ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΕ ΦΘΑΛΙΚΟΥΣ ΕΣΤΕΡΕΣ ΚΑΙ ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ-Α ΣΕ ΕΓΚΥΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΚΑΙ ΝΕΟΓΝΑ

ΚΑΤΣΙΚΑΝΤΑΜΗ ΙΩΑΝΝΑ

Υπεύθυνος Καθηγητής: Ρίζος Απόστολος

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2020

UNIVERSITY OF CRETE

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

Doctoral Thesis

DEVELOPMENT OF BIOMARKERS OF EXPOSURE TO PHTHALATES AND BISPHENOL A IN PREGNANT WOMEN AND NEONATES

KATSIKANTAMI IOANNA

Thesis Supervisor: Rizos Apostolos

HERAKLION 2020

Το έργο συγχρηματοδοτείται από την Ελλάδα και την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού, Εκπαίδευση και Διά Βίου Μάθηση», στο πλαίσιο της Πράξης «Ενίσχυση του ανθρώπινου ερευνητικού δυναμικού μέσω της υλοποίησης διδακτορικής έρευνας» (MIS-5000432), που υλοποιεί το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ).

Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο

Επιχειρησιακό Πρόγραμμα
Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού,
Εκπαίδευση και Διά Βίου Μάθηση
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

ΕΣΠΑ 2014-2020
ανάπτυξη - εργασία - αλληλεγγύη

This research is co-financed by Greece and the European Union (European Social Fund-ESF) through the Operational Programme «Human Resources Development, Education and Lifelong Learning» in the context of the project "Strengthening Human Resources Research Potential via Doctorate Research" (MIS-5000432), implemented by the State Scholarships Foundation (IKY).

Ευρωπαϊκή Ένωση
European Social Fund

Operational Programme
Human Resources Development,
Education and Lifelong Learning
Co-financed by Greece and the European Union

ΕΣΠΑ 2014-2020
ανάπτυξη - εργασία - αλληλεγγύη

Εξεταστική Επιτροπή

Απόστολος Κ. Ρίζος (Επιβλέπων)

Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Αριστείδης Μ. Τσατσάκης (Α' Συνεπιβλέπων)

Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Μανώλης Ν. Τζατζαράκης (Β' Συνεπιβλέπων)

Επίκ. Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Αντώνιος Μακρυγιαννάκης

Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Απόστολος Σπύρος

Αναπ. Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Ελευθερία Χατζηδάκη

Επίκ. Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Μαρία-Ελένη Καμπά

Αναπ. Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΞΕΤΑΣΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Η Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή της Διδακτορικής Διατριβής της κας. Κατσικαντάμη Ιωάννας, η οποία ορίσθηκε στην από 25/11/2019 συνεδρία της Συνέλευσης Τμήματος, συνεδρίασε σήμερα Πέμπτη **16 Ιανουαρίου 2020** να εξετάσει τη διατριβή της υποψήφιας με τίτλο

"Ανάπτυξη βιοδεικτών έκθεσης σε φθαλικούς εστέρες και δισφαινόλη - Α σε έγκυες γυναίκες και νεογνά"

Τα παρόντα μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής εκφράζουν ομόφωνα την πλήρη ικανοποίησή τους για την υψηλή ποιότητα του περιεχομένου και της υποστήριξης της Διατριβής.

Τα Ερευνητικά αποτελέσματα της εργασίας της κας. Κατσικαντάμη Ιωάννας είναι σημαντικά, πρωτότυπα και διευρύνουν το πεδίο της έρευνας στον Τομέα Φυσικοχημείας.

Ως εκ τούτου η Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή προτείνει ομόφωνα την απονομή του Διδακτορικού Διπλώματος στην κυρία Κατσικαντάμη Ιωάννα.

Τα μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής για την Αξιολόγηση της Διδακτορικής Διατριβής της κυρίας Κατσικαντάμη Ιωάννας:

1. Ρίζος Απόστολος (Επιβλέπων)
   Καθηγητής
   Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης
2. Τσατσάκης Αριστείδης
   Καθηγητής
   Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Κρήτης
3. Τζατζαράκης Εμμανουήλ
   Επίκουρος Καθηγητής
   Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Κρήτης
4. Μακρυγιανάκης Αντώνιος
   Καθηγητής
   Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Κρήτης
5. Καμπά Μαρία Ελένη
   Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
   Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Κρήτης
6. Σπύρος Απόστολος
   Αναπληρωτής Καθηγητής
   Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης
7. Χατζηδάκη Ελευθερία
   Επίκουρη Καθηγήτρια
   Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Κρήτης

Τ.Θ.2208, Τ.Κ.71003 Βούτες,
Ηράκλειο, Κρήτη
Tel. +30 2810 545131, 545132, 545133, 545134, 545135, 545136

P.O. BOX 2208, 71003 Voutes,
Heraklion, Crete, Greece
Fax: +30 2810 545166, 545167

e-mail: pantelidaki@chemistry.uoc.gr, nbouranta@chemistry.uoc.gr, tsolis@uoc.gr

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πρωτίστως, θα ήθελα να απονέμω ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή κ. Απόστολο Ρίζο ο οποίος με εμπιστεύτηκε και μου έδωσε την ευκαιρία να εκπονήσω το διδακτορικό μου στο τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης και για την καθοδήγηση και στήριξη που μου παρείχε σε όλες τις δυσκολίες και δοκιμασίες που αντιμετωπίσαμε αυτά τα 4 χρόνια. Ευχαριστώ τον καθηγητή και διευθυντή του εργαστηρίου Τοξικολογίας της Ιατρικής Σχολής κ. Αριστείδη Τσατσάκη για την παροχή της υλικοτεχνικής υποδομής για την διεξαγωγή των πειραμάτων, για την ενσωμάτωσή μου στην ερευνητική του ομάδα, τις αρμοδιότητες και ευθύνες που μου ανέθεσε από τις οποίες απέκτησα γνώσεις και δεξιότητες που ήταν ουσιαστικές και πολύτιμες. Ευχαριστώ θερμά τον καθηγητή κ. Μανώλη Τζατζαράκη για τον χρόνο που αφιέρωσε στην έρευνά μου καθώς η βοήθειά του ήταν καθοριστική τόσο για την ολοκλήρωση των πειραμάτων όσο και τη συγγραφή των αποτελεσμάτων, μα κυρίως τον ευχαριστώ για την ηθική και ψυχολογική υποστήριξη, την υπομονή και ψυχραιμία που έδειχνε όταν με πλημμύριζε απελπισία και απογοήτευση. Ευχαριστώ όλους τους καθηγητές μου για το συνεχές ενδιαφέρον τους, την κατανόηση και την ευγένειά τους, το σεβασμό και την εμπιστοσύνη που έδειξαν στο έργο μου.

Ευχαριστώ τον Δρ. Αθανάσιο Αλεγκάκη για τη συνεργασία μας και το χρόνο που αφιέρωσε για τη σύνταξη των ερωτηματολογίων, τη στατιστική επεξεργασία και παρουσίαση των αποτελεσμάτων. Ευχαριστώ την Βασιλική Καρζή με την οποία συνεργάστηκα στα πλαίσια του μεταπτυχιακού της για την οργάνωση της έρευνας, τη δειγματοληψία και το πειραματικό μέρος, την Αθηνά Σταυρουλάκη η οποία εκπόνησε την πτυχιακή της συνεισφέροντας στην ανάλυση των δειγμάτων τρίχας και τέλος την Έλενα Βακωνάκη και όλα τα μέλη της ομάδας του εργαστηρίου Τοξικολογίας καθώς έλαβα πολύτιμες συμβουλές μέσα από τις συζητήσεις και την επικοινωνία που είχαμε.

Ευχαριστώ τον γιατρό μαιευτήρα-γυναικολόγο Δρ. Σταύρο Σηφάκη και τους συνεργάτες του για τη συμβολή τους στη συλλογή των δειγμάτων, την επικοινωνία με τις συμμετέχουσες στην έρευνα και την άψογη συνεργασία μας.

Ευχαριστούμε τις έγκυες γυναίκες που αντιμετώπισαν με ενδιαφέρον το εγχείρημά μας και με χαρά δέχτηκαν να συμμετάσχουν στην έρευνα.

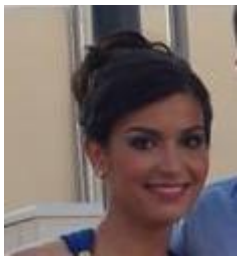
Ευχαριστώ το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ) για την χορήγηση της υποτροφίας στα πλαίδια προγράμματος του ΕΣΠΑ για την υλοποίηση της έρευνας, η οποία ήταν πολύτιμη και απαραίτητη με δεδομένες τις οικονομικές δυσκολίες της εποχής.

Κλείνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον σύζυγό μου Γιώργο για την κατανόηση που έδειξε για το χρόνο που έκλεψα για να ασχοληθώ με τη διατριβή. Τον ευχαριστώ για την υπομονή και την προσπάθεια που έκανε να καταλάβει ένα χώρο άγνωστο για αυτόν που ωστόσο κατόρθωσε να κατανοήσει και εν τέλει να με συμβουλεύσει.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Ιωάννα Κατσικαντάμη του Νικολάου



Εμπάρου 25, Γιοφυράκια, Τ.Κ. 70013, Ηράκλειο Κρήτης

+30 6989296448

ioannakatsikadami@gmail.com

Φύλο Θήλυ | Ημερομηνία γέννησης 20/12/1990 | Εθνικότητα Ελληνική

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑ

ΧΗΜΙΚΟΣ, MSc, Υποψήφια Διδάκτωρ

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

2015-2019

Υποψήφια Διδάκτωρ

Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας , Τ.Κ 71003, Ηράκλειο Κρήτης – Ελλάδα,
Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Τοξικολογίας και Εγκληματολογικής Χημείας, ΤΚ 71003, Ηράκλειο Κρήτης – Ελλάδα

- Τίτλος ερευνητικής Εργασίας: «Ανάπτυξη βιοδεικτών έκθεσης σε φθαλικούς εστέρες και δισφαινόλη-Α σε έγκυες γυναίκες και νεογνά».
- Ανάλυση βιολογικών δειγμάτων (ούρα, αμνιακό υγρό, τρίχα κεφαλής) για τον προσδιορισμό πλαστικοποιητών οι οποίοι φέρουν τοξικότητα για τον άνθρωπο.
- Ανάπτυξη αναλυτικής μεθοδολογίας η οποία περιλαμβάνει εκχύλιση και ανίχνευση με σύστημα υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρία μάζας (LC-MS).

Νοέμβριος 2013 – Φεβρουάριος 2015

Πρόγραμμα Οινολογικής Κατάρτισης

Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας , Τ.Κ 71003, Ηράκλειο Κρήτης – Ελλάδα,
www.chemistry.uoc.gr
http://eilotas.chemistry.uoc.gr/uocchem/images/WordPdf/scan_EEX_Oinologia.pdf

Νοέμβριος 2012 – Δεκέμβριος 2014

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης Άριστα (9,25)

Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας σε συνεργασία με το Τμήμα Χημικών Μηχανικών Πανεπιστημίου Πατρών

- Τίτλος Ερευνητικής Εργασίας: «Προσδιορισμός φθαλικών εστέρων σε πόσιμα ύδατα»
- Ανάλυση δειγμάτων εμφιαλωμένου νερού και νερού δικτύου για τον προσδιορισμό πλαστικοποιητών οι οποίοι φέρουν τοξικότητα για τον άνθρωπο.
- Ανάπτυξη αναλυτικής μεθοδολογίας η οποία περιλαμβάνει υγρή-υγρή εκχύλιση και ανίχνευση με σύστημα αέριας χρωματογραφίας – φασματομετρίας μάζας (GC-MS).

Μάιος 2012 — Επικεφαλής Επιθεωρητής Συστημάτων Διαχείρισης Περιβάλλοντος ISO 14001:2004

Σεπτέμβριος 2008 – Σεπτέμβριος 2012 — Πτυχίο Χημείας — Λίαν Καλώς (7,47)

Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας , Τ.Κ 71003, Ηράκλειο Κρήτης – Ελλάδα, www.chemistry.uoc.gr

Ιανουάριος 2012 – Σεπτέμβριος 2012 — Διπλωματική Εργασία — Άριστα (10,00)

Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας , Τ.Κ 71003, Ηράκλειο Κρήτης – Ελλάδα, www.chemistry.uoc.gr

- Τίτλος Διατριβής: «Προσδιορισμός χλωρικών ιόντων στο νερό με χρήση ιοντικής χρωματογραφίας»
- Ανάλυση δειγμάτων νερού για τον προσδιορισμό παραπροϊόντων απολύμανσης με χλώριο.

ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΟ ΕΡΓΟ & ΠΡΑΚΤΙΚΗ

Χειμερινό Ακαδημαϊκό Εξάμηνο 2015-2016 — Προπτυχιακό Εργαστήριο Φυσικοχημείας Ι

Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας , Τ.Κ 71003, Ηράκλειο Κρήτης – Ελλάδα, www.chemistry.uoc.gr

Υπεύθυνη για την διεξαγωγή του πειράματος «Φασματοσκοπία Ατομικής Εκπομπής» σε προπτυχιακούς φοιτητές.

Εαρινό Ακαδημαϊκό Εξάμηνο 2015-2016 — Προπτυχιακό Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας Ι

Εαρινό Ακαδημαϊκό Εξάμηνο 2012-2013

Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας , Τ.Κ 71003, Ηράκλειο Κρήτης – Ελλάδα, www.chemistry.uoc.gr

Υπεύθυνη για την διεξαγωγή των παρακάτω αναλύσεων από προπτυχιακούς φοιτητές:

- Ανάλυση κρασιού (Σάκχαρα, Ποσοστό Αιθανόλης, Ελεύθερο και Ολικό Θειώδες, Ολική Οξύτητα, pH)
- Ανάλυση ελαιολάδου (Αριθμός Υπεροξειδίων, Φασματομετρικός προσδιορισμός των K232, K270, ΔK και R)
- Ανάλυση κρασιού (Σάκχαρα, Ποσοστό Αιθανόλης, Ελεύθερο και Ολικό Θειώδες, Ολική Οξύτητα, pH)

Χειμερινό Ακαδημαϊκό Εξάμηνο 2013-2014

Προπτυχιακό Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας ΙΙ

Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας , Τ.Κ 71003, Ηράκλειο Κρήτης – Ελλάδα, www.chemistry.uoc.gr

Υπεύθυνη για την διεξαγωγή των παρακάτω αναλύσεων από προπτυχιακούς φοιτητές:

- Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός κατιόντων νατρίου, καλίου, αμμωνίου, μαγνησίου και ασβεστίου σε δείγματα νερού με Ιοντική Χρωματογραφία.

Ιούλιος 2011 – Σεπτέμβριος 2011

Πρακτική Άσκηση

Άριστα (9,50)

Γενικό Χημείο του Κράτους – Χημική Υπηρεσία Ηρακλείου. Επιμενίδου 19, Τ.Κ 71202, Ηράκλειο Κρήτης

- Χημικές αναλύσεις στο νερό (Σκληρότητα, Χλωριόντα, Αγωγιμότητα)
- Χημικές αναλύσεις σε έλαια (Οξύτητα, Αριθμός Υπεροξειδίων, Φασματομετρικός προσδιορισμός των K232, K270 και ΔK, Σύσταση τριγλυκεριδίων σε ECN-42, Εστέρες λιπαρών οξέων και κηροί)
- Χημικές αναλύσεις σε αλκοολούχα ποτά και αναψυκτικά (Μέτρηση αλκοολικού βαθμού, Προσδιορισμός σακχάρων, Ολικό θειώδες, Προσδιορισμός υδατοδιαλυτών χρωστικών)
- Χημικές αναλύσεις σε τρόφιμα (Προσδιορισμός συντηρητικών, Υδατοδιαλυτών χρωστικών, Ολικό πτητικό άζωτο)
- Χημικές αναλύσεις στο μέλι (Υγρασία-αγωγιμότητα, Οξύτητα, Προσδιορισμός ενεργότητας διαστάσης, Προσδιορισμός της Υδροξυ-μεθυλο-φουρφουράλη-HMF, Γυρεοσκοπική εξέταση)

Μητρική γλώσσα Ελληνική

Λοιπές γλώσσες Αγγλική

Certificate of Proficiency in English του Πανεπιστημίου Michigan (C2)

Αναγνωρισμένος κριτής άρθρων σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά

Food And Chemical Toxicology, ELSEVIER
Toxicology Reports, ELSEVIER

Διδακτορική Υπότροφος του ΙΚΥ

Πρόγραμμα υποτροφιών με τίτλο: «ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ» (ΕΠ ΑΝΑΔΕΔΒΜ / ΕΣΠΑ 2014-2020) από πόρους του επιχειρησιακού προγράμματος «Ανάπτυξη του Ανθρώπινου Δυναμικού, Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση», 2014-2020 με τη συγχρηματοδότηση του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου (Ε.Κ.Τ.) και του Ελληνικού Δημοσίου».

Σεμινάρια

1. «Ιοντική Χρωματογραφία (Ion Chromatography, IC) – Ιοντική χρωματογραφία Υψηλής πίεσης (High Pressure IC) – Τριχοειδής Ιοντική χρωματογραφία (Capillary IC)», ThermoFisherScientific / Dionex, 2013
2. «Αέρια Χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (Gas Chromatography/Mass Spectrometry, GC/MS)», Ένωση Ελλήνων Χημικών, Ηράκλειο.
3. Πιστοποιητικό Επιμόρφωσης «Διαγνωστικές και θεραπευτικές προσεγγίσεις του 21ου αιώνα στην αναλυτική, εγκληματολογική και περιβαλλοντική Τοξικολογία» στα πλαίσια του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση», 2014-2015.
4. Διαπίστευση εργαστηρίων σύμφωνα με το πρότυπο *ISO/IEC 17025*. Ένωση Ελλήνων Χημικών, Χανιά 2016.
5. «Ασφάλεια Εργαστηρίου ΙΜΒΒ-ΙΤΕ» Ενότητες: 1) Πυρασφάλεια – Ασφαλείς συνθήκες στους Εργαστηριακούς χώρους 2) Ασφαλής Χρήση Χημικών 3) Θέματα Ασφαλείας σε πειράματα με Ζωντανούς Οργανισμούς. Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας, Ηράκλειο 2017.

Συμμετοχές σε Συνέδρια

1. **Katsikantami, I.**, Karzi, V., Tzatzarakis, M., Sifakis, S., Xezonaki, P., Rizos, A., Tsatsakis, A. (2019). Biomonitoring of phthalate metabolites in urine from pregnant women in Crete, Greece. Toxicology Letters 314S1 (2019) S1–S309. 55th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2019). 8th -11th September 2019, Helsinki, Finland. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.09.002
2. Karzi, V., **Katsikantami, I.**, Tzatzarakis, M., Vakonaki, E., Iatrou, E., Stavroulaki, A., Xezonaki, P., Sifakis, S., Rizos, A., Tsatsakis, A. (2019). Prenatal exposure to parabens and triclosan and assessment of possible health impacts. Toxicology Letters 314S1 (2019) S1–S309. 55th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2019). 8th -11th September 2019, Helsinki, Finland. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.09.002

3. **Katsikantami I**, Tzatzarakis, Alegakis A.K., Vakonaki E., Stratidakis A., Tsatsakis A.M. (2018). Toxicological aspects of human exposure to organophosphorus pesticides. 6th International Conference on Industrial & Hazardous Waste Management, 4th-7th September 2018, Chania, Crete, Greece.

4. **Katsikantami I.**, Tsatsakis A.M., Tzatzarakis M.N., Alegakis A.K., Kavvalakis M., Vakonaki E. (2018). Biomonitoring and effects on health and the environment from exposure to pesticides in Crete. Oral presentation in the Workshop "Environmental morbidity", 6th International Conference on Industrial & Hazardous Waste Management, 4th-7th September 2018, Chania, Crete, Greece.

