Occupational Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Ann. occup. Hyg.* 45 (1), 3-13.
- Julvez J in Grandjean P, 2013. Genetic susceptibility to methylmercury developmental neurotoxicity matters. *Front. Neurosci.* 4:278.
- Julvez J, Davey-Smith G, Golding J, Ring S, St. Pourcain B, Gonzalez JR, Grandjean P, 2013. Prenatal methylmercury exposure and genetic predisposition to cognitive deficit at age 8 years. *Epidemiology* 24:643-650.
- Kirinčič, S., 2015. Ocena prehranske izpostavljenosti prebivalcev Slovenije policikličnim aromatskim ogljikovodikom (PAH) s presojo tveganja za zdravje ljudi. Nacionalni inštitut za javno zdravje, Ljubljana.
- Knudsen LE, Hansen PW, Mizrak S, Hansen HK, Morck TA, Nielsen F, Siersma V, Mathiesen L., 2017. Biomonitoring of Danish school children and mothers including biomarkers of PBDE and glyphosate. *Rev Environ Health.* 32(3):279–90

- Kobal in sod., 2008. Glutathione level after long-term occupational elemental mercury exposure. *Environmental research*, 107, 115-123, DOI: 10.1016/j.envres.2007.07.001.
- Koch, H.M., Angerer J., 2012. Phtalates: biomarkers and human biomonitoring. *Issues in Toxicology, Biomarkers and Human Biomonitoring* (ur. L. E. Knudsen, D.F. Merlo), 1, 179- 213, DOI:10.1039/9781849733373-00179.
- Koller, V. J., Fürhacker, M., Nersesyan, A., Mišik, M., Eisenbauer, M., & Knasmueller, S. 2012. Cytotoxic and DNA-damaging properties of glyphosate and Roundup in human-derived buccal epithelial cells. *Archives of Toxicology*, 86(5), 805–813. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0804-8>
- Kranvogel, Roman. Določevanje endokrinih motilcev v urinu z GC/MS in kemometrijska karakterizacija : doktorska disertacija. [Maribor: R. Kranvogel], 2014. XV, 202 str., ilustr. <http://dkum.uni-mb.si/IzpisGradiva.php?id=44544>.
- Krieg, E. F., Butler, M. A., Chang, M., Liu, T., Yesupriya, A., Lindegren, M. Lou, & Dowling, N. (2009). Lead and cognitive function in ALAD genotypes in the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Neurotoxicology and Teratology*, 31(6), 364–371. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2009.08.003>
- Leroyer, A., Jeandel, F., Maitre, A., Howsam, M., Deplanque, D., Mazzuca, M., in sod. 2010. 1-Hydroxypyrene and 3-hydroxybenzo[a]pyrene as biomarkers of exposure to PAH in various environmental exposure situations. *Sci. Total Environ.* 408, 1166–1173. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.10.073.
- Li, Z., Sandau, C.D., Romanoff, L.C., Caudill, S.P., Sjodin, A., Needham, L.L., Patterson, D.G. Jr. (2008). Concentration and profile of 22 urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in the US population. *Environ Res.* 107(3):320-31. doi: 10.1016/j.envres.2008.01.013