5. **Katsikantami I**, Karzi V., Tzatzarakis MN, Xezonaki P, Vakonaki E, Rizos A, Izotov B, Burykina T, Tsatsakis AM. (2018). Biomonitoring of phthalate metabolites and bisphenols in amniotic fluid from pregnant women in Greece. 54th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2018), 2-5 September, Brussels. Toxicology Letters, 295(2018), S138. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.06.714

6. Karzi V., **Katsikantami I.**, Tzatzarakis MN, Vakonaki E., Xezonaki P., Stratidakis A., Iliaki E., Sifakis S., Rizos A., Tsatsakis AM. (2018). Monitoring of Triclosan and Parabens in amniotic fluid. 54th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2018), 2-5 September, Brussels. Toxicology Letters, 295(2018), S88. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.06.569

7. **Katsikantami I**, Alegakis AK, Vakonaki E, Tsatsakis AM. (2018). The need for biological monitoring and new promising methods, IUTOX, CTDC 10, SCT 12. April 18-21, 2018. Belgrade, Serbia. http://www.ctdc10.rs/wp-content/uploads/2018/04/CTDC10-Final-Programme.pdf

8. Tsatsakis AM., Tzatzarakis MN, **Katsikantami I.**, Karzi V., Vardavas A. (2017). Biomonitoring and effects on health and the environment from exposure to pesticides in recent years in Crete. Oral presentation in 30 years of the School of Social Sciences of the University of Crete , "Crete in the 21st century", 1-2 December 2017, Rethymno, Crete.

9. **Katsikantami I**, Karzi V, Tzatzarakis M, Vakonaki E, Stavroulaki A, Xezonaki P, Sifakis S, Tsatsakis AM, Rizos A. (2017) Phenolic endocrine disruptors' concentration levels in hair of Greek pregnant women**.** 53rd Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2017), 10-13 September, Bratislava, Slovak.

10. Tzatzarakis M, **Katsikantami I**, Vakonaki E, Karzi V, Kavvalakis M, Chatzinikolaou A, Tsakiris I, Tsatsakis A, Rizos A. (2017) Monitoring of pesticide residues in apples from the Greek market. 53rd Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2017), 10-13 September, Bratislava, Slovak.

11. Tzatzarakis, M. N., Karzi, V., Vakonaki, E., **Katsikantami, I.**, Kiriakakis, M., Tsakiris, I., … Tsatsakis, A. M. (2016). Endocrine disruptor compound's levels in hair of Greek children. 52nd Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2016) Fibes Congress Center Seville, Spain, 04th-07th September 2016. Toxicology Letters, 258 (2016), S78. http://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.06.1361

12. **Katsikantami I**, Tzatzarakis MN, Vakonaki E, Tsatsakis AM. Advances of biomonitoring in environmental and lifestyle pollutants. International Workshop "Biotechnology of new materials-Environment Quality of Life. International conference including school of young scientitsts, 10-14 October, 2016, Kpachorpck, Russia. http://biotech.sfu-kras.ru/files/459_Programma_konferencii.pdf

13. **Katsikantami I**, Tzatzarakis MN, Sifakis S, Vakonaki E, Kalantzi OI, Tsatsakis AM, Rizos AK. An overview of the worldwide annual trend of children's exposure to phthalates. International conference «Hygiene, toxicology, professional pathology: traditions and modernity», dedicated to 125 anniversary of the Federal Scientific Centre of Hygiene named after F.F. Erisman.**,** November 9-10, 2016, Moscow.

14. Tzatzarakis MN, Vakonaki E, Karzi V, **Katsikantami I**, Kavvalakis M, Rizos AK, Tsatsakis AM. Levels of Bisphenol A and Triclosan in head hair samples of Greek adults and children. International conference «Hygiene, toxicology, professional pathology: traditions and modernity», dedicated to 125 anniversary of the Federal Scientific Centre of Hygiene named after F.F. Erisman., November 9-10, 2016, Moscow.

Δημοσιεύσεις σε ερευνητικά περιοδικά

1. **Katsikantami I.,** Tzatzarakis, MN, Karzi, V, Stavroulaki, A, Xezonaki, P, Vakonaki, E, Alegakis, AK, Sifakis, S, Rizos, AK, Tsatsakis, AM. Biomonitoring of bisphenol A and S and phthalate metabolites in hair from pregnant women in Crete. Science of the Total Environment. (Accepted November 2019) https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135651

2. Karzi, V., Tzatzarakis, M., **Katsikantami, I.**, Stavroulaki, A., Alegakis, A., Vakonaki, E., Xezonaki, P., Sifakis, S., Rizos, A., Tsatsakis, A. (2019). Investigating exposure to endocrine disruptors via hair analysis of pregnant women. Environmental Research, 178, 108692. https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108692

3. Tsatsakis, A. M., **Katsikantami, I.**, Kalantzi, O.-I., Sevim,

Ç., Tsarouhas, K., Sarigiannis, D., … Rizos, A. K. (2018). Phthalates: Exposure and Health Effects. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11434-4

4. **Katsikantami, I.**, Colosio, C., Alegakis, A., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Rizos, A. K., Sarigiannis, D. A., Tsatsakis, A. M. (2019). Estimation of daily intake and risk assessment of organophosphorus pesticides based on biomonitoring data – The internal exposure approach. Food and Chemical Toxicology, 123, 57–71. https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.10.047

5. Karzi V., Tzatzarakis M.N., Vakonaki E., Alegakis A., **Katsikantami I.**, Rizos A., Tsatsakis A.M. (2018). Biomonitoring of bisphenol A, triclosan and perfluorooctanoic acid in hair samples of children and adults. Journal of Applied Toxicology 2018; 1-9 https://doi.org/10.1002/jat.3627

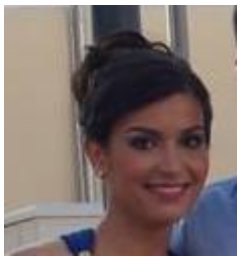
6. Vakonaki, E., Tsiminikaki, K., Plaitis, S., Fragkiadaki, P., Tsoukalas, D., **Katsikantami, I.**, Vaki, G., Tzatzarakis, M.N., Spandidos, D.A., & Tsatsakis, A. (2018). Common mental disorders and association with telomere length (Review). Biomedical Reports, (22), 111–116. https://doi.org/10.3892/br.2018.1040

7. **Katsikantami, I.,** Kavvalakis, M. P., Tzatzarakis, M. N., Nosyrev, A. E., Vakonaki, E., & Tsatsakis, A. M. (2017). Advances on Biomonitoring of Organophosphorus and Organochlorine Pesticides Достижения в области биомониторинга фосфорорганических и хлорорганических пестицидов. Journal of Siberian Federal University. Biology, 10(2), 153–170. https://doi.org/10.17516/1997-1389-0019.

8. **Katsikantami, I.**, Sifakis, S., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Kalantzi, O.-I., Tsatsakis, A. M., & Rizos, A. K. (2016). A global assessment of phthalates burden and related links to health effects. Environment International, 97, 212–236. http://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.013

CURICULUM VITAE

PERSONAL INFORMATION Ioanna Katsikantami



25, Emparou Street, Heraklion, 70013, Greece

+30 6989296448

ioannakatsikadami@gmail.com

Sex Female | Date of birth 20/12/1990 | Nationality Greek

CURRENT POSITION Chemist, MSc, PhD Candidate

EDUCATION AND TRAINING

2015-2019 PhD Candidate

University of Crete, Faculty of Science and Technology, Department of Chemistry, GR-71003, Heraklion, Crete-Greece, www.chemistry.uoc.gr

- Development of biomarkers for exposure to phthalates and bisphenol A in pregnant women and neonates
- Analysis of hair samples, urine, amniotic fluid from pregnant women using liquid chromatography-mass spectrometry

June 2016 Training in ISO/IEC 17025:2005

November 2013 –February 2015 Oenology Training Program

University of Crete, Faculty of Science and Technology, Department of Chemistry, GR-71003, Heraklion, Crete-Greece, www.chemistry.uoc.gr

November 2012 – December 2014 Master of Science Degree

University of Crete, Faculty of Science and Technology, Department of Chemistry in cooperation with Department of Chemical Engineering of the University of Patras

- Sciences and environmental engineering
- Determination of phthalates in potable water from Crete using gas chromatography-mass spectrometry

May 2012 Environmental Management ISO 14001:2004

2008-2012 BSc in Chemistry

University of Crete, Faculty of Science and Technology, Department of Chemistry, GR-71003, Heraklion, Crete-Greece, www.chemistry.uoc.gr

Mother tongue(s) Greek

Other language(s) English

Certificate of Proficiency in English, University of Michigan (C2)
Levels: A1/A2: Basic user - B1/B2: Independent user - C1/C2 Proficient user
Common European Framework of Reference for Languages

Grants and Certifications

Scholarship from IKY (2016-2019): Scholarship Program entitled "STRENGTHENING THE HUMAN RESEARCH POTENTIAL THROUGH THE DOCTORAL RESEARCH INSTRUMENT" (CSA / ESA 2014-2020)

Certified Reviewer in international peer-reviewed journals

- Food and Chemical Toxicology, Elsevier
- Toxicology Reports, Elsevier

Seminars

1. "Laboratory Safety", IMBB-FORTH. Modules: 1) Fire Safety - Safe Conditions in Laboratory Areas 2) Safe Use of Chemicals 3) Safety Issues in Experiments with Living Organisms.
2. Training Certificate "Diagnostic and Therapeutic Approaches of the 21st Century in Analytical, Forensic and Environmental Toxicology" within the framework of the Operational Program "Education and Lifelong Learning", 2014-2015.
3. "Ion chromatography (IC), High Pressure Ion Chromatography, Capillary Ion Chromatography", ThermoFisherScientific / Dionex, 2013
4. "Gas Chromatography/Mass Spectrometry, GC/MS".

Conferences

1. **Katsikantami, I.**, Karzi, V., Tzatzarakis, M., Sifakis, S., Xezonaki, P., Rizos, A., Tsatsakis, A. (2019). Biomonitoring of phthalate metabolites in urine from pregnant women in Crete, Greece. Toxicology Letters 314S1 (2019) S1–S309. 55th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2019). 8th - 11th September 2019, Helsinki, Finland. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.09.002
2. Karzi, V., **Katsikantami, I.,** Tzatzarakis, M., Vakonaki, E., Iatrou, E., Stavroulaki, A., Xezonaki, P., Sifakis, S., Rizos, A., Tsatsakis, A. (2019). Prenatal exposure to parabens and triclosan and assessment of possible health impacts. Toxicology Letters 314S1 (2019) S1–S309. 55th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2019). 8th -11th September 2019,

Helsinki, Finland. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.09.002

3. **Katsikantami I**, Tzatzarakis, Alegakis A.K., Vakonaki E., Stratidakis A., Tsatsakis A.M. (2018). Toxicological aspects of human exposure to organophosphorus pesticides. 6th International Conference on Industrial & Hazardous Waste Management, 4th-7th September 2018, Chania, Crete, Greece.

4. **Katsikantami I.**, Tsatsakis A.M., Tzatzarakis M.N., Alegakis A.K., Kavvalakis M., Vakonaki E. (2018). Biomonitoring and effects on health and the environment from exposure to pesticides in Crete. Oral presentation in the Workshop "Environmental morbidity", 6th International Conference on Industrial & Hazardous Waste Management, 4th-7th September 2018, Chania, Crete, Greece.

5. **Katsikantami I**, Karzi V., Tzatzarakis MN, Xezonaki P, Vakonaki E, Rizos A, Izotov B, Burykina T, Tsatsakis AM. (2018). Biomonitoring of phthalate metabolites and bisphenols in amniotic fluid from pregnant women in Greece. 54th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2018), 2-5 September, Brussels. Toxicology Letters, 295(2018), S138. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.06.714

6. Karzi V., **Katsikantami I.**, Tzatzarakis MN, Vakonaki E., Xezonaki P., Stratidakis A., Iliaki E., Sifakis S., Rizos A., Tsatsakis AM. (2018). Monitoring of Triclosan and Parabens in amniotic fluid. 54th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2018), 2-5 September, Brussels. Toxicology Letters, 295(2018), S88. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.06.569

7. **Katsikantami I**, Alegakis AK, Vakonaki E, Tsatsakis AM. (2018). The need for biological monitoring and new promising methods, IUTOX, CTDC 10, SCT 12. April 18-21, 2018. Belgrade, Serbia. http://www.ctdc10.rs/wp-content/uploads/2018/04/CTDC10-Final-Programme.pdf

8. Tsatsakis AM., Tzatzarakis MN, **Katsikantami I.**, Karzi V., Vardavas A. (2017). Biomonitoring and effects on health and the environment from exposure to pesticides in recent years in Crete. Oral presentation in 30 years of the School of Social Sciences of the University of Crete , "Crete in the 21st century", 1-2 December 2017, Rethymno, Crete.

9. **Katsikantami I**, Karzi V, Tzatzarakis M, Vakonaki E, Stavroulaki A, Xezonaki P, Sifakis S, Tsatsakis AM, Rizos A. (2017) Phenolic endocrine disruptors' concentration levels in hair of Greek pregnant women**.** 53rd Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2017), 10-13 September, Bratislava, Slovak.

10. Tzatzarakis M, **Katsikantami I**, Vakonaki E, Karzi V, Kavvalakis M, Chatzinikolaou A, Tsakiris I, Tsatsakis A, Rizos A.

(2017) Monitoring of pesticide residues in apples from the Greek market. 53rd Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2017), 10-13 September, Bratislava, Slovak.

11. Tzatzarakis, M. N., Karzi, V., Vakonaki, E., **Katsikantami, I.**, Kiriakakis, M., Tsakiris, I., ... Tsatsakis, A. M. (2016). Endocrine disruptor compound's levels in hair of Greek children. 52nd Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2016) Fibes Congress Center Seville, Spain, 04th-07th September 2016. Toxicology Letters, 258 (2016), S78. http://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.06.1361

12. **Katsikantami I**, Tzatzarakis MN, Vakonaki E, Tsatsakis AM. Advances of biomonitoring in environmental and lifestyle pollutants. International Workshop "Biotechnology of new materials-Environment Quality of Life. International conference including school of young scientitsts, 10-14 October, 2016, Kpachorpck, Russia. http://biotech.sfu-kras.ru/files/459_Programma_konferencii.pdf

13. **Katsikantami I**, Tzatzarakis MN, Sifakis S, Vakonaki E, Kalantzi OI, Tsatsakis AM, Rizos AK. An overview of the worldwide annual trend of children's exposure to phthalates. International conference «Hygiene, toxicology, professional pathology: traditions and modernity», dedicated to 125 anniversary of the Federal Scientific Centre of Hygiene named after F.F. Erisman.**,** November 9-10, 2016, Moscow.

14. Tzatzarakis MN, Vakonaki E, Karzi V, **Katsikantami I**, Kavvalakis M, Rizos AK, Tsatsakis AM. Levels of Bisphenol A and Triclosan in head hair samples of Greek adults and children. International conference «Hygiene, toxicology, professional pathology: traditions and modernity», dedicated to 125 anniversary of the Federal Scientific Centre of Hygiene named after F.F. Erisman., November 9-10, 2016, Moscow.

Publications in peer-reviewed journals

1. **Katsikantami I.,** Tzatzarakis, MN, Karzi, V, Stavroulaki, A, Xezonaki, P, Vakonaki, E, Alegakis, AK, Sifakis, S, Rizos, AK, Tsatsakis, AM. Biomonitoring of bisphenol A and S and phthalate metabolites in hair from pregnant women in Crete. Science of the Total Environment. (Accepted November 2019) https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135651

2. Karzi, V., Tzatzarakis, M., **Katsikantami, I.**,

Stavroulaki, A., Alegakis, A., Vakonaki, E., Xezonaki, P., Sifakis, S., Rizos, A., Tsatsakis, A. (2019). Investigating exposure to endocrine disruptors via hair analysis of pregnant women. Environmental Research, 178, 108692. https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108692

3. Tsatsakis, A. M., **Katsikantami, I.**, Kalantzi, O.-I., Sevim, Ç., Tsarouhas, K., Sarigiannis, D., … Rizos, A. K. (2018). Phthalates: Exposure and Health Effects. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11434-4

4. **Katsikantami, I.**, Colosio, C., Alegakis, A., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Rizos, A. K., Sarigiannis, D. A., Tsatsakis, A. M. (2019). Estimation of daily intake and risk assessment of organophosphorus pesticides based on biomonitoring data – The internal exposure approach. Food and Chemical Toxicology, 123, 57–71. https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.10.047

5. Karzi V., Tzatzarakis M.N., Vakonaki E., Alegakis A., **Katsikantami I.**, Rizos A., Tsatsakis A.M. (2018). Biomonitoring of bisphenol A, triclosan and perfluorooctanoic acid in hair samples of children and adults. Journal of Applied Toxicology 2018; 1-9 https://doi.org/10.1002/jat.3627

6. Vakonaki, E., Tsiminikaki, K., Plaitis, S., Fragkiadaki, P., Tsoukalas, D., **Katsikantami, I.**, Vaki, G., Tzatzarakis, M.N., Spandidos, D.A., & Tsatsakis, A. (2018). Common mental disorders and association with telomere length (Review). Biomedical Reports, (22), 111–116. https://doi.org/10.3892/br.2018.1040

7. **Katsikantami, I.,** Kavvalakis, M. P., Tzatzarakis, M. N., Nosyrev, A. E., Vakonaki, E., & Tsatsakis, A. M. (2017). Advances on Biomonitoring of Organophosphorus and Organochlorine Pesticides Достижения в области биомониторинга фосфорорганических и хлорорганических пестицидов. Journal of Siberian Federal University. Biology, 10(2), 153–170. https://doi.org/10.17516/1997-1389-0019.

8. **Katsikantami, I.**, Sifakis, S., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Kalantzi, O.-I., Tsatsakis, A. M., & Rizos, A. K. (2016). A global assessment of phthalates burden and related links to health effects. Environment International, 97, 212–236. http://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.013

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι φθαλικοί εστέρες και η δισφαινόλη-Α (BPA) χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία ως πλαστικοποιητές και πρόσθετα σε ποικίλα προϊόντα ευρείας χρήσης και έχουν χαρακτηριστεί ως ουσίες με ενδοκρινική δράση. Ο άνθρωπος εκτίθεται πολλαπλά μέσω της καθημερινής χρήσης των προϊόντων αυτών και οι ουσίες εισέρχονται στον οργανισμό μέσω της αναπνευστικής οδού, της κατάποσης και της απορρόφησης από το δέρμα. Οι μητρικές ουσίες και τα προϊόντα μεταβολισμού τους ανιχνεύονται στα βιολογικά υλικά και η παρουσία τους συχνά συσχετίζεται με την εμφάνιση δυσμενών επιδράσεων στην υγεία όπως αναπνευστικά προβλήματα, προβλήματα στο αναπαραγωγικό σύστημα ανδρών και γυναικών, νευροψυχολογικές διαταραχές και άλλα. Έκθεση της μητέρας κατά την εγκυμοσύνη συνεπάγεται έκθεση του εμβρύου με μη αναστρέψιμες πιθανά επιπτώσεις για την υγεία του, πρόωρο τοκετό, δυσμορφίες γεννητικών οργάνων και δυσλειτουργία ζωτικών οργάνων (νεφροί και ήπαρ). Λόγω της αυστηρής νομοθεσίας που εφαρμόστηκε, σε ορισμένες εφαρμογές η BPA τείνει να αντικατασταθεί από υποκατάστατα όπως είναι οι δισφαινόλες F και S (BPF, BPS).

Σκοπός της διατριβής είναι η εκτίμηση της έκθεσης μητέρας-βρέφους στους μεταβολίτες των φθαλικών (mEP, miBP, mnBP, mBzP, mEHP, mEHHP, mEOHP), τη BPA και τα υποκατάστατα BPF και BPS μέσω του προσδιορισμού των ουσιών στο αμνιακό υγρό, τα ούρα και την τρίχα των εγκύων γυναικών κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης. Στην έρευνα συμμετείχαν εκατό γυναίκες οι οποίες υποβλήθηκαν στην εξέταση της αμνιοπαρακέντισης στην μαιευτική-γυναικολογική κλινική «ΜΗΤΕΡΑ» από τον Δρ. Σταύρο Σηφάκη. Εκτός από τη δειγματοληψία, οι συμμετέχουσες απάντησαν σε ερωτηματολόγια σχετικά με την καθημερινή χρήση πλαστικών προϊόντων, καλλυντικών, τη διατροφή τους, προβλήματα υγείας και προβλήματα κατά την κύηση. Όταν γεννήθηκαν τα νεογνά συλλέχτηκαν πληροφορίες σχετικά με τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά τους (περίμετρος κεφαλής, βάρος, ύψος) και πιθανά προβλήματα υγείας. Με χρήση στατιστικής συσχετίστηκαν οι συγκεντρώσεις των ουσιών στα βιολογικά υποστρώματα με

τις καθημερινές συνήθειες, τη διατροφή, παθολογικές καταστάσεις και δείκτες ανάπτυξης στα νεογνά.