- Lu, J., Hu, S., Wang, W., Li, J., Dong, Z., Zhou, J., & Hai, X. 2018. AS3MT Polymorphisms, Arsenic Metabolism, and the Hematological and Biochemical Values in APL Patients Treated with Arsenic Trioxide. *Toxicological Sciences*, 166(1), 219–227. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfy210>
- Lyche JL, Rosseland C, Berge G, Polder A. 2015. Human health risk associated with brominated flame-retardants (BFRs). *Environ Internat* 74: 170-180.
- McDowell, M.A., Dillon, C.F., Osterloh J., Bolger, P.M., Pellizzari, E., Fernando, R., Montes de Oca, R., Schobe, S.E., Sinks, T., Jones, R.L., Mahaffey, K.R., 2004 Hair mercury levels in U.S. children and women of childbearing age: reference range data from NHANES 1999-2000. *Environ Health Perspect.* 112 (11):1165-71. DOI:10.1289/ehp.7046
- McKenzie in sod., 2009, Metals associated with stormwater-relevant brake and tire samples, *Science of The Total Environment*, 407:22, 5855 – 5860.
- Meza-Montenegro, M. M., Kopplin, M. J., Burgess, J. L., in Jay Gandolfi, A. (2008). Urinary arsenic methylation profile in children exposed to low arsenic levels through drinking water. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 90(5), 957–970. <https://doi.org/10.1080/02772240701782140>
- Miyata, M., Smith, J.D., 1996. Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and beta-amyloid peptides. *Nat Genet* 14, 55–61. <https://doi.org/10.1038/ng0996-55>
- Murcray CE, Lewinger JP, Gauderman WJ, 2009. Gene-Environment Interaction in Genome-Wide Association Studies. *American Journal of Epidemiology*, 169 (2), 219-226.
- National Research Council. (2006). *Human Biomonitoring for Environmental Chemicals*. <https://doi.org/10.17226/11700>
- Nethery, E., Wheeler, A. J., Fisher, M., Sjödin, A., Li, Z., Romanoff, L. C., in sod., 2012. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbons as a biomarker of exposure to PAHs in air: A pilot study among pregnant women. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* doi:10.1038/jes.2011.32.
- NIJZ. (2019). Kaj je glifosat in kakšni so njegovi vplivi na zdravje? Retrieved from <https://www.nijz.si/sl/kaj-je-glifosat-in-kaksni-so-njegovi-vplivi-na-zdravje>
- Oliveira, M., Slezakova, K., Delerue-Matos, C., do Carmo Pereira, M., and Morais, S. 2017. Assessment of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in preschool children: Levels and impact of preschool indoor air on excretion of main urinary monohydroxyl metabolites. *J. Hazard. Mater.* doi:10.1016/j.jhazmat.2016.10.004.
- Onalaja AO, Claudio L, 2000. Genetic Susceptibility to Lead Poisoning. *EHP*, 108 (1), 23-28

- Partosch, F., Mielke, H., Gundert-Remy, U., 2013. Functional UDP-glucuronyltransferase 2B15 polymorphism and bisphenol A concentrations in blood: results from physiologically based kinetic modelling. *Archives of Toxicology*. 1-8.
- Perharič L., 2013, Arzen v dolini Kotredeščice, Ocena tveganja za zdravje ljudi, NIJZ.
- Polanska, K., Dettbarn, G., Jurewicz, J., Sobala, W., Magnus, P., Seidel, A., in sod., 2014. Effect of prenatal polycyclic aromatic hydrocarbons exposure on birth outcomes: The polish mother and child cohort study. *Biomed Res. Int.* doi:10.1155/2014/408939.
- Ramesh, A., Walker, S.A., Hood, D.B., Guille, M.D., Schneider, K., Weyand, E.W.H., 2016. Bioavailability and risk assessment of orally ingested PAH. *Int. J. Tox.*, 23, 301-333.
- Richard, S., Moslemi, S., Sipahutar, H., Benachour, N., Seralini, G.-E., 2005. Differential Effects of Glyphosate and Roundup on Human Placental Cells and Aromatase. *Environmental Health Perspectives*, 113 (6), 716–720. <https://doi.org/10.1289/ehp.7728>
- Roberts L., 2014. Cadmium and Phosphorous Fertilizers: *The Issues and the Science*. Procedia Engineering 83, 52-59.
- Santonen, T. in sod., 2019. Human biomonitoring in risk assessment: 2nd set of examples on the use of HBM in risk assessments of HBM4EU priority chemicals Deliverable Report AD 5.5.
- Sarigiannis, D. in sod., 2015. Human biomonitoring: facts and figures. Copenhagen: WHO, XIII, 88.
- Sarigiannis D., Karakitsios S., 2018. Delivery of exposure estimates for the 1st set of prioritised substances based on HBM data Deliverable Report AD 12.5.HBM4EU.
- Schechter A, Papke O, Tung KC in sod., 2005. Polybrominated diphenyl ether flame retardants in the U.S. population: current levels, temporal trends, and comparison with dioxins, dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls. *J Occup Environ Med* 47:199-211.
- Schlawicke Engstrom K, Stromberg U, Lundh T, Johansson I, Vessby B, Hallmans G, in sod., 2008. Genetic variation in glutathione-related genes and body burden of methylmercury. *Environ Health Perspect* 116: 734-739.
- Schlebusch CM, Gattepaille LM, Engstrom K, Vahter M, Jakobsson M, Broberg K (2015). Human adaptation to arsenic-rich environments. *Mol Biol Evol* 32, 1544-1555.
- Schlebusch, C. M., Gattepaille, L. M., Engstrom, K., Vahter, M., Jakobsson, M., Broberg, K., 2015. Human Adaptation to Arsenic-Rich Environments. *Molecular Biology and Evolution*, 1–12. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv046>
- Schlebusch, C. M., Gattepaille, L. M., Engström, K., Vahter, M., Jakobsson, M., Broberg, K., 2015. Human Adaptation to Arsenic-Rich Environments. *Molecular Biology and Evolution*, 32 (6), msv046-. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv046>
- Schoeters, G., Govarts, E., Bruckers, L., Den Hond, E., Nelen, V., De Henauw, S., in sod., 2017. Three cycles of human biomonitoring in Flanders – Time trends observed in the Flemish Environment and Health Study. *Int. J. Hyg. Environ. Health*. doi:10.1016/j.ijheh.2016.11.006.
- Schulz C, Angerer J, Ewewrs U, Heudorf U, Wilhelm M., 2009. Revised and new reference values for environmental pollutants in urine or blood of children in Germany derived from the German Environmental Survey on children 2003-2006 (GERES IV) *Int J Hyg Environ Hlth*, 212: 637-647.
- Schulz, C., Wilhelm, M., Heudorf, U., Kolossa-Gehring, M., 2011. Update of the reference and HBM values derived by the German Human Biomonitoring Commission. *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 215 (1):26-35. doi: 10.1016/j.ijheh.2011.06.007.
- She J, Holden A, Sharp M. 2007. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in breast milk from the Pacific Northwest. *Chemosphere*. 67(9): S307-17.
- Sherry, S. T., Ward, M. H., Kholodov, M., Baker, J., Phan, L., Smigielski, E. M., & Sirotkin, K. (2001). dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Research*, 29(1), 308–311. <https://doi.org/10.1093/nar/29.1.308>
- SIVR Società italiana valori di riferimento. (2011). Fourth list of reference values for elements, organic compounds and their metabolites (Quarta lista dei valori di riferimento per elementi, composti organici e loro metaboliti), accessed on 20 September 2018; Dostopno na spletu: https://www.ars.toscana.it/files/aree_intervento/InVetta/LISTA_SIVR_2011.pdf