Τα πρωτόκολλα ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν είναι κοινά για όλες τις ουσίες και διαφορετικά για κάθε υπόστρωμα, υπήρχαν ήδη στη βιβλιογραφία αλλά τροποποιήθηκαν και επικυρώθηκαν για τις ανάγκες της παρούσας έρευνας. Πριν την επεξεργασία των βιολογικών υγρών (αμνιακό υγρό και ούρα) οι ουσίες μετατρέπονταν από τη συζευγμένη στην ελεύθερη μορφή τους με ενζυμική υδρόλυση. Η επεξεργασία του αμνιακού υγρού έγινε με υγρή-υγρή εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα, ενώ στα ούρα την υγρή-υγρή εκχύλιση ακολούθησε εκχύλιση στερεάς φάσης για περαιτέρω καθαρισμό. Για την απομόνωση των ουσιών από την τρίχα πραγματοποιήθηκε εκχύλιση στους υπερήχους με μεθανόλη. Ο προσδιορισμός των ουσιών στα δείγματα έγινε με σύστημα υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (LC-APCI-MS).

Με την παρούσα έρευνα, προσδιορίστηκαν για πρώτη φορά επτά φθαλικοί μεταβολίτες σε εκατό ανθρώπινα δείγματα τρίχας δείχνοντας έτσι ότι οι ουσίες αποθηκεύονται στον οργανισμό. Για πρώτη φορά προσδιορίστηκαν υποκατάστατα της BPA στο αμνιακό υγρό και την τρίχα και είναι η πιο πρόσφατη έρευνα για τα φθαλικά στο αμνιακό υγρό από το 1980-1996.

Τα πιο σημαντικά αποτελέσματα από την στατιστική ανάλυση δείχνουν συσχέτιση μεταξύ των μεταβολιτών των φθαλικών για όλα τα υποστρώματα υποδεικνύοντας την κοινή πηγή έκθεσης, υψηλότερες συγκεντρώσεις της BPS στην τρίχα συνδέθηκαν με υψηλό δείκτη μάζας σώματος και σωματικό βάρος των εγκύων γυναικών, η συχνή χρήση συγκεκριμένων προϊόντων προσωπικής φροντίδας συσχετίστηκε με υψηλότερες συγκεντρώσεις των ουσιών σε όλα τα υποστρώματα, η συγκέντρωση του μεταβολίτη mEHP στην τρίχα συσχετίστηκε σημαντικά με τη συχνή χρήση πλαστικών σκευών και χαμηλότερο σωματικό βάρος των νεογνών.

Ο πληθυσμός που εξετάστηκε εκτέθηκε συνολικά σε 145,2 μg/L φθαλικών (διάμεσος) το οποίο αντιστοιχεί σε βαθμό επικινδυνότητας 10% και ακολουθεί την πτωτική τάση που παρατηρείται από το 1988 μέχρι σήμερα. Τέλος, είναι εμφανής η τάση για αντικατάσταση του DnBP από τον DiBP, ενώ η BPA είναι η κύρια δισφαινόλη που βρέθηκε στα δείγματα σε σχέση με τα υποκατάστατά της F και S.

Λέξεις κλειδιά: βιοπαρακολούθηση, έγκυες γυναίκες, νεογνά, ενδοκρινικοί διαταράκτες, ενδομήτρια έκθεση, μεταβολίτες φθαλικών εστέρων, δισφαινόλη-Α, διαφαινόλη-S, δισφαινόλη-F, ερωτηματολόγια, τρίχα, ούρα, αμνιακό υγρό, εκτίμηση κινδύνου.

ABSTRACT

Phthalates and bisphenol A (BPA) are used in industry as plasticizers or additives in everyday products and they have been considered as endocrine disrupting chemicals. Humans are multiply exposed to these compounds which enter the human body via ingestion, inhalation and dermal absorption. Parent compounds or their metabolites are detected in biological matrices and their presence is often associated with adverse health impacts including respiratory problems, reproductive effects in males and females and neurophycological disorders. Maternal exposure during pregnancy has been linked with neonatal exposure, irreversible health effects in newborns, preterm birth, genital malformations and organs disinfunction (kidneys, liver). The application of strict regulation on the use of BPA has resulted in the replacement of BPA by bisphenol analogues including bisphenols F and S (BPF, BPS).

The aim of this thesis is to estimate maternal and infant exposure to phthalate metabolites (mEP, miBP, mnBP, mBzP, mEHP, mEHHP, mEOHP), BPA and its analogues BPF and BPS by biomonitoring in amniotic fluid, urine and hair samples from pregnant women during the first trimester of gestation. One hudrend women who underwent amniocentesis at the maternity hospital “MITERA” under Dr. Stavros Sifakis were recruited in the study. Except for the biological samples that were collected, participants answered questionnaires regarding the use of plastic products and cosmetics, dietary habits, health effects and pregnancy problems. After birth, information about infants’ somatometric characteristics (head circumference, birth weight and height) and health effects was collected. Through statistical analysis, the concentrations of the compounds in the biological matrices were associated with lifestyle, dietary habits, health impacts and developmental factors for newborns.

The analytical protocols that were followed were common for all compounds and different per biological matrix, they were found in literature although they were modified and validated for the present study. Prior to sample preparation (amniotic fluid and urine), the compounds were

deconjugated with enzymatic hydrolysis. Amniotic fluid was treated with liquid-liquid extraction with ethyl acetate and for urine the liquid-liquid extraction was followed by solid-phase extraction as a clean-up process. The compounds were extracted from hair samples using methanol and ultrasound. The quantification and quafication of the analytes were performed with liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry system (LC-APCI-MS).

This is the first study that investigated the presence of seven phthalate metabolites in one hudrend human hair samples indicating that they are stored in human organism. It is the first time that BPA analogues are determined in amniotic fluid and hair samples and this study is the most recent that examined phthalates in amniotic fluid, since 1980-1996.

The major results from statistical analysis include the correlation among phthalate metabolites for all biological matrices indicating their common sources of exposure, higher levels of BPS in hair were associated with increased body mass index and body weight in pregnant women, the frequent use of specific personal care products was associated with higher levels of several compounds in all matrices, the concentration of mEHP in hair was associated with the frequent use of plastic containers and lower infants' birth weight.

The study population was exposed to 145.2 μg/L phthalates (median) which corresponds to hazard index 10% and this exposure follows the declining trend that has been observed since 1988. Finally, it is obvious from biomonitoring results that there is a trend for replacement of DnBP by DiBP and that BPA was the main bisphenol in samples compared to its analogues BPF and BPS.

Keywords: biomonitoring, pregnant women, infants, endocrine disruptors, prenatal exposure, phthalate metabolites, bisphenol A, bisphenol S, bisphenol F, questionnaires, hair, urine, amniotic fluid, risk assessment.

Πίνακας περιεχομένων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Εισαγωγή 33
1.1 Βασικές έννοιες 33
1.1.1 Πλαστικοποιητές 33
1.1.2 Ενδοκρινικοί διαταράκτες 34
1.1.3 Βιοπαρακολούθηση 35
1.2 Οι φθαλικοί εστέρες 36
1.2.1 Εφαρμογές και πηγές έκθεσης για τον άνθρωπο 36
1.2.2 Νομοθεσία 39
1.2.3 Υποκατάστατα φθαλικών και αλλαγές στη χρήση 41
1.2.4 Μεταβολισμός των φθαλικών εστέρων 47
1.3 Δράση – Τοξικότητα των φθαλικών εστέρων 49
1.3.1 Αλληλεπίδραση με την θυρεοειδή ορμόνη 50
1.3.2 Αλληλεπίδραση με το αναπαραγωγικό σύστημα 50
1.3.3 Αλληλεπίδραση με το αναπνευστικό σύστημα 53
1.3.4 Αλληλεπίδραση με το νευρικό σύστημα 54
1.3.5 Αλληλεπίδραση με το καρδιαγγειακό σύστημα 55
1.4 Η Δισφαινόλη-Α 56
1.4.1 Εφαρμογές και πηγές έκθεσης για τον άνθρωπο 56
1.4.2 Νομοθεσία 57
1.4.3 Υποκατάστατα της δισφαινόλης-Α 58
1.4.4 Η δισφαινόλη-Α στο ανθρώπινο σώμα 59
1.5 Δράση – Τοξικότητα της δισφαινόλης-Α 64
1.5.1 Αλληλεπίδραση με την θυρεοειδή ορμόνη 65
1.5.2 Αλληλεπίδραση με το αναπαραγωγικό σύστημα 65
1.5.3 Αλληλεπίδραση με το αναπνευστικό σύστημα 68
1.5.4 Αλληλεπίδραση με το νευρικό σύστημα 69
1.5.5 Μεταβολικά σύνδρομα 70
1.5.6 Αλληλεπίδραση με το καρδιαγγειακό σύστημα 72

1.6 Σκοπός και επιμέρους στόχοι 73
1.7 Βιβλιογραφία 75
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Πειραματικό μέρος 94
2.1 Δειγματοληψία 94
2.1.1 Πληθυσμός μελέτης 94
2.1.2 Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων 95
2.2 Πειραματική διαδικασία 95
2.2.1 Υλικά και αντιδραστήρια 95
2.2.2 Προετοιμασία της τρίχας 96
2.2.3 Προετοιμασία του αμνιακού υγρού 97
2.2.4 Προετοιμασία των ούρων 98
2.3 Ενόργανη ανάλυση και ανίχνευση 99
2.4 Στατιστική ανάλυση 101
2.5 Βιβλιογραφία 101
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Αποτελέσματα 103
3.1 Ερωτηματολόγια 103
3.2 Επικύρωση μεθόδων 108
3.2.1 Τρίχα 108
3.2.2 Αμνιακό υγρό 110
3.2.3 Ούρα 111
3.3 Αποτελέσματα βιοπαρακολούθησης 116
3.3.1 Τρίχα 116
3.3.2 Αμνιακό υγρό 118
3.3.3 Ούρα 121
3.4 Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης 124
3.4.1 Τρίχα 124
3.4.2 Αμνιακό υγρό 127
3.4.3 Ούρα 128
3.5 Βιβλιογραφία 138
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Συζήτηση αποτελεσμάτων 139
4.1 Σύγκριση αποτελεσμάτων για τα φθαλικά με τη βιβλιογραφία 139
4.1.1 Τρίχα 141

4.1.2 Αμνιακό υγρό 144
4.1.3 Ούρα 148
4.2 Εκτίμηση της ημερήσιας πρόσληψης φθαλικών 153
4.3 Σύγκριση αποτελεσμάτων για τις δισφαινόλες με τη βιβλιογραφία 159
4.3.1 Τρίχα 159
4.3.2 Αμνιακό υγρό 161
4.4 Βιβλιογραφία 164
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. Συμπεράσματα 173
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ 178
I. Δημοσιευμένα αποτελέσματα της διατριβής σε άρθρα και συνέδρια 179
II. Έγγραφα δειγματοληψίας 180
III. Ενδεικτικοί πίνακες στατιστικής ανάλυσης 188
IV. Ενδεικτικά χρωματογραφήματα 197

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ADHD: Attention Deficit Hyperactivity Disorder

AGD: anogenital distance

ASD: Autism Spectrum Disorder

ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry

BBzP: butyl benzyl phthalate

BPA: bisphenol A, (4,4′-hexafluoroisopropylidene diphenol)

BPF: bisphenol F, (4,4′-methylenediphenol)

BPS: bisphenol S, (4-hydroxyphenyl sulfone)

CDC: Center for Disease Control and Prevention

CMR: carcinogenic, mutagenic, repro-toxic

DDT: dichloro diphenyl trichloroethane

DEHP: di 2-ethylhexyl phthalate

DEP: diethyl phthalate

DiBP: diisobutyl phthalate

DiDP: diisodecyl phthalate

DiNP: diisononyl phthalate

DiUP: diisoundecyl phthalate

DMP: dimethyl phthalate

DnBP: di-n-butyl phthalate

DPHP: di2-propylheptyl phthalate

DTDP: diisotridecyl phthalate

EDI: Estimated Daily Intake

EFSA: European Food Safety Agency

EU CSTEE: European Union Scientific Committee on Toxicity Ecotoxicity and the Environment

FSH: follicle-stimulating hormone

Fue: urinary excretion factor

HI: Hazard Index

HQ: Hazard Quotient

HWM: high molecular weight

LC-APCI-MS: liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry

LH: luteinizing hormone

LMW: low molecular weight

LOD: Limit of Detection

LOQ: Limit of Quantification

mBzP: mono benzyl phthalate

MCMHP ή 2cx-MMHP: 2-(Carboxymethyl)-hexyl phthalate

MECPP ή 5cx-MEPP: 2-Ethyl-5-carboxy pentyl phthalate

mEHHP ή 5OH-MEHP: 2-Ethyl-5-hydroxy-hexyl phthalate

mEHP: mono 2-ethylhexyl phthalate

mEOHP ή 5oxo-MEHP: 2-Ethyl-5-oxy-heptyl phthalate

mEP: mono ethyl phthalate

miBP: mono isobutyl phthalate

miDP: mono isodecyl phthalate

miNP: mono isononyl phthalate

mMP: mono methyl phthalate

mnBP: mono n-butyl phthalate

MRL: Minimum Risk Level

NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey

PC: polycarbonate

PVC: polyvinyl chloride

REACH: Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals

RfD: Reference Dose

SHBG: sex hormone-binding globulin

TDI: Tolerable Daily Intake

TSH: thyroid-stimulating hormone

US EPA: United States Environmental Protection Agency

WHO: World Health Organization

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Εισαγωγή

1.1 Βασικές έννοιες

1.1.1 Πλαστικοποιητές

Με τον όρο *πλαστικοποιητές* αναφέρονται οι ενώσεις οι οποίες προστίθενται στο πολυμερές με σκοπό να του προσδώσουν ανθεκτικότητα, ελαστικότητα και ρύθμιση της σκληρότητας. Οι πλαστικοποιητές δεν είναι χημικά συνδεδεμένοι με το πολυμερές, αλλά συγκρατούνται ανάμεσα στις αλυσίδες του άμορφου τμήματος με ασθενείς αλληλεπιδράσεις (van der waals) (Wilkes et al., 2005). Μεταβολές στο περιβάλλον όπως είναι η αύξηση της θερμοκρασίας οδηγούν στην άρση των αλληλεπιδράσεων αυτών και την ελευθέρωση του πλαστικοποιητή από το πολυμερές στο περιβάλλον το οποίο μπορεί να είναι το νερό, το αναψυκτικό ή το τρόφιμο αν πρόκειται για μια πλαστική συσκευασία, ο εσωτερικός αέρας και η σκόνη ενός δωματίου αν υπάρχουν πλαστικά αντικείμενα ή ακόμα και ο ίδιος ο άνθρωπος στην περίπτωση που έρχεται σε άμεση επαφή με το πλαστικό όπως τα βοηθητικά οδοντοφυΐας (Bošnir et al., 2007; Keresztes et al., 2013).

Οι φθαλικοί εστέρες και η δισφαινόλη Α (2,2-bis(4-hydroxyphenyl)-propane, BPA) είναι πλαστικοποιητές του πολυβινυλοχλωριδίου (polyvinyl chloride, PVC) και του πολυκαρβονικού (polycarbonate, PC) αντίστοιχα και προστίθενται σε προϊόντα όπως τα πλαστικά μέρη των αυτοκινήτων, πλαστικοί σωλήνες, επενδύσεις δαπέδων, θερμικό χαρτί αποδείξεων, επίστρωση σε μεταλλικές κονσέρβες, πλαστικά παρεμβύσματα σε μεταλλικά καπάκια, πλαστικές συσκευασίες νερού και τροφίμων, παιδικά παιχνίδια και θήλαστρα, καλλυντικά και είδη προσωπικής φροντίδας, ιατρικές συσκευές και φάρμακα (Cao, 2010). Σύμφωνα με την επίσημη ιστοσελίδα της Ευρώπης για τους πλαστικοποιητές, (ECPI, 2014), η κατανάλωση πλαστικοποιητών για το 2008 ήταν 5,6 εκατομμύρια τόνοι παγκοσμίως με την Ασία να αντιστοιχεί στο 55,4% της παγκόσμιας κατανάλωσης. Κατά τα έτη 2011 και 2014 οι φθαλικοί εστέρες αντιστοιχούσαν στο 87% και 70% αντίστοιχα, των χρησιμοποιούμενων πλαστικοποιητών.

Η ευρεία έκθεση του γενικού πληθυσμού σε πλαστικοποιητές, μέσω της αναπνευστικής, της γαστρεντερικής και της διαδερμικής απορρόφησής τους, είναι πλέον επιστημονικά τεκμηριωμένη (CDC, 2015; Gong et al., 2016; Hoppin et al., 2013). Όταν οι χημικές ουσίες εισέρχονται στον ανθρώπινο οργανισμό μεταβολίζονται με σκοπό να μετατραπούν σε περισσότερο πολικές ενώσεις και να απεκκριθούν μέσω των ούρων. Οι μεταβολίτες ή οι μητρικές ενώσεις ανιχνεύονται στις βιολογικές μήτρες όπως τα ούρα, το αίμα, τα κόπρανα, το σίελο και το σπέρμα υποδεικνύοντας την έκθεση του οργανισμού σε αυτές (Wittassek and Angerer, 2008).

1.1.2 Ενδοκρινικοί διαταράκτες

Ο όρος *ενδοκρινικοί διαταράκτες* αναφέρεται σε ουσίες ή μίγμα ουσιών οι οποίες τροποποιούν τη λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος (Gore et al., 2015) με αρνητικές επιπτώσεις για την υγεία του οργανισμού αλλά και των απογόνων του. Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες παρεμβάλλονται στη φυσιολογική λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος μιμούμενοι τη δράση μιας φυσικά παραγόμενης ορμόνης, αναστέλλοντας τους υποδοχείς των ορμονών ή επηρεάζοντας τη σύνθεση, μεταφορά και μεταβολισμό των φυσικών ορμονών (National Institute of Health, 2010). Οι ορμόνες του θυρεοειδούς αδένα και του αναπαραγωγικού συστήματος είναι οι πιο ευπαθείς ορμόνες στους ενδοκρινικούς διαταράκτες. Παραδείγματα περιβαλλοντικών ρύπων που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία είναι οι φθαλικοί εστέρες, η δισφαινόλη Α, το φυτοφάρμακο dichloro diphenyl trichloroethane (DDT), τα παραβένια, η τρικλοζάνη, το υπερφθοροοκτανοϊκό οξύ, οι διοξίνες και τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (Diamanti-Kandarakis et al., 2009; Gore et al., 2015).

Το ενδοκρινικό σύστημα είναι ένα περίπλοκο σύστημα αδένων, ορμονών και υποδοχέων. Είναι υπεύθυνο για τον έλεγχο βασικών λειτουργιών του οργανισμού όπως είναι η αναπαραγωγή, ο μεταβολισμός και η σύσταση των εξωκυτταρικών υγρών. Διαδραματίζει κυρίαρχο ρόλο στην διατήρηση της ομοιόστασης του οργανισμού, δηλαδή στην διατήρηση της σταθερότητας του

εσωτερικού περιβάλλοντος του οργανισμού (ισοζύγιο νερού, σταθερή θερμοκρασία). Ο έλεγχος των λειτουργιών αυτών πραγματοποιείται με την έκκριση κατάλληλων ορμονών από τους ενδοκρινείς αδένες (επίφυση και υπόφυση, θυρεοειδής και παραθυρεοειδής, πάγκρεας, νεφροί και επινεφρίδια, γονάδες και ωοθήκες), σε συνεργασία με το κεντρικό νευρικό σύστημα.