- Skerfving, S., in Bergdahl, I., 2015. Lead. V: G. F. Nordberg, G. F. Fowler, M. Nordberg (ur.), *Handbook on the Toxicology of Metals* (4. izdaja., str. 50–62). <https://doi.org/10.1016/C2011-0-07884-5>
- Skröder Löveborn, H., Kippler, M., Lu, Y., Ahmed, S., Kuehnelt, D., Raqib, R., & Vahter, M. (2016). Arsenic metabolism in children differs from that in adults. *Toxicological Sciences*, 152(1), 29–39. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfw060>
- Snoj Tratnik in sod., 2017. Prenatal mercury exposure, neurodevelopment and apolipoprotein E genetic polymorphism. *Environmental Research*, 152: 375-385.
- Snoj Tratnik in sod., 2019. Snaj Tratnik in sod., 2019. Urinary bisphenol A in children, mothers and fathers from Slovenia: Overall results and determinants of exposure. *Environmental Research*, 168: 32-40.
- Sochacka-Tatara, E., Majewska, R., Perera, F.P., Camann, D., Spengler, J., Wheelock, K., Sowa, A., Jacek, R., Mróz, E., Pac, A. 2018. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites among 3-year-old children from Krakow, Poland. *Environ Res.* 164: 212-220. doi: 10.1016/j.envres.2018.02.032.
- Stajniko in sod., 2017. Low cadmium exposure in males and lactating females—estimation of biomarkers., *Environmental Research*, 152: 109 – 119.
- Stajniko, A., Jagodic, M., Krišič, Ž., Mazej, D., Horvat, M., Falnoga, I., 2019. *ALAD SNP rs1805313 frequency distribution and its impact on Pb levels in Slovenian-Croatian population.*
- Stajniko, A., Špirić, Z., BRIŠKI, A. S., Prpić, I., Šlejkovec, Z., Falnoga, I., Mazej, D., in sod., 2019. Arsenic metabolites; selenium; and AS3MT, MTHFR, AQP4, AQP9, SELENOP, INMT, and MT2A polymorphisms in Croatian-Slovenian population from PHIME-CROME study. *Environmental Research*, 170, 301–319. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.11.045>
- Szymanska-Chabowska, A., AczmaSki, Ukasz, Jedrychowska, I., Chabowski, M., GaP., Janus, A., Poreba, R., in sod., 2015. The relationship between selected VDR, HFE and ALAD gene polymorphisms and several basic toxicological parameters among persons occupationally exposed to lead. *Toxicology*, 334, 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2015.05.002>
- Šömen Joksić, A., Louro, H., Costa Gomes, B., João Silva, M., Viegas, S., Kirinčić, S., 2019. HBM4EU: D5.5 Substance-group specific risk assessment for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons – PAHs. April, 2019.
- Taylor, V., Goodale, B., Raab, A., Schwerdtle, T., Reimer, K., Conklin, S., Francesconi, K. in sod., 2017. Human exposure to organic arsenic species from seafood. *Science of the Total Environment*, 580, 266–282. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.113>
- Teeguarden, J.G., Waechter, J.M., Clewell, H.J., Covington, T.R., Barton, H.A., 2005. Evaluation of oral and intravenous route pharmacokinetics, plasma protein binding, and uterine tissue dose metrics of bisphenol A: A physiologically based pharmacokinetic approach. *Toxicol. Sci.* 85, 823–838.
- Toxicological profile for selenium U.S. Department of health and human services. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry September 2003 <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp92.pdf>.
- Tiesjema, B., Mengelers, M., 2017. Biomonitoring of lead and cadmium, Preliminary study on the added value for human exposure and effect assessment, RIVM Letter report 2016-0215. Bilthoven: National Institute for Public Health and the Environment.
- Urbancova, K., Lankova, D., Rossner, P., Rossnerova, A., Svecova, V., Tomaniova, M., in sod.. (2017). Evaluation of 11 polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in urine of Czech mothers and newborns. *Sci. Total Environ.* doi:10.1016/j.scitotenv.2016.10.165
- Vahter, M., 1999. Variation in Human Metabolism of Arsenic. *Arsenic Exposure and Health Effects (III)*, 5(1), 267–279. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-008043648-7/50031-5>
- Vahter, M., & Concha, G., 2001. Role of Metabolism in Arsenic Toxicity. *Pharmacology and Toxicology*, 89(1), 1–5. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0773.2001.d01-128.x>
- Van Eltern in sod., 2002. Speciation of inorganic arsenic in some bottled Slovene mineral waters using HPLC-hGAFS and selective coprecipitation combined with FI-HGAFS, *Water research*, 36:12, 2967- 2974.
- Vorkamp, K. 2012. Brominated flame retardants: biomarkers and human biomonitoring. V: *Issues in Toxicology, Biomarkers and Human Biomonitoring*, 1, (ur. L. E. Knudsen, D.F. Merlo), 288 – 309.
- Vreča, P., Kanduč, T., Šlejkovec, Zdenka Žigon, S., Nagode, K., Močnik, N., Bračič Železnik, Branka Jamnik, Brigita Žitnik, M., 2019. Karakterizacija vodnih virov za javno oskrbo s pitno vodo v Ljubljani s pomočjo različnih