Η έκθεση του οργανισμού στους ορμονικούς διαταράκτες έχει συσχετιστεί με μείωση της ανδρικής γονιμότητας, διαταραχές στα επίπεδα των φυλετικών ορμονών, χρωμοσωμικές ανωμαλίες, ενδομητρίωση, παχυσαρκία, αλλεργίες και καρκίνο (Vandenberg et al., 2007; Wittassek et al., 2011). Η ηλικία και το στάδιο ανάπτυξης του οργανισμού κατά την χρονική περίοδο της έκθεσης στους ρυπαντές καθορίζουν το σύστημα που θα προσβληθεί και το εύρος των δυσμενών επιπτώσεων για την υγεία. Τα έμβρυα και τα νεογνά είναι πιο ευάλωτα σε τοξικές ουσίες γενικότερα, καθώς οι μεταβολικές λειτουργίες δεν έχουν αναπτυχθεί πλήρως και οι ρυπαντές δεν απεκκρίνονται επαρκώς από το σώμα. Κατά την περίοδο της προγεννητικής ανάπτυξης, οι ορμόνες παίζουν καθοριστικό ρόλο στην κυτταρική διαφοροποίηση και στο σχηματισμό των οργάνων και έχει αποδειχτεί ότι η έκθεση στους μιμητές των ορμονών μπορεί να επιφέρει μόνιμες διαταραχές στην υγεία του εμβρύου οι οποίες είναι εμφανείς μετά την γέννηση, κατά την παιδική ηλικία ή ακόμα και μεταγενέστερα (Langley-Evans, 2006). Η ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος και των πνευμόνων συνεχίζεται μετά τη γέννηση και ολοκληρώνεται στην ηλικία των 10 ετών ενώ το κεντρικό νευρικό και αναπαραγωγικό σύστημα αναπτύσσονται πλήρως κατά την εφηβεία, υποδεικνύοντας ότι εκτός από την προγεννητική έκθεση, η έκθεση κατά την παιδική ηλικία είναι εξίσου σημαντική.

1.1.3 Βιοπαρακολούθηση

Με τον όρο *βιοπαρακολούθηση* εννοούμε τη μέθοδο η οποία χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της ανθρώπινης έκθεσης σε τοξικές ουσίες μετρώντας τους αντίστοιχους βιοδείκτες έκθεσης σε βιολογικά υγρά και

ιστούς. Οι βιοδείκτες έκθεσης είναι μητρικές ουσίες ή προϊόντα μεταβολισμού που ανιχνεύονται σε βιολογικά υποστρώματα και η παρουσία τους αποτελεί απόδειξη της ανθρώπινης έκθεσης. Η βιοπαρακολούθηση εφαρμόζεται σε επιδημιολογικές και τοξικολογικές μελέτες και τα αποτελέσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεμονωμένα ή συνδυασμένα με επιδράσεις στην υγεία. Αναφέρεται σε όλες τις πηγές έκθεσης (εισπνοή, κατάποση και διαδερμική απορρόφηση) και παρέχει πληροφορίες για τη χρονική περίοδο της έκθεσης (οξεία, χρόνια). Τα αποτελέσματα της βιοπαρακολούθησης α) χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση του κινδύνου για την ανθρώπινη υγεία, β) μέσω στατιστικής επεξεργασίας δείχνουν τάσεις της έκθεσης μεταξύ πληθυσμών ή χρονική διακύμανση για την ίδια πληθυσμιακή ομάδα, γ) μπορούν να συνδυαστούν με πληροφορίες από ερωτηματολόγια (self reported data) και να γίνει συσχέτιση της έκθεσης με καθημερινές συνήθειες, κλινικά συμπτώματα, προβλήματα υγείας και ασθένειες και δ) χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της εφαρμογής της νομοθεσία. Παράδειγμα επεξεργασίας των δεδομένων βιοπαρακολούθησης αποτελούν οι μελέτες ανασκόπησης της ερευνητικής μας ομάδας για τα φυτοφάρμακα (Katsikantami et al., 2019) και τα φθαλικά (Katsikantami et al., 2016).

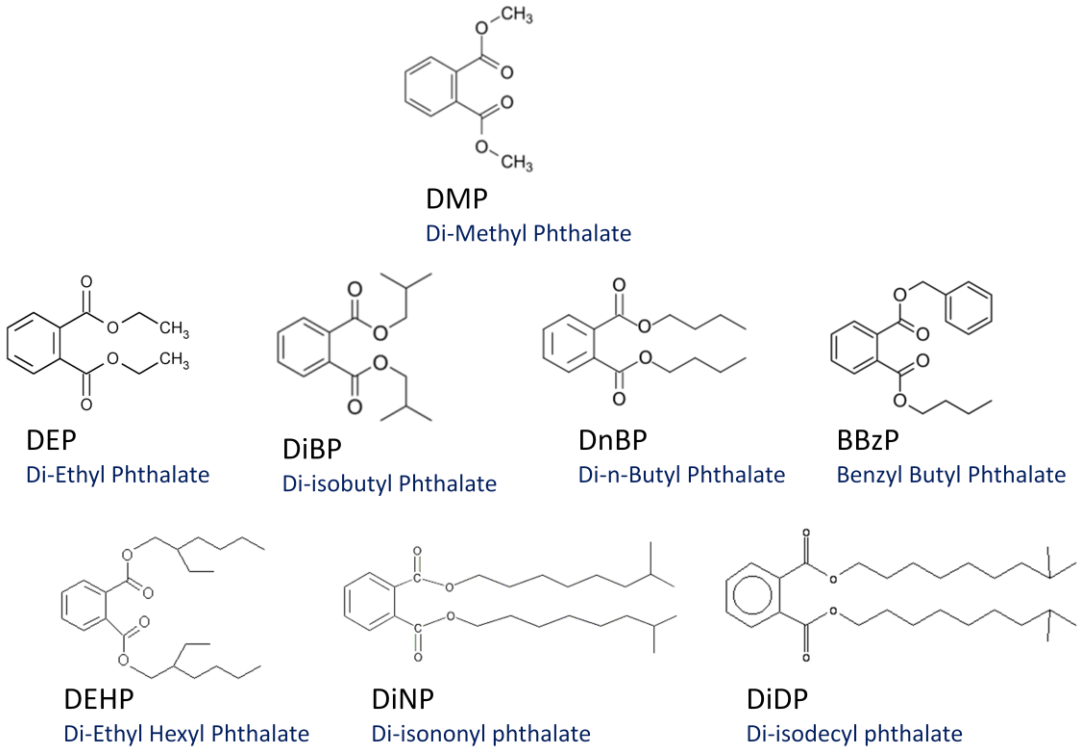
1.2 Οι φθαλικοί εστέρες

1.2.1 Εφαρμογές και πηγές έκθεσης για τον άνθρωπο

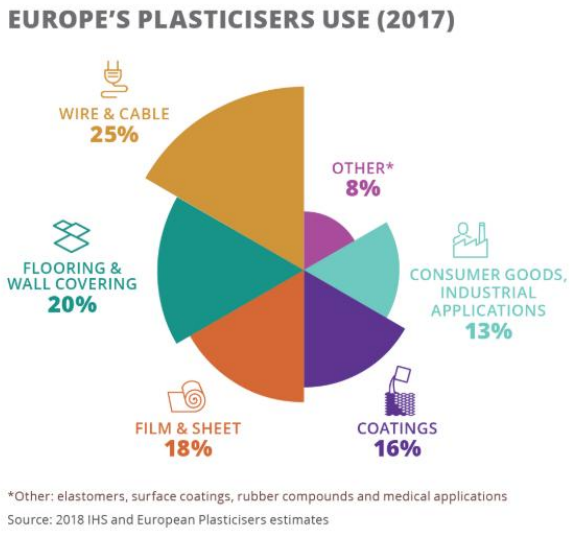
Οι φθαλικοί εστέρες ή φθαλικά (phthalate esters or phthalates) είναι εστέρες του 1,2-βενζοδικαρβοξυλικου οξέος (phthalic acid) και είναι οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι πλαστικοποιητές παγκοσμίως από το 1920 (Εικόνα 1). Από τη δεκαετία 1930 μέχρι σήμερα χρησιμοποιούνται στην παραγωγή του PVC και κατά το 2017, πάνω από 85% των πλαστικοποιητών που καταναλώθηκαν στην Ευρώπη, χρησιμοποιήθηκαν σε εφαρμογές του PVC (Εικόνα 2). Οι φθαλικοί υψηλού μοριακού βάρους (High Molecular Weight, HMW), diisodecyl phthalate (DiDP), diisononyl phthalate (DiNP), di2-propylheptyl phthalate (DPHP), diisoundecyl phthalate (DiUP) και diisotridecyl

phthalate (DTDP) χρησιμοποιούνται ευρέως στην πλαστικοποίηση με σκοπό τη μείωση της σκληρότητας, την αύξηση της ελαστικότητας και ανθεκτικότητας στο σκληρό και άκαμπτο PVC. Παραδείγματα πλαστικοποιημένων προϊόντων με φθαλικούς εστέρες είναι τα ηλεκτρικά καλώδια, οι σωλήνες, επενδύσεις δαπέδων, πλαστικά μέρη αυτοκινήτων και κόλλες (ECPI, 2014). Οι φθαλικοί χαμηλού μοριακού βάρους (Low Molecular Weight, LMW) di-n-butyl phthalate (DnBP), diisobutyl phthalate (DiBP), butyl benzyl phthalate (BBzP) και di 2-ethylhexyl phthalate (DEHP) εκτός από την παραγωγή PVC προϊόντων βρίσκουν εφαρμογή σε πλαστικές ιατρικές συσκευές που χρησιμοποιούνται κατά την μετάγγιση αίματος και αιμοκάθαρση (Singh and Li 2011; U.S. FDA, 2011), μπογιές, μελάνια και φαρμακευτικές κάψουλες. Όπως έχει αναφερθεί εκτενώς από τον Cao (2010), τα φθαλικά χρησιμοποιούνται στην κατασκευή των πλαστικών δεξαμενών και σωλήνων για την αποθήκευση και μεταφορά τροφίμων, με χαρακτηριστικό παράδειγμα την περίπτωση του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων τα οποία, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε λιπαρά, αποτελούν καλό μέσο εκχύλισης των ουσιών. Η μεμβράνη περιτύλιξης τροφίμων επιμολύνει με φθαλικά τα τρόφιμα με τα οποία έρχεται σε επαφή, όπως το κρέας και το τυρί, ενώ τα πλαστικά παρεμβύσματα στα μεταλλικά καπάκια των γυάλινων βάζων θεωρούνται επίσης πηγή πλαστικοποιητών για τα ελαιώδη τρόφιμα. Τα πλαστικά γάντια τα οποία συχνά χρησιμοποιούνται στην προετοιμασία του φαγητού επίσης θεωρούνται πηγή φθαλικών (Tsumura et al., 2001). Οι εστέρες dimethyl phthalate (DMP) και diethyl phthalate (DEP) λόγω της ιδιότητάς τους να σταθεροποιούν το άρωμα, προστίθενται ως διαλύτες σε αρώματα και πρόσθετα σε καλλυντικά και προϊόντα προσωπικής φροντίδας (Cao, 2010; Fierens et al., 2012; Hauser et al., 2004; Hauser and Calafat, 2005; Heudorf et al., 2007; Schettler, 2005).

Σε παγκόσμια κλίμακα, περίπου 7,5 εκατομμύρια τόνοι πλαστικοποιητών καταναλώνονται ετησίως από τους οποίους πάνω από 1,3 εκατομμύρια αντιστοιχούν στην Ευρωπαϊκή αγορά. Τα HMW φθαλικά είναι οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι πλαστικοποιητές λόγω της υψηλής συμβατότητά τους με τα πολυμερή και ακολουθούν τα αλειφατικά και τα κυκλοεξανοϊκά (aliphatics and cyclohexanoates).



Εικόνα 1. Δομές των πιο ευρέως χρησιμοποιούμενων φθαλικών εστέρων.



Εικόνα 2. Εφαρμογές πλαστικοποιητών στην Ευρώπη κατά το 2017. (www.plasticisers.org)

1.2.2 Νομοθεσία

Λόγω της παγκόσμιας ανησυχίας σχετικά με την ανθρώπινη έκθεση στους φθαλικούς εστέρες και των δυσμενών επιπτώσεων που έχουν για την υγεία, η παρουσία τους σε προϊόντα ευρείας κατανάλωσης παρακολουθείται και διέπεται από νομοθετικούς περιορισμούς και απαγορεύσεις. Οι δράσεις και στρατηγικές για την προστασία της ανθρώπινης υγείας περιλαμβάνουν την αυστηρή νομοθεσία, αντικατάσταση των φθαλικών από εναλλακτικούς πλαστικοποιητές, χρήση πλαστικών που δεν απαιτούν την προσθήκη φθαλικών ή χρήση βιολογικών πλαστικών (LCSP, 2011).

Η Ευρωπαϊκή νομοθεσία 793/93 αναφερόταν στη χρήση των DiNP, DiDP, DEHP, BBzP και DnBP, σήμερα όμως έχει αντικατασταθεί από τον κανονισμό REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals). Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Οδηγία 2005/84/EC και SEC/2007/1635, η χρήση των φθαλικών DnBP, DiBP, BBzP και DEHP σε πλαστικά παιχνίδια και αντικείμενα που προορίζονται για παιδιά καταργείται ή περιορίζεται. Χώρες όπως ο Καναδάς, Ιαπωνία και ΗΠΑ έχουν επίσης εφαρμόσει αυστηρή νομοθεσία για τα συγκεκριμένα προϊόντα. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία Καλλυντικών (European Cosmetics Legislation), απαγορεύεται η χρήση των LMW φθαλικών σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας διότι έχουν ταξινομηθεί στον κανονισμό REACH (2006/1907/EC) ως ουσίες καρκινογόνες, μεταλλαξιογόνες και τοξικές για την αναπαραγωγή (carcinogenic, mutagenic, repro-toxic, CMR). Εξαίρεση αποτελούν οι DMP και DEP των οποίων η χρήση επιτρέπεται. Η νομοθεσία στις ΗΠΑ δεν απαγορεύει τη χρήση τους στα καλλυντικά, ωστόσο κάποιες εταιρίες εθελοντικά δεν τους χρησιμοποιούν. Η Οδηγία 2007/19/EC θέτει αυστηρούς περιορισμούς στη χρήση των LMW φθαλικών σε πλαστικά προϊόντα που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα, ενώ για τα πόσιμα ύδατα ο DEHP βρίσκεται στον κατάλογο προτεραιότητας στα πλαίσια της πολιτικής της Ευρωπαϊκής Ένωσης και του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (World Health Organization, WHO, 2003).

Παγκόσμιοι Οργανισμοί και Υπηρεσίες έχουν θέσει ανώτερα επιτρεπτά όρια για την ασφαλή έκθεση σε συγκεκριμένους ρυπαντές. Οι τιμές αυτές

αντιπροσωπεύουν την ποσότητα μιας ουσίας στην οποία ο ανθρώπινος οργανισμός μπορεί να εκτίθεται ημερησίως εφ' όρου ζωής, χωρίς αξιόλογο κίνδυνο για την υγεία (Πίνακας 1). Η Υπηρεσία Τοξικών Ουσιών και Μητρώου Ασθενειών (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, ATSDR) των ΗΠΑ εκφράζει τις συγκεντρώσεις αυτές με το ελάχιστο επίπεδο κινδύνου (Minimum Risk Level, MRL) για οξεία (1-14 ημέρες), ενδιάμεση (15-365 ημέρες) και χρόνια έκθεση (>365 ημέρες). Η Ευρωπαϊκή Επιστημονική Επιτροπή (European Union Scientific Committee on Toxicity Ecotoxicity and the Environment, EU CSTEE) έχει θέσει την Ανεκτή Ημερήσια Πρόσληψη (Tolerable Daily Intake, TDI) και η Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος στις ΗΠΑ (Environmental Protection Agency, US EPA) έχει θεσπίσει την Δόση Αναφοράς (Reference Dose, RfD). Παρόμοιες επιτρεπτές τιμές ισχύουν από τον WHO και Health Canada.

Σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία, καθορίζονται ασφαλή επίπεδα έκθεσης σε μεμονωμένες ουσίες παρά το γεγονός ότι το πρόβλημα που αντιμετωπίζουμε είναι η χρόνια έκθεση σε μείγμα ρυπαντών με πιθανές αθροιστικές και συνεργιστικές επιδράσεις στην υγεία. Η ανησυχία είναι ότι αυτά τα ασφαλή επίπεδα έκθεσης ενδέχεται να υποτιμούν τον πραγματικό κίνδυνο για την υγεία (Tsatsakis et al., 2017). Σε αυτά τα πλαίσια, γίνονται προσπάθειες για την εκτίμηση του πραγματικού κινδύνου από την ταυτόχρονη έκθεση σε διάφορους ρυπαντές οι οποίοι μπορεί να ανήκουν στην ίδια κατηγορία (π.χ. φυτοφάρμακα), ή να είναι τελείως διαφορετικές ουσίες (π.χ. πλαστικοποιητές και πρόσθετα καλλυντικών) με κοινές επιπτώσεις για την ανθρώπινη υγεία (π.χ. οξειδωτικό στρες, ενδοκρινικοί διαταράκτες, επίδραση στο νευρικό σύστημα) (Docea et al., 2017; Tsatsakis et al., 2017). Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή, το Δεκέμβριο του 2009, επισήμανε την ανάγκη για την εκτίμηση του κινδύνου λόγω της συνδυαστικής έκθεσης σε ρυπαντές, την περαιτέρω μελλοντική έρευνα (Danish EPA, 2013) και δεσμεύτηκε να λάβει δράση για την κατανόηση των κινδύνων που σχετίζονται με τα μίγματα των χημικών και ανακοίνωσε τα επόμενα βήματα προς αυτή την κατεύθυνση (COM/2012/0252).

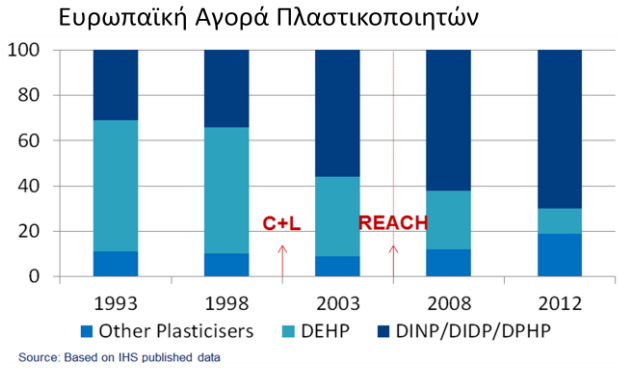
Πίνακας 1. Ανώτατες επιτρεπόμενες τιμές έκθεσης σε επιλεγμένους φθαλικούς εστέρες σύμφωνα με παγκόσμιους οργανισμούς και υπηρεσίες.

Φθαλικοί Εστέρες	Οργανισμός	MRL/TDI/RfD	Ανώτατο όριο έκθεσης (mg/kg bw/day)	Αναφορά
DEP	ATSDR	MRL (οξεία έκθεση)	7	ATSDR (1995)
		MRL (χρόνια έκθεση)	5	
	US EPA	RfD	0,8	US EPA (1987a)
DnBP	ATSDR	MRL	0,5	ATSDR (2001)
	US EPA	RfD	0,1	US EPA (1987b)
	EU CSTEE	TDI	0,1	EU CSTEE (1998)
	Health Canada	TDI	0,06	Health Canada (1994a)
BBzP	US EPA	RfD	0,2	US EPA (1988)
	EU CSTEE	TDI	0,2	EU CSTEE (1998)
DEHP ή DOP	US EPA	RfD	0,020	US EPA (1987c)
	ATSDR	MRL (οξεία έκθεση)	0,06	ATSDR (2002)
		MRL (ενδιάμεση έκθεση)	0,1	
	EU CSTEE	TDI	0,05	EU CSTEE (1998)
	Health Canada	TDI	0,044	Health Canada (1994b)
	WHO	TDI	0,025	WHO (2003)

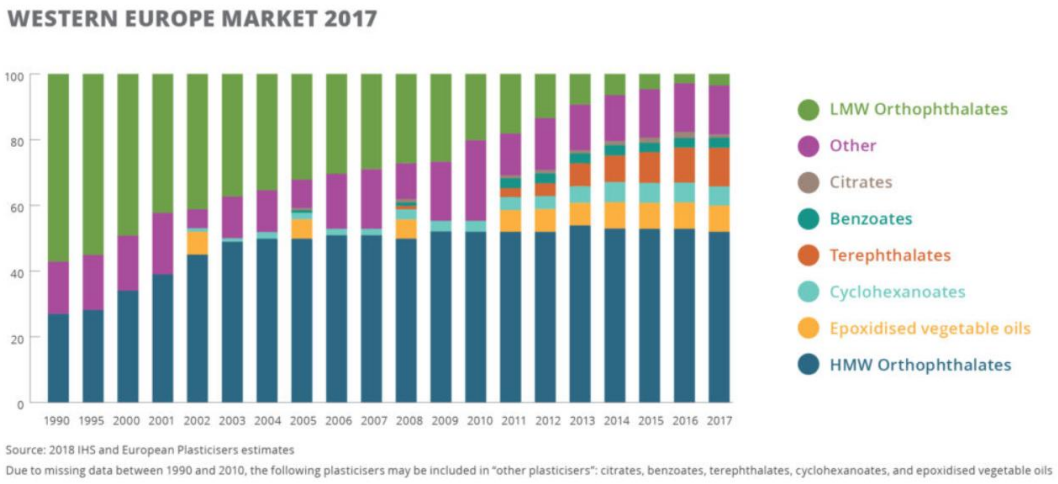
1.2.3 Υποκατάστατα φθαλικών και αλλαγές στη χρήση

Η εφαρμογή της αυστηρής νομοθεσίας είχε θετικά αποτελέσματα στη μείωση της βιομηχανικής παραγωγής των φθαλικών και της ανθρώπινης έκθεσης όπως αυτή καταγράφηκε από μελέτες βιοπαρακολούθησης (Helm, 2007; Katsikantami et al., 2016). Η Ευρωπαϊκή αγορά πλαστικοποιητών έχει

στραφεί στην αντικατάσταση των «ενόχων» DEHP και DnBP με HMW φθαλικά τα οποία θεωρούνται λιγότερο τοξικά (Εικόνα 3). Η γραφική παράσταση που απεικονίζει τη μείωση της παραγωγής των DEHP και DnBP στη Γερμανία, ακολουθεί την ίδια τάση με την αντίστοιχη ημερήσια πρόσληψη στο γερμανικό πληθυσμό (Εικόνα 4) μέχρι το 2004.

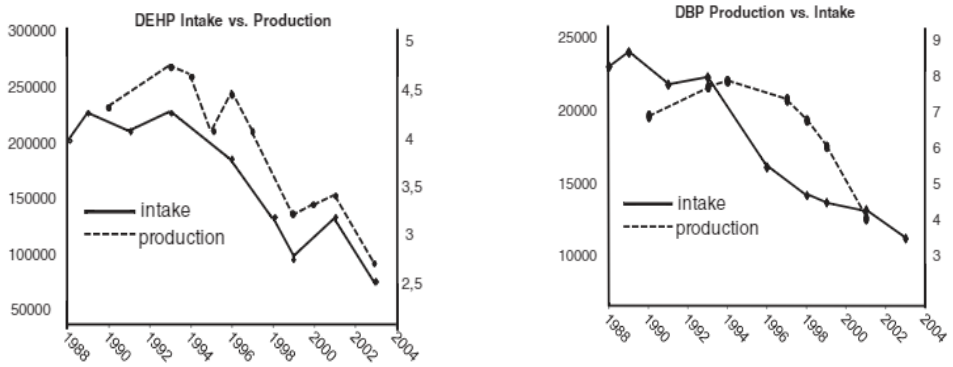


A.



B.

Εικόνα 3. Στροφή της Ευρωπαϊκής αγοράς πλαστικοποιητών προς τους φθαλικούς υψηλού μοριακού βάρους (http://www.plasticisers.org/en_GB/plasticisers/Orthophtalates).

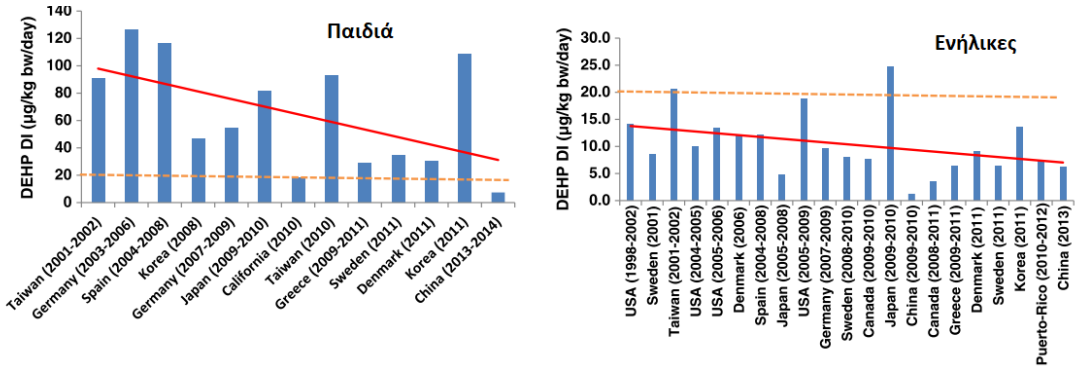


Εικόνα 4. Ετήσια μείωση στην παραγωγή των DEHP (αριστερά) και DnBP (δεξιά) στην Γερμανία (τόνοι) και η αντίστοιχη ημερήσια πρόσληψη για τον πληθυσμό της Γερμανίας (μg/kg bw/day) (Helm, 2007).

Σήμερα, τα HMW φθαλικά αντιπροσωπεύουν πάνω από 70% της ευρωπαϊκής αγοράς των πλαστικοποιητών και η εκτίμηση του κινδύνου λόγω της χρήσης τους είχε θετικά αποτελέσματα. Όλες οι ουσίες είναι καταγεγραμμένες στον κανονισμό REACH, ωστόσο δεν απαιτείται κατηγοριοποίησή τους για επιδράσεις στην υγεία και το περιβάλλον. Δεν θεωρούνται CMR, ούτε ουσίες με ενδοκρινική δράση. Ωστόσο, η χρήση των DiNP και DiDP σε πλαστικά παιχνίδια που έρχονται σε επαφή με το στόμα των παιδιών απαγορεύεται, λόγω ηπατικών διαταραχών που παρατηρήθηκαν σε πειραματόζωα. Παρ' όλ' αυτά, η παγκόσμια κατανάλωση του DEHP, ο οποίος θεωρείται ο πιο τοξικός, ανέρχεται ακόμα στο 40%, λόγω της επιτρεπόμενης παραγωγής και ευρείας χρήσης του στην Κίνα, Ινδία και άλλες χώρες της Ασίας, τη Μέση Ανατολή, Αφρική και Λατινική Αμερική.

Στα πλαίσια της παρούσας διατριβής, συλλέχτηκαν μελέτες βιοπαρακολούθησης των μεταβολιτών των φθαλικών στα ούρα από το 2000 μέχρι το 2015 και σημειώθηκε η διακύμανση για την έκθεση στον DEHP (Εικόνα 5) αλλά και το σύνολο των φθαλικών (Εικόνα 6). Παρατηρήθηκε μείωση στην έκθεση τόσο για τους ενήλικες όσο και τα παιδιά. Η μείωση στην ολική πρόσληψη φθαλικών για τα παιδιά και τους ενήλικες είναι περίπου 66,4% και 40,3%, αντίστοιχα, ενώ μόνο για τον DEHP η μείωση για τα παιδιά είναι 68,1% και για τους ενήλικες 48,9%. Η έκθεση των ενηλίκων σε DEHP

κυμάνθηκε ως επί το πλείστον σε ασφαλή επίπεδα, ωστόσο οι συγκεντρώσεις για τα παιδιά ξεπέρασαν το νομοθετικό όριο που έχει τεθεί από την US EPA (20 μg/kg bw/day). Είναι αναμενόμενο ότι η έκθεση των παιδιών στους ρυπαντές είναι υψηλότερη σε σχέση με τους ενήλικες επειδή έχουν μικρότερη σωματική μάζα. Το 85% των μελετών που συγκεντρώθηκαν για τα παιδιά ξεπέρασε το όριο των 20 μg/kg/day κατά 45 με 535% ενώ για τους ενήλικες μόλις το 10% των μελετών ξεπέρασε το όριο κατά 3 έως 23,5% (Katsikantami et al., 2016).

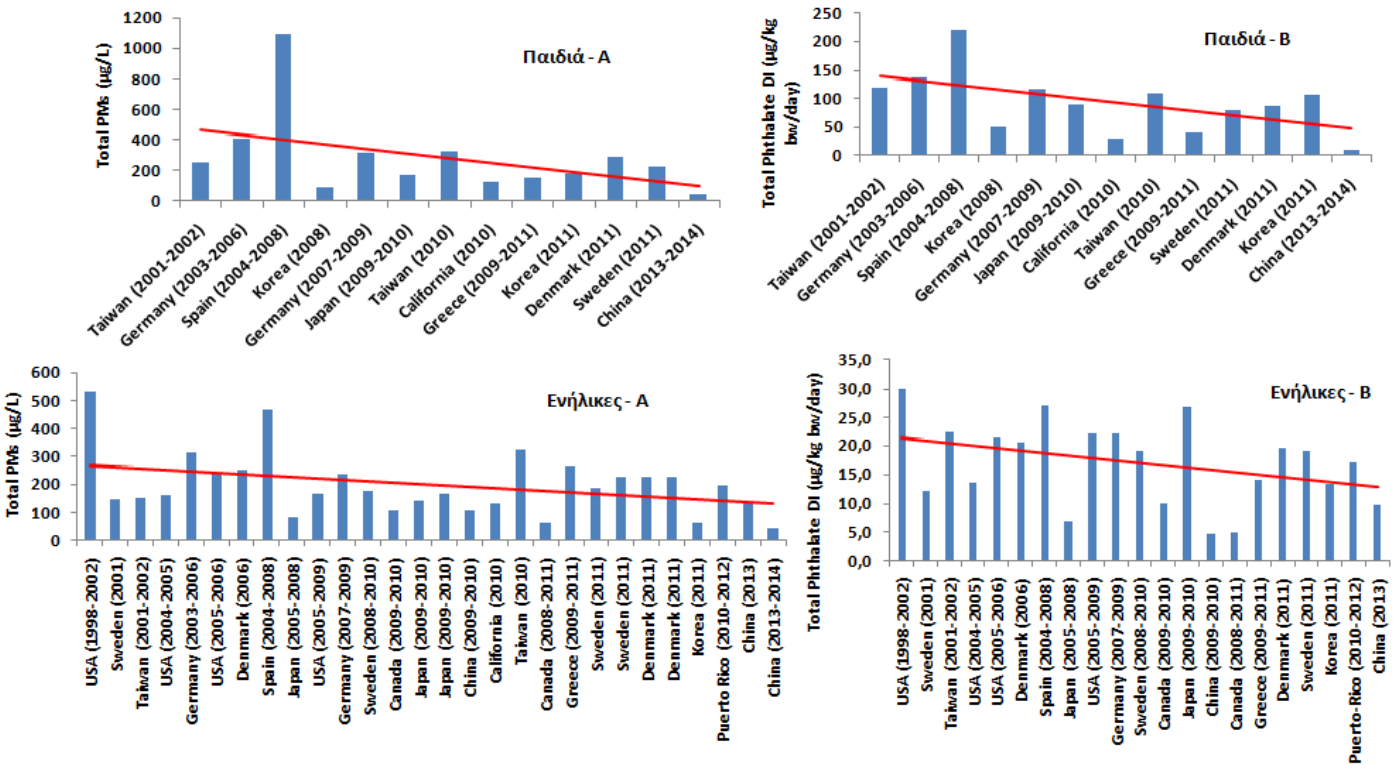


Εικόνα 5. Ημερήσια πρόσληψη DEHP στα παιδιά (αριστερά) και στους ενήλικες (δεξιά). Η διακεκομμένη γραμμή αντιπροσωπεύει το νομοθετικό όριο για ασφαλή έκθεση στον DEHP σύμφωνα με την US EPA (Katsikantami et al., 2016).

Το ερώτημα που τίθεται είναι «ποιο είναι το μέλλον των πλαστικοποιητών;». Η Ευρωπαϊκή αγορά μετατοπίζει τις απαιτήσεις της από τους CMR-φθαλικούς στους non-CMR πλαστικοποιητές, οι οποίοι σήμερα αντιπροσωπεύουν περίπου το 90% όλων των πλαστικοποιητών που παράγονται στην Ευρώπη. Παρόμοια τάση παρατηρείται και στην Βόρεια Αμερική, όχι όμως και στον υπόλοιπο κόσμο (Κίνα, Ινδία, Λατινική Αμερική), όπου οι DEHP και BBzP συνεχίζουν να παράγονται και να χρησιμοποιούνται σε μεγάλο βαθμό.

Στην βιβλιογραφία (LCSP, 2011) αναφέρονται 19 πλαστικοποιητές οι οποίοι δύνανται να αντικαταστήσουν τα φθαλικά, οι οποίοι εκτός από την

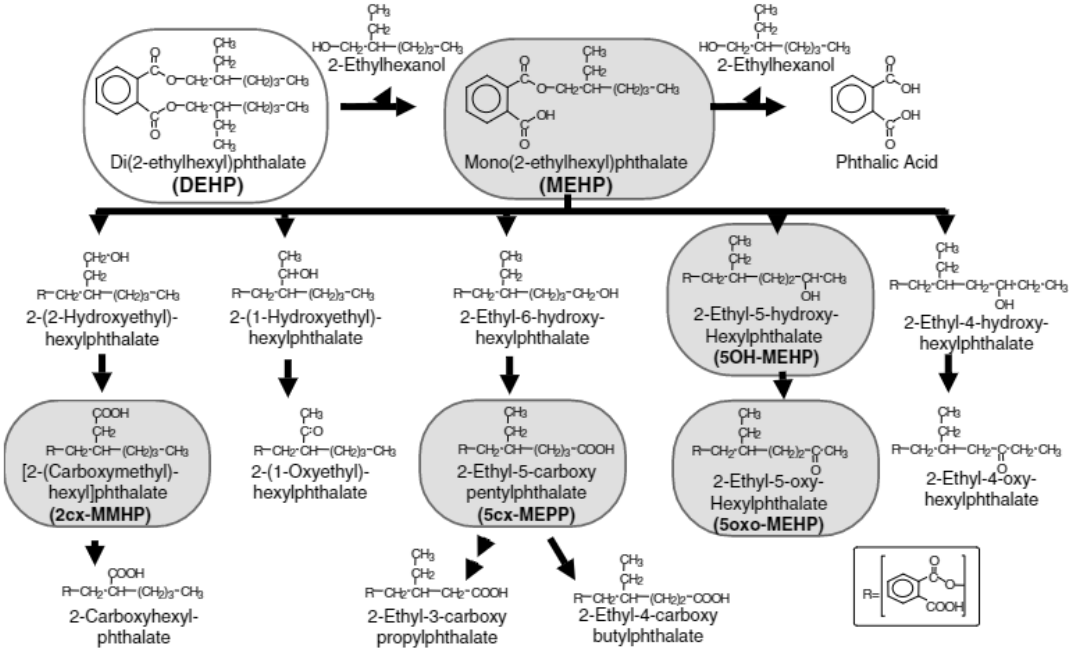
πλαστικοποίηση του PVC, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν διαλύτες και σταθεροποιητές σε καλλυντικά, μελάνια, κόλλες και άλλα προϊόντα καθημερινής χρήσης. Σε ορισμένα προϊόντα έχει ήδη αρχίσει η εφαρμογή του σχεδίου, ωστόσο έχουν καταγραφεί κρούσματα ερεθισμού των ματιών και του δέρματος, αναπνευστικά προβλήματα και υπάρχουν ενδείξεις ότι δρουν επιζήμια σε ζωτικά όργανα όπως στο συκώτι και τους νεφρούς. Τέλος, οι ενώσεις αυτές θα πρέπει να είναι βιοδιασπώμενες και μη-τοξικές για τους υδρόβιους οργανισμούς.



Εικόνα 6. Συγκέντρωση φθαλικών στα ούρα (αριστερά) και ημερήσια πρόσληψη φθαλικών (δεξιά) σε παιδιά και ενήλικες (Katsikantami et al., 2016).

1.2.4 Μεταβολισμός των φθαλικών εστέρων

Όταν τα φθαλικά εισέρχονται στον ανθρώπινο οργανισμό μεταβολίζονται στους αντίστοιχους μονοεστέρες μέσω της υδρόλυσης (πρωτογενείς μεταβολίτες) οι οποίοι μεταβολίζονται περαιτέρω μέσω αντιδράσεων οξείδωσης και υδροξυλίωσης προς σχηματισμό των δευτερογενών μεταβολιτών. Το τελευταίο στάδιο του μεταβολισμού περιλαμβάνει τη σύζευξη με γλυκουρονικό οξύ και την απέκκριση μέσω των ούρων. Στην Εικόνα 7 απεικονίζεται ο μεταβολισμός του DEHP και επισημαίνονται τα προϊόντα του μεταβολισμού που χρησιμοποιούνται ως βιοδείκτες έκθεσης στις μελέτες βιοπαρακολούθησης (Koch et al., 2005). Η τοξικότητα των φθαλικών εστέρων αποδίδεται στην ομοιότητα που έχουν οι μονοεστέρες με τις ορμόνες του ανθρώπινου οργανισμού. Για δεκαετίες οι μελέτες τοξικότητας εστίαζαν στον πρωτογενή μεταβολίτη του DEHP, mono 2-ethylhexyl phthalate (mEHP), ωστόσο διάφορες μελέτες απέδειξαν ότι τα οξειδωμένα προϊόντα του μεταβολισμού είναι έως και 100 φορές πιο τοξικά (Koch et al., 2005).



Εικόνα 7. Σχηματική απεικόνιση του μεταβολισμού του DEHP (Koch et al., 2005).

Πίνακας 2. Πρωτογενείς και δευτερογενείς μεταβολίτες των πιο κοινών φθαλικών εστέρων και ο παράγων απέκκρισης μέσω των ούρων Fue.

Φθαλικοί Εστέρες	Πρωτογενείς Μεταβολίτες	Δευτερογενείς Μεταβολίτες	Fue (μονοεστέρων)	Fue (διεστέρων)	Αναφορά
DMP	mMP		0,690	0,690	Itoh et al., (2007)
DEP	mEP		0,690	0,690	Itoh et al., (2007)
DnBP	mnBP		0,840	0,922	Koch et al., (2012)
		3OH-mnBP ή mHBP	0,069		Koch et al., (2012)
		mCPP	0,048		Koch et al., (2012)
DiBP	miBP		0,703	0,902	Koch et al., (2012)
		2OH-miBP	0,193		Koch et al., (2012)
BBzP	mBzP		0,730	0,730	Itoh et al., (2007)
DEHP	mEHP		0,059	0,670	Koch et al., (2005)
		mEHHP ή 5OH-mEHP	0,150		Koch et al., (2005)
		mEOHP ή 5oxo-mEHP	0,233		Koch et al., (2005)
		mECPP ή 5cx-mEPP	0,185		Koch et al., (2005)
		mCMHP ή 2cx-mMHP	0,042		Koch et al., (2005)
DiNP	miNP		0,021	0,395	Koch and Angerer (2007)
		mHiNP ή OH-miNP ή 7OH-mMeOP	0,184		Koch and Angerer (2007)
		mOiNP ή oxo-miNP ή 7oxo-mMeOP	0,099		Koch and Angerer (2007)

		mCiOP ή cx-miNP ή 7cx-mMeHP	0.090		Koch and Angerer (2007)
		mCiHxP	Μη διαθέσιμο		Koch and Angerer (2007)
DiNP	miDP	mHiDP ή OH-miDP	Μη διαθέσιμο	Μη διαθέσιμο	Kato et al., (2007)
		mOiDP ή oxo-miDP	Μη διαθέσιμο		Kato et al., (2007)
		mCNP ή cx-miDP	Μη διαθέσιμο		Kato et al., (2007)
		mCiPeP	Μη διαθέσιμο		Kato et al., (2007)

Τα δεδομένα για τον μεταβολισμό και την απέκκριση των ρυπαντών από τον οργανισμό προκύπτουν από μελέτες σε ανθρώπους εθελοντές (Koch et al., 2004, 2012) και πειραματόζωα (Kato et al., 2007) στα οποία υπό άκρως ελεγχόμενες συνθήκες χορηγούνται ποσότητες της μητρικής ουσίας. Από τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των μεταβολιτών στα ούρα υπολογίζεται ο παράγων Fue για κάθε ουσία ο οποίος αντιπροσωπεύει το ποσοστό απέκκρισης σε 24 ώρες σε σχέση με την αρχική χορηγούμενη ποσότητα (Πίνακας 2). Οι LMW εστέρες DMP, DEP και BBzP είναι αρκετά πολικές ουσίες και απεκκρίνονται από τον οργανισμό ως πρωτογενείς μεταβολίτες χωρίς περαιτέρω οξείδωση. Όσο μικρότερο είναι το μοριακό βάρος των φθαλικών τόσο ο παράγοντας Fue είναι υψηλότερος.