geokemičnih analiz. Dostopno na: http://fgg-web.fgg.uni-lj.si/SUGG/referati/2019/SZGG_2019-Vreca_in_drugi.pdf

Warrington, N. M., Zhu, G., Dy, V., Heath, A. C., Madden, P. A. F., Hemani, G., Whitfield, J. B., in sod., 2015. Genome-wide association study of blood lead shows multiple associations near ALAD. *Human Molecular Genetics*, 24(13), 3871–3879. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv112>

Weissmüller GA, Eckard R, Dobler L, Gonsel A, Oganowski M, Schroter-Kermani C. 2007. The Environmental Specimen Bank for Human Tissues as part of the German Environmental Specimen Bank. *Int J Hyg Environ Hlth*. 210: 299-305.

White, L., Romagné, F., Müller, E., Erlebach, E., Weihmann, A., Parra, G., Castellano, S., 2015. Genetic Adaptation to Levels of Dietary Selenium in Recent Human History. *Molecular Biology and Evolution*, 32(6), 1507–1518. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv043>

WHO (World Health Organisation). 2015. Human biomonitoring: facts and figures. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe. Dostopno 10. 3. 2016 na <http://www.euro.who.int/en/media-centre/events/events/2015/04/ehp-mid-term-review/publications/human-biomonitoring-facts-and-figures>.

Wilhelm, M., Hardt, J., Schulz, C., Angerer, J., 2008. New reference value and the background exposure for the PAH metabolites 1-hydroxypyrene and 1- and 2-naphthol in urine of the general population in Germany: basis for validation of human biomonitoring data in environmental medicine. *Int J Hyg Environ Health*. 211(3-4):447-53.

Woods JS, Heyer NJ, Russo JE, Martin MZ, Pillai PB, Farin FM., 2013. Modification of neurobehavioral effects of mercury by genetic polymorphisms of metallothionein in children. *Neurotoxicol Teratol*. doi:pii: S0892-0362(13)00166-9.

Zhang, Y., Ding, J., Shen, G., Zhong, J., Wang, C., in sod., 2014. Dietary and inhalation exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and urinary excretion of monohydroxy metabolites – a controlled case study in Beijing, China. *Environ Pollut*. 184: 515–522.

7 SEZNAM PRILOG

Priloga 1: Protokol raziskave

Priloga 2: Poročilo o kemikalijah (ftalati, bisfenoli in nonil fenoli, parabeni in triklosan, zaviralci gorenja, (pol)kovine, organofosforni pesticidi) v predmetih splošne rabe in v življenjskem okolju v R Sloveniji

Priloga 3: Soglasje KME

Priloga 4: Komunikacijski material v času rekrutiranja

- Predstavitev za starše
- Vabilo k sodelovanju v raziskavi (slovensko in madžarsko)
- Odgovor na povabilo k sodelovanju v raziskavi (slovensko in madžarsko)
- Obvestilo o zamudi pri začetku vzorčenja

Priloga 5: Dokumenti ob vzorčenju

- Osnovni vprašalnik
- Navodila za zbiranje urina (slovensko in madžarsko)
- Privolitev k sodelovanju (slovensko in madžarsko)
- Vprašalnik o vzorčenju – 1. faza
- Obvestilo o vzorčenju -2. faza z navodili (slovensko in madžarsko)
- Vprašalnik o vzorčenju – 2. faza (slovensko in madžarsko)

Priloga 6: Elektronska verzija rezultatov

Priloga 7: Obdelava podatkov vprašalnikov

Priloga 8: Primer obvestila za preiskovance