1.3 Δράση – Τοξικότητα των φθαλικών εστέρων

Ο τρόπος δράσης των φθαλικών εστέρων στο ενδοκρινικό, αναπαραγωγικό, αναπνευστικό, νευρικό και καρδιαγγειακό σύστημα έχει περιγραφεί εκτενώς από τους Tsatsakis et al., 2019.

1.3.1 Αλληλεπίδραση με την θυρεοειδή ορμόνη

Οι ορμονικοί μιμητές συνδέονται με τους υποδοχείς των φυσικών ορμονών με αποτέλεσμα την ενίσχυση, μείωση ή διακοπή της δράσης των φυσικών ορμονών. Ακόμα και μικρές συγκεντρώσεις ορμονών μπορούν να σηματοδοτήσουν σημαντικές βιολογικές λειτουργίες, συνεπώς, η παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων ορμονικών μιμητών δρα αθροιστικά στη συγκέντρωση των φυσικών ορμονών προκαλώντας ενίσχυση του σήματος και μεγαλύτερα αποτελέσματα από τα αναμενόμενα (Gore et al., 2015). Διαταραχές στα επίπεδα της ορμόνης του θυρεοειδή μπορεί να προκαλέσει διαταραχές στην ανάπτυξη του εμβρυϊκού εγκεφάλου με αποτέλεσμα τη νοητική υστέρηση και τη νευρική ανάπτυξη του εμβρύου. Το έμβρυο ξεκινά να παράγει τις δικές του ορμόνες κατά το δεύτερο τρίμηνο της κύησης αλλά συνεχίζει να εξαρτάται από το θυρεοειδή της μητέρας. Ο υποθυρεοειδισμός κατά την εγκυμοσύνη έχει συσχετιστεί με την έκθεση στους φθαλικούς εστέρες και ιδιαίτερα στον DnBP (Huang et al., 2007). Παρόλο που τα δεδομένα από τις μελέτες στους ανθρώπους ποικίλουν, υπάρχει γενική συμφωνία ότι τα φθαλικά μειώνουν την ορμόνη θυροξίνη (T4) και αυξάνουν την ορμόνη διέγερσης του θυρεοειδούς (thyroid-stimulating hormone, TSH).

1.3.2 Αλληλεπίδραση με το αναπαραγωγικό σύστημα

Διάφορες μελέτες συσχετίζουν την έκθεση στα φθαλικά με πρόωρο τοκετό λόγω της διαταραχής που προκαλούν στη λειτουργία του πλακούντα. Η έκθεση της μητέρας στους ρυπαντές κατά την κύηση, πιθανώς να συνδέεται με μειωμένη έκφραση γονιδίων που απαιτούνται για την διαφοροποίηση της τροφοβλάστης και τη στεροειδογένεση στον πλακούντα. Η προγεννητική έκθεση στις ουσίες έχει συσχετιστεί με χαμηλό βάρος κατά την γέννηση και χαμηλό ρυθμό αύξησης του βάρους, χαμηλό ύψος νεογνών και περίμετρο κεφαλής, σε αρσενικά και θηλυκά νεογνά. Ωστόσο, τα δύο φύλα φαίνεται ότι επηρεάζονται με διαφορετικό τρόπο από διαφορετικούς φθαλικούς,

υποδεικνύοντας ότι οι ουσίες έχουν διαφορετική επίδραση ανάλογα με το φύλο (Tsatsakis et al., 2019).

Ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα

Μελέτες βιοπαρακολούθησης σε ανθρώπους συσχετίζουν την έκθεση στα φθαλικά με μειωμένη ποιότητα σπέρματος και μειωμένα επίπεδα φυλετικών ορμονών προκαλώντας προβλήματα γονιμότητας κατά την αναπαραγωγική ηλικία. Φαίνεται ότι επηρεάζονται οι φυλετικές ορμόνες (sex hormone-binding globulin, SHBG), ωχρινοτρόπος ορμόνη (luteinizing hormone, LH), θυλακιοτρόπος ορμόνη (follicle-stimulating hormone, FSH) και η ελεύθερη τεστοστερόνη (free serum testosterone) και η σφαιρίνη που τις δεσμεύει. Ωστόσο, κάθε φθαλικός φαίνεται ότι επηρεάζει με διαφορετικό τρόπο κάθε παράγοντα. Για παράδειγμα, οι πρωτογενείς μεταβολίτες mEP και mnBP συσχετίζονται με βλάβη στο DNA του σπέρματος ενώ οι δευτερογενείς μεταβολίτες του DEHP και ο mBzP συσχετίζονται θετικά με την ωριμότητα του σπέρματος και μαζί με τον miNP έχουν συσχετιστεί με αλλαγές στη μορφολογία (Axelsson et al., 2015; Hauser et al., 2006; Jurewicz et al., 2013).

Ένας άλλος δείκτης στα έμβρυα και τα νεογνά είναι η πρωκτογεννητική απόσταση (anogenital distance-AGD), ο οποίος φυσιολογικά είναι μεγαλύτερος στα αρσενικά σε σχέση με τα θηλυκά. Η παρουσία των μεταβολιτών mnBP, mEHHP, mEOHP, mBzP και miBP στο αμνιακό υγρό και τα ούρα των εγκύων γυναικών έχει συσχετιστεί με μικρότερο AGD στα αρσενικά βρέφη (Huang et al., 2009; Swan et al., 2005). Έκθεση νεαρών αγοριών σε συγκεκριμένα φθαλικά έχει συσχετιστεί με καθυστέρηση της εφηβικής ανάπτυξης και χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης στον ορό του αίματος (Shi et al., 2015; Zhang et al., 2015a). Είναι εμφανές ότι τόσο η ενδομήτρια έκθεση όσο και η έκθεση κατά την παιδική ηλικία στους ρυπαντές είναι εξίσου σημαντικοί παράγοντες καθώς η ανάπτυξη των γεννητικών οργάνων ξεκινά υπό την επίδραση των ανδρογόνων κατά το πρώτο και δεύτερο τρίμηνο κύησης και συνεχίζεται μέχρι την εφηβεία. Η έναρξη της εφηβείας στα αρσενικά καθορίζεται από τα ανδρογόνα και περιλαμβάνει

έκκριση πρωτεϊνών και ορμονών τα οποία σηματοδοτούν την απελευθέρωση των LH και FSH ορμονών οι οποίες ακολούθως προκαλούν σεξουαλική ωρίμανση και σπερματογένεση (Gore et al., 2015).

Γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα

Διαταραχές στις θηλυκές φυλετικές ορμόνες μπορεί να οδηγήσουν σε προβλήματα γονιμότητας, καρδιαγγειακή και πνευμονική δυσλειτουργία καθώς ρυθμίζουν την ανοσολογική απόκριση στο άσθμα και παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανοσολογική φλεγμονή των αεραγωγών (Sathish and Prakash, 2016). Έκθεση των αρουραίων σε DEHP κατά την κύηση προκάλεσε μείωση στη σύνθεση της οιστραδιόλης, καθυστέρηση στην εξέλιξη της μίτωσης των γεννητικών κυττάρων στο έμβρυο και βλάβη στην ανάπτυξη των ωοθηκών (Zhang et al., 2015b). Ο μεταβολίτης του DEHP, MEHP, επηρέασε τη σύνθεση των στεροειδών ορμονών με αποτέλεσμα την πρόκληση τοξικότητας στις ωοθήκες, διακοπή της σύνθεσης των οιστρογόνων και ανισορροπία στον άξονα υποθάλαμος-βλεννογόνο-ωοθήκες (Liu et al., 2014).

Ορισμένες μελέτες συσχετίζουν την έκθεση νεαρών κοριτσιών στους DMP, DEP, DnBP και DEHP με πρόωρη έναρξη της εφηβείας (Zhang et al., 2015a), ενώ άλλες βρίσκουν ότι ορισμένοι φθαλικοί (DEHP, DnBP, BBzP, DiNP) προκαλούν καθυστέρηση στην έναρξη της εφηβείας ή καμία συσχέτιση. Τα αποτελέσματα από μελέτες σε πειραματόζωα είναι επίσης αντικρουόμενα, το οποίο υποδεικνύει την ανάγκη για περεταίρω έρευνα. Τα ευρήματα σχετικά με την πιθανότητα εμφάνισης γυναικολογικών προβλημάτων όπως ενδομητρίωση και ινομυώματα επίσης ποικίλουν. Ορισμένες μελέτες δείχνουν ότι γυναίκες με ενδομητρίωση ήταν επιβαρυμένες με υψηλότερες συγκεντρώσεις μεταβολιτών των DEHP και DnBP σε σύγκριση με τις μη πάσχουσες. Ωστόσο, υπάρχουν αναφορές και για αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης και της συχνότητας εμφάνισης των ανωμαλιών. Αν και ο μηχανισμός δράσης δεν είναι πλήρως γνωστός, προτείνεται ότι ο DEHP αυξάνει την ζωτικότητα των ενδομήτριων κυττάρων το οποίο προδιαθέτει την

εμφάνιση της ενδομητρίωσης. Η αντι-ανδρογονική δράση των φθαλικών και ιδιαίτερα των DnBP, BBzP και DEHP φαίνεται ότι επηρεάζει και τις γυναίκες, προκαλώντας χαμηλότερα επίπεδα τεστοστερόνης, αυξημένες πιθανότητες για σύλληψη και μειωμένη συχνότητα εμφάνισης του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών.

1.3.3 Αλληλεπίδραση με το αναπνευστικό σύστημα

Σύμφωνα με μελέτες, όταν συμβεί ταυτόχρονη έκθεση στον DEHP και σε ένα αλλεργιογόνο, ο DEHP αυξάνει τα επίπεδα των ανοσολογικών και των φλεγμονωδών δεικτών και εμπλέκεται στην παθογένεση του άσθματος σε ζώα και ανθρώπους. Αλλεργικά συμπτώματα και άσθμα σε παιδιά έχει συνδεθεί με προγεννητική και μεταγεννητική έκθεση σε συγκεκριμένους φθαλικούς. Υψηλή μητρική έκθεση στους BBzP και DEHP κατά την εγκυμοσύνη αυξάνει κατά πέντε φορές την συχνότητα εμφάνισης φτερνίσματος σε αγόρια και αυξημένα επίπεδα IgE σε παιδιά ηλικίας 8 ετών. Το φτέρνισμα είναι ένα από τα πρόωρα συμπτώματα του άσθματος και οφείλεται στην στένωση των αεραγωγών στους πνεύμονες σαν αποτέλεσμα φλεγμονής. Προγεννητική έκθεση στους DiBP και DiNP έχει συσχετιστεί με έκζεμα και υψηλά επίπεδα IgE σε νεαρά αγόρια ηλικία μικρότερης ή μεγαλύτερης των 2 ετών (Schmidt, 2018). Έχει βρεθεί ότι τα παιδιά που κοιμούνται σε υπνοδωμάτια με σκόνη και αέρα μολυσμένα με DEP, BBzP και DEHP υποφέρουν συχνότερα από άσθμα, ρινίτιδα και έκζεμα και οι αντίστοιχοι μεταβολίτες ανιχνεύονται στα ούρα τους. Παρόμοια είναι και τα ευρήματα για τους ενήλικες. Έκθεση στους BBzP και DEHP έχει συσχετιστεί με αναπνευστικά προβλήματα και αλλεργικά συμπτώματα όπως φτέρνισμα, άσθμα, πυρετός και ρινίτιδα (Bertelsen et al., 2013; Bornehag et al., 2004; Carlstedt et al., 2013; Hoppin et al., 2013; Ku et al., 2015; Larsson et al., 2010; Shu et al., 2014).

1.3.4 Αλληλεπίδραση με το νευρικό σύστημα

Οι περιοχές του εγκεφάλου δρουν ως ένας ενδοκρινικός αδένας. Συγκεκριμένες ομάδες νευρώνων εκκρίνουν τις νευρο-ορμόνες με τον συνήθη ενδοκρινικό μηχανισμό. Αυτή η νευρο-ενδοκρινική περιοχή είναι ο υποθάλαμος ο οποίος συνδέει το νευρικό με το ενδοκρινικό σύστημα και εμπλέκεται στην προσαρμογή του σώματος στο περιβάλλον και στη ρύθμιση διάφορων περιφερειακών ενδοκρινικών συστημάτων μέσω της έκφρασης στεροειδογόνων ενζύμων (steroidogenic enzymes) και την έκκριση των ορμονών του υποθαλάμου (Gore et al., 2015). Ο εγκέφαλος είναι στόχος των ενδοκρινικών διαταρακτών με δύο τρόπους: α) διατάραξη των νευροενδοκρινικών διεργασιών του υποθαλάμου και β) δράση των ρυπαντών στους υποδοχείς των στεροειδών ορμονών και σε σηματοδοτικά μονοπάτια (π.χ. στεροειδογένεση). Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες παρεμβάλλονται στις διεργασίες του υποθαλάμου και επηρεάζουν την έκφραση, αφθονία και διανομή των υποδοχέων των στεροειδών ορμονών.

Νευρολογικές διαταραχές και συμπεριφορικά σύνδρομα σε παιδιά ηλικίας μεταξύ 6 και 10 χρονών, όπως επιθετική συμπεριφορά, μαθησιακές δυσκολίες και νοητική υστέρηση έχουν συσχετιστεί με προγεννητική έκθεση σε διαταράκτες συμπεριλαμβανομένου και τα φθαλικά. Οι DnBP και DEHP έχουν συσχετιστεί με χαμηλή ικανότητα συγκέντρωσης, παράνομη και επιθετική συμπεριφορά (Arbuckle et al., 2016; Kobrosly et al., 2014; Lien et al., 2015; Park et al., 2014). Έκθεση στον DEHP κατά την εγκυμοσύνη έχει συσχετιστεί θετικά με πονοκέφαλο και λιγότερο άγχος σε κορίτσια (Kobrosly et al., 2014). Αν και ο δείκτης νοημοσύνης IQ εξαρτάται από κληρονομικούς και κοινωνικούς παράγοντες, προγεννητική έκθεση στους DEHP, DnBP και DiBP έχει συσχετιστεί αντίστροφα με λεκτική κατανόηση, ταχύτητα επεξεργασίας και μνήμη (Cho et al., 2010; Factor-Litvak et al., 2014). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, διαταραχές στη λειτουργία του θυρεοειδή της μητέρας κατά την εγκυμοσύνη μπορεί να οφείλεται στην έκθεση στους ενδοκρινικούς διαταράκτες και προκαλεί ανεπαρκή νευροανάπτυξη, νευροφυσικές διαταραχές και νοητική υστέρηση σε παιδιά. Έκθεση κατά την παιδική ηλικία έχει συνδεθεί με μαθησιακά προβλήματα και προβλήματα στην συμπεριφορά.

Διάφορες μελέτες υποδεικνύουν συσχετίσεις μεταξύ της έκθεσης στα φθαλικά και ορισμένες διαταραχές όπως ο αυτισμός (Autism Spectrum Disorder, ASD) και διαταραχή ελλειμματικής προσοχής και υπερκινητικότητας (Attention Deficit Hyperactivity Disorder, ADHD). Η παρουσία των DEHP, DnBP και DiBP στα ούρα παιδιών έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αυτών των διαταραχών (Arbuckle et al., 2016; Park et al., 2014; Stein et al., 2013). Παρόλο που οι μηχανισμοί δεν είναι πλήρως γνωστοί, υπάρχουν ενδείξεις ότι σε άτομα με αυτισμό το μεταβολικό μονοπάτι της γλυκουρονιδίωσης παραλείπεται με αποτέλεσμα οι ουσίες να παραμένουν τοξικές για τον οργανισμό.

1.3.5 Αλληλεπίδραση με το καρδιαγγειακό σύστημα

Σε ασθενείς και ιδιαίτερα παιδιά ηλικίας μικρότερη του ενός έτους, των οποίων το μεταβολικό μονοπάτι της γλυκουρονιδίωσης δεν είναι πλήρως ανεπτυγμένο, η έκθεση στα φθαλικά παρατείνεται λόγω της πιο αργής αππέκκρισης από τον οργανισμό. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα η έκθεση του ασθενή να ξεπεράσει τα ασφαλή επίπεδα από 4.000 έως 160.000 φορές (Jaimes et al., 2017). Έρευνες δείχνουν ότι η έκθεση σε περιβαλλοντικούς ρύπους κατά τα πρώτα χρόνια της ζωής είναι πιθανό να διακόψει ενδοκρινικές διαδικασίες, μεταβολικά μονοπάτια και να συνεισφέρει σε δυσμενή καρδιοαγγειακά προφίλ (Trasande et al., 2013). Παιδιά ηλικίας 6-19 χρονών στις ΗΠΑ συμμετείχαν σε έρευνα (National Health and Nutrition Examination Survey, 2009–2012) κατά την οποία οι μεταβολίτες των φθαλικών DEHP, DiNP και DiDP στα ούρα συσχετίστηκαν με υψηλή πίεση αίματος (Trasande and Attina, 2015). Έρευνες σε πειραματόζωα προσπαθούν να αποσαφηνίσουν την καρδιαγγειακή τοξικότητα των φθαλικών και υποδεικνύουν συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης στον DEHP και μειωμένος καρδιακός ρυθμός, αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων των καρδιακών ενζύμων τα οποία ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο, την έκκριση ινσουλίνης, την

περίσταλση και εμπλέκονται στην αγγειογένεση και νευρική ανάπτυξη (Jaimes et al., 2017).

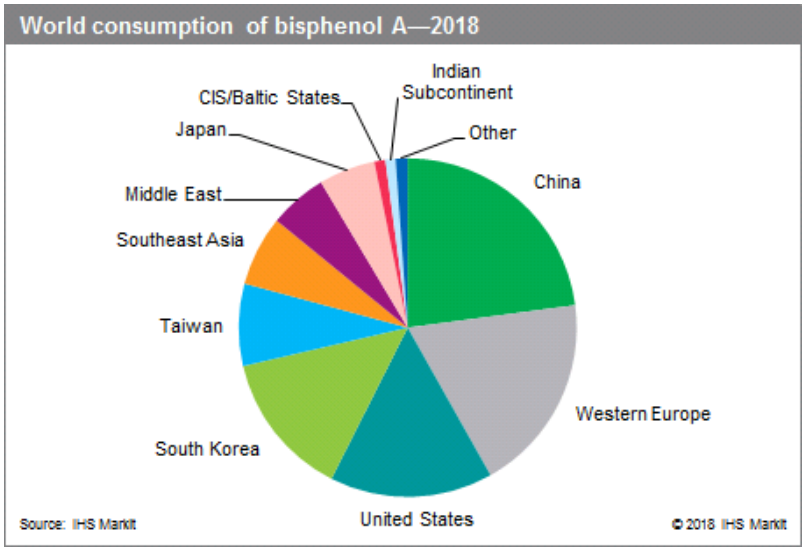
1.4 Η Δισφαινόλη-Α

1.4.1 Εφαρμογές και πηγές έκθεσης για τον άνθρωπο

Η σύνθεση της δισφαινόλης Α (bisphenol A, BPA) χρονολογείται το 1891 και η ανακάλυψη για την δράση της ως οιστρογόνο ήρθε το 1936 (Dodds and Lawson, 1936). Υπολογίζεται ότι είναι το χημικό με την μεγαλύτερη παραγωγή ετησίως με παραγωγή για το 2013, περίπου 7 εκατομμύρια τόνοι (15 δισεκατομμύρια λίβρες) (vom Saal and Welshons, 2014). Χρησιμοποιείται στη βιομηχανία ως πρόσθετο σε μεγάλη ποικιλία προϊόντων και υλικών κυρίως από πολυκαρβονικό, όπως συσκευασίες τροφίμων και αναψυκτικών, παιχνίδια, εποξειδικές ρητίνες, υλικά οδοντιατρικής, ηλεκτρονικά και θερμικές αποδείξεις (Biles et al., 1997; Li et al., 2013; Vom Saal and Welshons, 2014; Vandenberg et al., 2007; Zalko et al., 2011). Η παγκόσμια ζήτηση για BPA καθορίζεται από τη ζήτηση για ρητίνες πολυκαρβονικού. Το 2018 το 64% της ουσίας καταναλώθηκε για την παραγωγή πολυκαρβονικών πλαστικων τα οποία είχαν εφαρμογή στα ηλεκτρονικά, στις κατασκευές και την αυτοκινητοβιομηχανία. Η βορειοανατολική Ασία, λόγω της Κίνας, έχει καθοριστικό ρόλο στην βιομηχανία της BPA καθώς αντιστοιχεί στο 50% της παγκόσμιας κατανάλωσης (Εικόνα 8). Την τελευταία πενταετία, έχει σημειωθεί ετήσια αύξηση κατά 2,5% στην παγκόσμια κατανάλωση της ουσίας και αναμένεται να αυξηθεί στο 3,6% ετησίως έως το 2023. Η Δυτική Ευρώπη και οι ΗΠΑ είναι επίσης σημαντικοί παράγοντες στην αγορά της BPA, ωστόσο, αναμένεται ότι και οι δύο θα παρουσιάσουν μείωση στη ζήτηση τα επόμενα χρόνια, λόγω των δυσμενών επιπτώσεων της ουσίας στην ανθρώπινη υγεία και την επιβολή αυστηρής νομοθεσίας.

Όπως συμβαίνει και με τα φθαλικά, τρόφιμα τα οποία έρχονται σε επαφή με τα υλικά που περιέχουν την ουσία επιμολύνονται και αυτά, ιδιαίτερα όταν δεν τηρούνται οι σωστές συνθήκες αποθήκευσης όπως υψηλή θερμοκρασία ή

αλλοίωση του υλικού εξαιτίας της συχνής και επαναλαμβανόμενης χρήσης. Σύμφωνα με την έρευνα *National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2004* (NHANES 2003-2004) που πραγματοποίησε το Κέντρο ελέγχου και πρόληψης ασθενειών (Center for Disease Control and Prevention, CDC), λόγω της ευρείας χρήσης της BPA, το 93% των Αμερικάνων από ηλικία 6 ετών και πάνω (2.517 δείγματα ούρων) έχουν ανιχνεύσιμη ποσότητα από την ουσία στα ούρα τους (Calafat et al., 2008; Völkel et al., 2002).



Εικόνα 8. Παγκόσμια κατανάλωση BPA για το 2018. (https://ihsmarkit.com/products/bisphenol-chemical-economics-handbook.html)

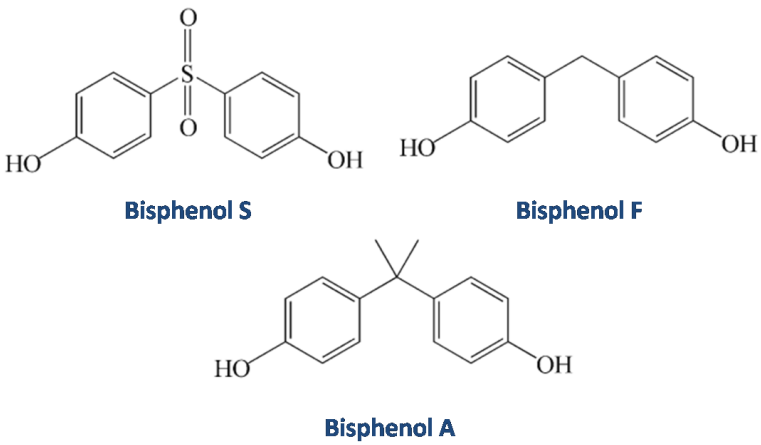
1.4.2 Νομοθεσία

Λόγω της ανησυχίας του καταναλωτικού κοινού για την ουσία, η Ευρωπαϊκή Ένωση και ο Καναδάς έχουν απαγορεύσει τη χρήση πολυκαρβονικών ρητίνων για την κατασκευή μπουκαλιών σίτισης για μωρά (Οδηγία 2011/8/EU). Στις ΗΠΑ όμως δεν υπάρχει επίσημη απαγόρευση της ουσίας. Στην Ευρώπη, σύμφωνα με το νόμο EU 10/2011 καθώς και στις ΗΠΑ και την Ιαπωνία, επιτρέπεται η χρήση της BPA σε πλαστικά σκεύη που

έρχονται σε επαφή με τρόφιμα. Σύμφωνα με την US EPA, το ασφαλές όριο έκθεσης στην ουσία για τους ενήλικες είναι 50 μg/kg/day, ενώ σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (European Food Safety Agency, EFSA), το ανώτατο επιτρεπτό όριο ανθρώπινης έκθεσης είναι τα 4 μg/kg/day (https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol). Το 2006, η EFSA πραγματοποίησε για πρώτη φορά μια ολοκληρωμένη εκτίμηση του κινδύνου για την ουσία και υιοθέτησε το όριο των 50 μg/kg/day. Τον Ιανουάριο 2015, έγινε ξανά εκτίμηση της τοξικότητας της ουσίας και το ανώτατο όριο έκθεσης μειώθηκε στα 4 μg/kg/day. Τον Δεκέμβριο 2017, η επιστημονική ομάδα της EFSA ενέκρινε πρωτόκολλο για την επανεκτίμηση των κινδύνων λόγω της έκθεσης στην BPA το οποίο ξεκίνησε να υλοποιείται το 2018.

1.4.3 Υποκατάστατα της δισφαινόλης-Α

Σαν αποτέλεσμα της ανησυχίας και των νομοθετικών ρυθμίσεων, εναλλακτικές ουσίες οι οποίες θεωρούνται λιγότερο τοξικές αντικαθιστούν σταδιακά τη χρήση της BPA. Τα χημικά αυτά έχουν παρόμοια δομή με την BPA και συχνά αναφέρονται ως ανάλογα δισφαινόλης (bisphenol analogues). Αν και έχουν ελεγχθεί συνολικά 16 εναλλακτικές ουσίες για βιομηχανική χρήση, οι BPF (4,4′-methylenediphenol), BPS (4-hydroxyphenyl sulfone) και BPAF (4,4′-hexafluoroisopropylidene diphenol) είναι τα κυριότερα υποκατάστατα της BPA στη βιομηχανία των πολυκαρβονικών πλαστικών και επόξυ ρητινών (Εικόνα 9). Οι εργαστηριακές μελέτες έδειξαν ότι πολλά ανάλογα δισφαινόλης παρουσιάζουν ενδοκρινική δραστικότητα, κυτταροτοξικότητα, γενοτοξικότητα, αναπαραγωγική τοξικότητα και νευροτοξικότητα (Chen et al., 2016). Ωστόσο, οι επιδημιολογικές μελέτες που συσχετίζουν την έκθεση με αρνητικές επιδράσεις στην υγεία είναι περιορισμένες.



Εικόνα 9. Δομές των BPS, BPF και BPA.

1.4.4 Η δισφαινόλη-Α στο ανθρώπινο σώμα

Όταν η δισφαινόλη-Α εισέρχεται στο ανθρώπινο σώμα, μεταβολίζεται πολύ γρήγορα σε μη ενεργές μορφές που έχουν χρόνο ημιζωής 4-5 ώρες σε ενήλικο άτομο, ενώ στα έμβρυα και τα βρέφη ο ρυθμός μεταβολισμού είναι πιο αργός (Gerona et al., 2013; Patterson et al., 2013). Όταν η ουσία εισέρχεται μέσω της κατάποσης, μεταβολίζεται στο έντερο ή το ήπαρ προς τον κύριο μεταβολίτη της που είναι η μονο-γλυκουρονιδιωμένη της μορφή (BPA-monoglucuronide) και απομακρύνεται γρήγορα από το αίμα μέσω των νεφρών (Völkel et al., 2002; Dekant and Völkel, 2008). Ωστόσο, η συνεχής έκθεση στην BPA και η τάση της να αποθηκεύεται στο λιπώδη ιστό μπορεί να αποτελέσει σε χρόνια έκθεση (Melzer et al., 2010). Η τρίχα θεωρείται το κατάλληλο βιολογικό υπόστρωμα για την ανίχνευση της αποθηκευμένης ουσίας στον οργανισμό και να προσδιοριστεί έτσι η μακροχρόνια έκθεση (Tzatzarakis et al., 2015).

Σε μια προσπάθεια μετατροπής της συγκέντρωσης της BPA στα ούρα σε ημερήσια πρόσληψη ανά βάρος σώματος, η ερευνητική ομάδα Geens et al., (2015) χρησιμοποίησε την εξίσωση (1), με την παραδοχή ότι το 100% της

ουσίας απεκκρίνεται μέσω των ούρων και ότι ολοκληρώνεται μετά από 24 ώρες (Völkel et al., 2002):

DI (μg/kg/day) = UC (μg/L) x UV (L/day)/BW (kg) *Εξίσωση (1)*

Όπου UC (μg/L) η συγκέντρωση της ολικής BPA στα ούρα, UV (L) ο όγκος των ούρων σε 24 ώρες και BW (kg) το σωματικό βάρος.

Έρευνες στη βιβλιογραφία που πραγματοποιούνται σε πειραματόζωα (αρουραίους) μελετούν την τύχη της BPA στον οργανισμό μετά από ελεγχόμενη χορήγηση της επισημασμένης ουσίας μέσω της κατάποσης. Σύμφωνα με τους Kurebayashi et al., (2003), μετά από 24 ώρες εφάπαξ χορήγησης, η ουσία ανιχνεύτηκε σε ποσοστό 6,3% στα ούρα και 49,3% στα κόπρανα. Δηλαδή, μετά από 24 ώρες απεκκρίθηκε το 55,7% της χορηγούμενης δόσης, ενώ μετά από 48 ώρες είχε αποβληθεί από τον οργανισμό το 91,8% (Πίνακας 3). Οι μορφές της ουσίας που απεκκρίνονται μέσω των ούρων σε 24 ώρες είναι 0,6% BPA, 2,6% ο γλυκουρονιδιωμένος μεταβολίτης (BPA-glucuronidated) και 0,2% η σουλφονιωμένη μορφή (BPA-sulphonate), ενώ στα κόπρανα ανιχνεύτηκε μόνο η ενεργή μορφή σε ποσοστό 61% της χορηγούμενης δόσης (Πίνακας 4). Παρόμοια έρευνα κατέληξε επίσης στο συμπέρασμα ότι η κύρια οδός απομάκρυνσης της BPA από τον οργανισμό είναι τα κόπρανα σε ποσοστό από 65 έως 78% της χορηγούμενης δόσης, ενώ για τα ούρα η μέση απέκκριση είναι από 14 έως 22% (Domoradzki et al., 2003). Συνεπώς, για τον υπολογισμό της ημερήσιας έκθεσης μέσω των συγκεντρώσεων στα ούρα, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη το ποσοστό απέκκρισης της ουσίας μέσω των ούρων, να εισέλθει δηλαδή ένας ακόμα παράγοντας στην εξίσωση 1.

Στη μελέτη των Genuis et al., (2012), μελετήθηκε η απέκκριση της BPA σε τρία διαφορετικά ανθρώπινα βιολογικά υποστρώματα, το αίμα, τα ούρα και τον ιδρώτα. Στο 80% των συμμετεχόντων, η ουσία ανιχνεύτηκε στον ιδρώτα, ενώ υπήρχαν άτομα για τα οποία η ουσία υπήρχε στον ιδρώτα αλλά όχι στα άλλα υποστρώματα. Οι συγγραφείς συμπέραναν ότι η βιοπαρακολούθηση της BPA μέσω του αίματος ή/και των ούρων μπορεί να υποτιμά τη συνολική επιβάρυνση στην ουσία. Η χρήση του ιδρώτα στη βιοπαρακολούθηση παρέχει

πληροφορίες σχετικά με την μακροχρόνια έκθεση, ωστόσο η τρίχα είναι πιο κατάλληλο υπόστρωμα λόγω της εύκολης συλλογής των δειγμάτων και σε μεγάλες ποσότητες.

Πίνακας 3. Ποσοστό απέκκρισης της επισημασμένης ^{14}C-BPA στα ούρα και τα κόπρανα αρουραίων, μετά από από-του-στόματος χορήγηση συγκέντρωσης 0,10 mg/kg (Kurebayashi et al., 2003).

Χρόνος (ώρες)	Ούρα	Κόπρανα	Σύνολο
0-24	6,3 ± 1,1	49,3 ± 2,1	55,7 ± 2,8
24-48	3,8 ± 1,0	32,3 ± 2,1	36,1 ± 3,0
Ολικό	10,1 ± 1,6	81,6 ± 3,7	91,8 ± 5,0

Πίνακας 4. Ποσοστό απέκκρισης της BPA και των μεταβολιτών της σε ούρα και κόπρανα αρρουραίων, μετά από από-του-στόματος χορήγηση συγκέντρωσης 100 mg/kg (Kurebayashi et al., 2003).

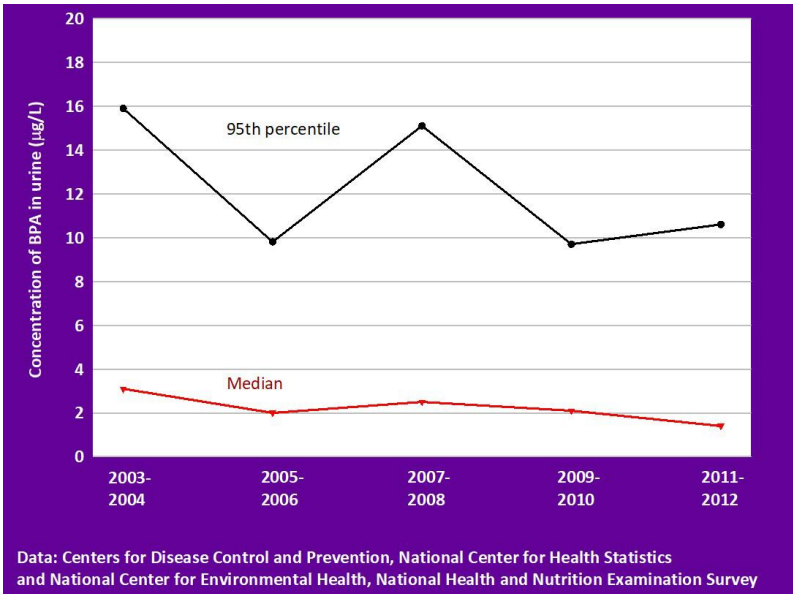
Υπόστρωμα	Χρόνος (ώρες)	BPA	BPA-gluc	BPA-sulfate
Ούρα	0-24	0,6 ± 1,0	2,6 ± 0,4	0,2 ± 0,2
	24-48	0,4 ± 0,3	2,4 ± 0,2	0,1 ± 0,1
	48-72	0,1 ± 0,1	1,5 ± 0,2	ND
	0-72	1,1 ± 1,2	6,5 ± 0,6	0,3 ± 0,3
Κόπρανα	0-72	61 ± 11	ND	ND

ND, not detected (<0,1)

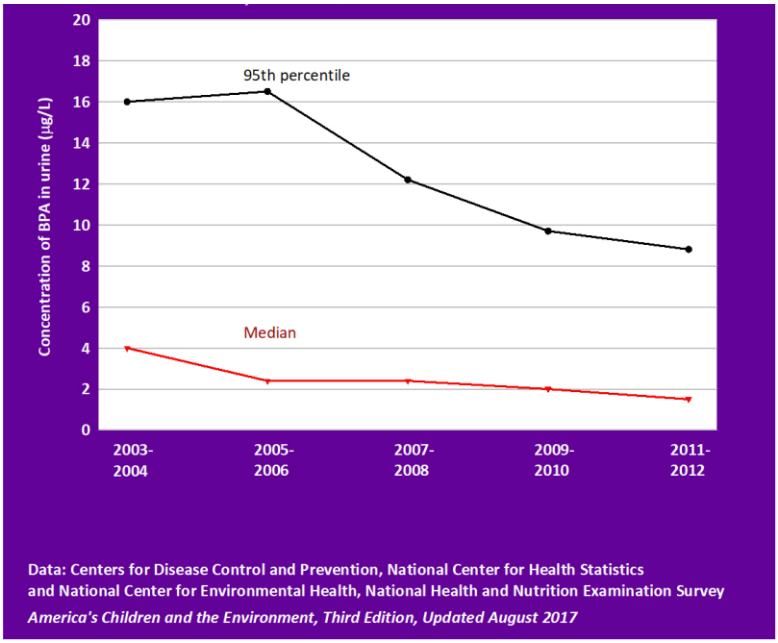
Οι μετρήσεις της ενεργής και συνεπώς τοξικής μορφής της ελεύθερης BPA σε βιολογικά δείγματα είναι αμφιλεγόμενες καθώς ορισμένες μελέτες προσδιορίζουν συγκεντρώσεις της τάξης των nano-γραμμαρίων ανά χιλιοστόλιτρο (Gerona et al., 2013; Liao and Kannan 2012; Veiga-Lopez et al., 2015), ενώ άλλες αναφέρουν pico-γραμμάρια ανά χιλιοστόλιτρο ή και χαμηλότερα (Teeguarden et al., 2013). Στην πλειοψηφία τους, οι

αναφερόμενες συγκεντρώσεις της BPA στα ούρα αντιπροσωπεύουν την «ολική BPA», η οποία περιλαμβάνει την ελεύθερη μορφή και τους μη τοξικούς μεταβολίτες της. Στην επιστημονική κοινότητα υπάρχει «διαμάχη», σχετικά με τη δυνατότητα της ουσίας να μετατρέπεται από την μη τοξική μορφή της στην ενεργή σε διάφορους ιστούς (Goodman and Peterson, 2014). Μελέτες του 2010 (Balakrishnan et al., 2010; Nishikawa et al., 2010) επισήμαναν τη δυνατότητα αυτής της μετατροπής όταν η ουσία διαπερνά τον πλακούντα, αυξάνοντας έτσι τον κίνδυνο για το έμβρυο.

Στη μελέτη NHANES 2003-2012, η οποία διεξήχθη σε πέντε κύκλους (2003-2004, 2005-2006, 2007-2008, 2009-2010, 2011-2012), προσδιορίστηκε η συγκέντρωση της BPA σε ούρα αμερικάνικου πληθυσμού ηλικίας μεγαλύτερης από 6 ετών (536 γυναίκες 16 έως 49 ετών, 852 παιδιά ηλικία; 6 έως 17 ετών). Οι διάμεσες συγκεντρώσεις που ανιχνεύτηκαν σε κάθε κύκλο φαίνονται στην Εικόνα 10 για τις γυναίκες και στην Εικόνα 11 για τα παιδιά (Goodman and Peterson, 2014). Από τον πρώτο μέχρι τον τελευταίο κύκλο, η διάμεση συγκέντρωση της ουσίας παρουσίασε στατιστικά σημαντική μείωση από τα 3 μg/L στο 1 μg/L για τον ενήλικο πληθυσμό και από τα 4 μg/L στα 2 μg/L για τα παιδιά. Η μείωση αυτή, όπως και στην περίπτωση των φθαλικών, μπορεί να ερμηνευτεί από το γεγονός ότι λόγω της επιβολής αυστηρής νομοθεσίας, οι χώρες της Ευρώπης και της Αμερικής τείνουν να μειώσουν την χρήση της BPA και να την αντικαταστήσουν με ανάλογες και λιγότερο τοξικές ουσίες.



Εικόνα 10. Συγκέντρωση BPA στα ούρα γυναικών ηλικίας 16 έως 49 ετών κατά τα έτη 2003-2012 (Goodman and Peterson, 2014).



Εικόνα 11. Συγκέντρωση BPA στα ούρα παιδιών ηλικίας 6 έως 17 ετών κατά τα έτη 2003-2012 (Goodman and Peterson, 2014).

1.5 Δράση – Τοξικότητα της δισφαινόλης-Α

Σύμφωνα με την EFSA, ως ενδοκρινικοί διαταράκτες ορίζονται οι ουσίες οι οποίες προκαλούν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία μέσω της αλληλεπίδρασης ή της παρεμβολής τους στην λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος. Σύμφωνα με τον WHO, τα κριτήρια για να είναι μια ουσία ενδοκρινικός διαταράκτης είναι τρία:

a. Η ύπαρξη μιας αρνητικής επίδρασης
b. Η παρουσία ενδοκρινικής δραστηριότητας
c. Να υπάρχει αιτιώδης σχέση μεταξύ των a και b.

Η επιστημονική ομάδα της EFSA, το 2015, εξέτασε τις μελέτες στη βιβλιογραφία μέχρι το τέλος του 2012 και λαμβάνοντας υπόψη τα τρία παραπάνω κριτήρια, διαπίστωσε ότι τα δεδομένα δεν επαρκούν για το χαρακτηρισμό της BPA ως ενδοκρινικό διαταράκτη, αλλά μπορεί να χαρακτηριστεί ως ουσία με πιθανή ενδοκρινική δράση (https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol). Επιπλέον, μελετήθηκε η επίδραση που μπορεί να έχει στον οργανισμό σε χαμηλές δόσεις («low dose effect»), ωστόσο, η καμπύλη μεταξύ της χορηγούμενης δόσης και της επίδρασης στην υγεία ήταν μονότονη, σε αντίθεση με τις μη-μονότονες καμπύλες που δίνουν συνήθως οι ενδοκρινικοί διαταράκτες (Gore et al., 2015).

Παρ' όλ' αυτά, υπάρχουν μελέτες οι οποίες αναφέρουν ότι η ουσία είναι ενδοκρινικός διαταράκτης με οιστρογονική δραστηριότητα, επηρεάζει τους κυτταρικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς, εμποδίζει τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και διακόπτει τη διαφοροποίηση των κυττάρων (Alonso-Magdalena et al., 2012; Hotchkiss et al., 2008). Η BPA ανήκει στις ουσίες που έχουν μελετηθεί για επιγενετικές επιδράσεις ιδιαίτερα λόγω μεθυλίωσης του DNA σε ανθρώπους και πειραματόζωα (Anderson et al., 2012; Dolinoy et al., 2007; Ho et al., 2006; Kim et al., 2013a; Susiarjo et al., 2013; Tang et al., 2012). Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι επιδράσεις στην υγεία λόγω της έκθεσης στην BPA είναι κληρονομικές, ωστόσο οι πληροφορίες δεν επαρκούν και απαιτείται περαιτέρω έρευνα.

1.5.1 Αλληλεπίδραση με την θυρεοειδή ορμόνη

Ο έλεγχος της λειτουργίας του θυρεοειδή αδένα γίνεται με τη μέτρηση της συγκέντρωσης των θυρεοειδών ορμονών. Η TSH ελευθερώνεται σαν αποτέλεσμα σηματοδότησης του εγκεφάλου και δρα στον θυρεοειδή για την παραγωγή των T3 (triidothyronine) και T4 (thyroxine). Μελέτες βιοπαρακολούθησης της BPA συσχετίζουν την έκθεση στην ουσία με χαμηλότερα επίπεδα TSH και T4 στην κυκλοφορία του αίματος (Meeker et al., 2010a; Meeker and Ferguson, 2011; Wang et al., 2013b), ενώ υπάρχουν αναφορές για αύξηση στη συγκέντρωση της T3 (Wang et al., 2012, 2013b). Σε άτομα με αυξημένη λειτουργία του θυρεοειδή προσδιορίστηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις της ουσίας σε σχέση με άτομα με χαμηλότερη λειτουργία του αδένα (Wang et al., 2013b) ενώ εμφανίζεται να είναι υψηλότερη σε πληθυσμό με υψηλό σωματικό βάρος και δείκτη μάζας σώματος (Mansourian, 2010). Παρόλο που η λειτουργία του θυρεοειδή συνδέεται με το σωματικό βάρος, δεν είναι ακόμα γνωστό με ποιο τρόπο εμπλέκεται η BPA.

Η λειτουργία του θυρεοειδή είναι πολύ σημαντική στα νεογνά και τα έμβρυα. Η ασθενής συσχέτιση μεταξύ της μητρικής έκθεσης στην ουσία και της μειωμένης λειτουργίας του αδένα που βρέθηκε από τους Brucker-Davis et al., (2011) ενισχύθηκε από την έρευνα των Chevrier et al., (2013) σύμφωνα με τους οποίους η υψηλή μητρική έκθεση συνδέεται με χαμηλά επίπεδα T4 στις μητέρες και χαμηλή TSH στα αρσενικά νεογνά.

1.5.2 Αλληλεπίδραση με το αναπαραγωγικό σύστημα

Γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα

Μελέτες υποδεικνύουν ότι η επίδραση της BPA στις ωοθήκες εξαρτάται από την ταυτόχρονη παρουσία άλλων ρυπαντών στην περιοχή. Συγκεκριμένα, η τρικλοζάνη αλληλεπιδρά με την BPA ενισχύοντας την παρουσία της στους αναπαραγωγικούς ιστούς σε ποντίκια (Pollock et al., 2014). Οι αρνητικές επιπτώσεις στις ωοθήκες έγκειται στην παρεμπόδιση της

ανάπτυξης του αδένα και απόπτωση, ωστόσο οι πληροφορίες είναι ελάχιστες και απαιτείται περεταίρω έρευνα. Όσο αναφορά στην μήτρα, παρόλο που σε ανθρώπους δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα, στα ποντίκια φαίνεται ότι η ουσία επιδρά στην δομή και λειτουργία του οργάνου (Caserta et al., 2014; Peretz et al., 2014). Ως ορμονικός διαταράκτης, έχει συσχετιστεί με αυξημένα επίπεδα τεστοστερόνης, εστραδιόλης και πρεγνενολόνης (pregnenolone) σε κορίτσια με πρόωρη έναρξη της εφηβείας (Lee et al., 2014).

Μελέτη σε 137 γυναίκες που υποβλήθηκαν σε τεχνητή γονιμοποίηση, έδειξε συσχέτιση μεταξύ των αυξημένων συγκεντρώσεων της ουσίας στα ούρα και αποτυχία στην εμφύτευση (Ehrlich et al., 2012) ενώ έγκυες γυναίκες με υψηλά επίπεδα συζευγμένης δισφαινόλης διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο για αποβολή (Lathi et al., 2014). Συγκρίνοντας γυναίκες με προβλήματα στη γονιμότητα και φυσιολογικές γυναίκες, στην πρώτη περίπτωση βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις της ουσίας (Caserta et al., 2013).

Η επίδραση της BPA στην γονιμότητα γίνεται πιο εμφανής στα αποτελέσματα από μελέτες σε πειραματόζωα. Για παράδειγμα, έκθεση κατά την αρχή της κύησης οδήγησε σε αποκόλληση του εμφυτευμένου εμβρύου (Berger et al., 2008; Xiao et al., 2011), ενώ η έκθεση κατά την νεογνική ηλικία προκάλεσε μείωση στις περιοχές εμφύτευσης σε εγκύους αρουραίους (Tiwari and Vanage, 2013; Varayoud et al., 2011, 2014). Αντικρουόμενα είναι τα αποτελέσματα σχετικά με την ενοχή της ουσίας για τον πρόωρο τοκετό (Peretz et al., 2014). Ενώ υπάρχει μελέτη σε ανθρώπους που υποδεικνύει ότι η έκθεση στην ουσία ευθύνεται για τον πρόωρο τοκετό (Cantonwine et al., 2010), μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι ούτε η ενδομήτρια έκθεση στην ουσία, ούτε η έκθεση κατά την νεογνική ή ενήλικη περίοδο δεν προκάλεσε αλλαγές στη διάρκεια της εγκυμοσύνης (Cabaton et al., 2011; Kobayashi et al., 2012; Tyl et al., 2008).

Όσο αναφορά στις αναπαραγωγικές ασθένειες που εμφανίζονται στις γυναίκες, τα δεδομένα είναι και εδώ περιορισμένα και δεν επαρκούν για την εύρεση του τρόπου με τον οποίο επιδρά η BPA. Γυναίκες που διαγνώστηκαν με το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, είχαν υψηλά επίπεδα της BPA στον ορό του αίματος τα οποία συσχετίστηκαν με αυξημένη συγκέντρωση των αρσενικών ορμονών, τεστοστερόνη, ανδροστεδιόνη (androstenedione), LH και

αντίσταση στην ινσουλίνη σε σύγκριση με τις μη πάσχουσες (Kandaraki et al., 2011; Takeuchi and Tsutsumi, 2002), ενώ σε άλλη μελέτη η έκθεση συσχετίστηκε με την ύπαρξη ενδομητρίωσης (Cobellis et al., 2009).

Ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα

Όσο αναφορά στις επιδράσεις της BPA στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα και τη γονιμότητα, οι μέχρι τώρα ενδείξεις περιλαμβάνουν την μειωμένη ποιότητα σπέρματος σε άτομα που έχουν εκτεθεί στην ουσία (Salian et al., 2009), προβλήματα στη σεξουαλική ζωή και στυτική δυσλειτουργία σε εκτιθέμενους εργάτες στη βιομηχανία ρητινών και δισφαινόλης (Li et al., 2010a, b), διαταραχές στα επίπεδα των φυλετικών ορμονών και δυσμορφίες (Rochester, 2013). Μελέτες της ανδρικής υπογονιμότητας σε διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες, συμφωνούν ότι όσο μεγαλύτερη είναι η έκθεση στην ουσία τόσο χαμηλότερο είναι το επίπεδο ποιότητας του σπέρματος (Heller and Clermont, 1964; Mahalingaiah et al., 2008; Meeker et al., 2010a, b; Mendiola et al., 2010). Υψηλά επίπεδα της BPA στα ούρα (σε εκτεθειμένο και γενικό πληθυσμό) και τον εκπνεόμενο αέρα (εκτεθειμένος πληθυσμός) συσχετίζονται με χαμηλή ποιότητα σπέρματος (συγκέντρωση, αριθμός, ζωτικότητα και κινητικότητα) ενώ οι προσδιοριζόμενες μέσες συγκεντρώσεις για την επαγγελματική έκθεση είναι περίπου 70 φορές χαμηλότερες από την ανεκτή ημερήσια έκθεση στην ουσία σύμφωνα με την US EPA και 2000 φορές για τον γενικό πληθυσμό (Li et al., 2010a, b, 2011). Αυτό δείχνει ότι ακόμα και όταν η έκθεση θεωρείται χαμηλή, επειδή είναι συνεχής και για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα, οι επιδράσεις της ουσίας στην υγεία είναι σημαντικές.

Όσο αναφορά στις μεταβολές των επιπέδων των ανδρικών ορμονών, τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα για τις ομάδες υψηλής έκθεσης καθώς η υψηλή συγκέντρωση της ουσίας στα ούρα συσχετίζεται άλλοτε με χαμηλά (Hanaoka et al., 2002) και άλλοτε με υψηλά επίπεδα FSH (Meeker et al., 2010a). Η υψηλή αναλογία FSH:inhibin B και η χαμηλή estradiol:testosterone, έχουν συσχετιστεί με υψηλή έκθεση στην BPA και υποδεικνύουν χαμηλή ποιότητα σπέρματος και επίδραση στην δραστηριότητα της αρωματάσης,

αντίστοιχα (Meeker et al., 2010a). Η οιστρογονική δράση της ουσίας φαίνεται και από την συσχέτισή της με αύξηση της SHBG και μείωση της ελεύθερης τεστοστερόνης, μείωση δηλαδή του λόγου τεστοστερόνη:SHBG (androgen index) (Mendiola et al., 2010).

Η πιο συχνή δυσμορφία που σχετίζεται με την αντι-ανδρογονική δράση των ενδοκρινικών διαταρακτών είναι η μείωση στο δείκτη AGD. Οι Miao et al., (2011) μελέτησαν την επίδραση της ουσίας στον AGD σε αγόρια ηλικίας 0-17 ετών των οποίων οι γονείς είχαν υψηλή επαγγελματική έκθεση στην ουσία. Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντική μείωση του δείκτη και μάλιστα η σχέση ήταν ανάλογη με την συγκέντρωση της ουσίας. Άλλες δυσμορφίες του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος είναι η κρυψορχία και υποσπαδία που όμως δεν φαίνεται να συσχετίζεται με την προγεννητική έκθεση των νεογέννητων αγοριών (Brucker-Davis et al., 2011; Chevrier et al., 2012; Fenichel et al., 2012).

1.5.3 Αλληλεπίδραση με το αναπνευστικό σύστημα

Μια ακόμα επίπτωση στην υγεία που φαίνεται να συνδέεται με την έκθεση στην BPA είναι οι αναπνευστικές ασθένειες και συμπτώματα όπως το άσθμα, φτέρνισμα και «ψιθύρισμα» στο στήθος. Στα παιδιά ηλικίας 6 μηνών η εμφάνιση φτερνίσματος συνδέεται με την έκθεση της μητέρας στην ουσία κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης το οποίο όμως χάνεται μέχρι την ηλικία των τριών ετών. Υπάρχουν ακόμα ενδείξεις ότι η εμφάνιση των συμπτωμάτων στα νεογνά σχετίζεται με την περίοδο έκθεσης της μητέρας κατά την εγκυμοσύνη, συμπεραίνοντας ότι έκθεση κατά τις πρώτες 16 εβδομάδες της κύησης μπορεί να έχει επίδραση στην υγεία του νεογνού, ενώ όταν η έκθεση είναι μεταγενέστερη (26 εβδομάδες) δεν εμφανίζεται κανένα σύμπτωμα (Spanier et al., 2012). Είναι εμφανές ότι υπάρχουν «χρονικά παράθυρα» κατά τα στάδια της ανάπτυξης, είτε προγεννητικά είτε κατά τα πρώτα χρόνια της ζωής, στα οποία όταν λαμβάνει χώρα η έκθεση σε κάποιο ρυπαντή υπάρχουν επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία. Εκτός από την προγεννητική, η έκθεση

κατά την παιδική ηλικία είναι εξίσου σημαντική και φαίνεται ότι οι επιδράσεις στο αναπνευστικό σύστημα περνούν μια περίοδο «επώασης» και εκδηλώνονται περίπου μετά από δύο έτη. Πιο αναλυτικά, έκθεση κατά τα έτη 3, 5 και 7 συνδέεται με την εμφάνιση άσθματος σε παιδιά 5-12 ετών και έκθεση στην ηλικία των τριών ετών με φτέρνισμα κατά το πέμπτο και έκτο έτος (Donohue et al., 2013).

1.5.4 Αλληλεπίδραση με το νευρικό σύστημα

Παρόμοια με τα φθαλικά, η ενδοκρινική δράση της BPA επηρεάζει τη λειτουργία του εγκεφάλου, στον οποίο εκκρίνονται οι ορμόνες του υποθαλάμου. Η έκθεση στην ουσία κατά την ενδομήτρια ανάπτυξη και κατά την παιδική ηλικία έχει συσχετιστεί με διαταραχές στη συμπεριφορά των παιδιών, με σημαντικές διαφοροποιήσεις για τα δύο φύλα. Στα κορίτσια υπάρχει σημαντική συσχέτιση της υψηλής έκθεσης της μητέρας κατά την κύηση με υπερκινητικότητα και επιθετικότητα και μάλιστα η συσχέτιση αυτή είναι πιο ισχυρή όταν η έκθεση έλαβε χώρα μέχρι την 16^{η} εβδομάδα κύησης (Braun et al., 2009). Κατά την ηλικία των τριών ετών, τα κορίτσια εμφάνισαν συμπτώματα άγχους, καταπίεσης και χαμηλό έλεγχο συναισθημάτων, των οποίων η ένταση ήταν ανάλογη με τις τιμές της μητρικές έκθεσης κατά την εγκυμοσύνη (Braun et al., 2011). Τη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο φύλων και τη συσχέτιση της μητρικής έκθεσης με την εμφάνιση των συμπτωμάτων στα κορίτσια και όχι τα αγόρια, υποστηρίζουν και άλλες μελέτες στη βιβλιογραφία (Harley et al., 2013b; Roen et al., 2015). Σε αντίθεση με τα παραπάνω, οι Yolton et al., (2011), δεν βρήκαν καμία συσχέτιση μεταξύ της μητρικής έκθεσης και τις νευρολογικές διαταραχές στη συμπεριφορά των νεογνών και μάλιστα τα επίπεδα που προσδιορίστηκαν στις μητέρες ήταν κατώτερα από το όριο για νευρολογικές επιδράσεις στα βρέφη. Τα αποτελέσματα από τις μελέτες αυτές, φαίνεται πως επηρεάζονται και από άλλους παράγοντες, πιθανώς κοινωνικούς, οικονομικούς, την εθνικότητα ή την περίοδο της έκθεσης, καθώς υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες (Evans et al.,

2014; Harley et al., 2013b; Perera et al., 2012; Roen et al., 2015) σύμφωνα με τις οποίες τα συμπτώματα είναι πιο έντονα και στατιστικά σημαντικά για τα αγόρια και όχι τα κορίτσια και συσχετίζονται επίσης με την μητρική έκθεση κατά την εγκυμοσύνη ή μελέτες από τις οποίες δεν προέκυψε καμία φυλετική διαφοροποίηση (Arbuckle et al., 2016; Hong et al., 2013).

Όσο αναφορά στα συμπεριφορικά σύνδρομα όπως ο αυτισμός, υπάρχουν ενδείξεις ότι η υψηλή μητρική έκθεση στην ουσία συνδέεται με την εμφάνιση της νόσου στην ηλικία 7-9 ετών (Miodovnik et al., 2011).

1.5.5 Μεταβολικά σύνδρομα

Παχυσαρκία

Η εμφάνιση της παχυσαρκίας μπορεί να οφείλεται τόσο σε κληρονομικούς-γενετικούς όσο και σε περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως ο τρόπος ζωής (π.χ. άγχος), η διατροφή και η έκθεση σε ρυπαντές. Ο κεντρικός έλεγχος της λήψης της τροφής και η δαπάνη ενέργειας απαιτεί τον συντονισμό διάφορων υποθαλαμικών και εξτρα-υποθαλαμικών πυρήνων. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η BPA μεταβάλλει τα μονοπάτια ρύθμισης της ενεργειακής δαπάνης στον οργανισμό αρσενικών ποντικιών (Batista et al., 2012) και συνεισφέρει σημαντικά στην προώθηση της λιπογένεσης τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ποντίκια (Chamorro-García et al., 2012; Pereira-Fernandes et al., 2013).

Τα αποτελέσματα από μελέτες σε πειραματόζωα είναι αντικρουόμενα, ιδίως όταν μετράται η αύξηση στο βάρος σαν αποτέλεσμα της έκθεσης στην ουσία. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε διαφοροποιήσεις στην χορηγούμενη δόση, το χρόνο έκθεσης, το φύλο και την ηλικία των ζώων. Ενδεικτικά αναφέρονται μελέτες προγεννητικής έκθεσης στις οποίες η έκθεση στην ουσία αποτέλεσε σε αύξηση του μεγέθους του ζώου αλλά όχι στο ποσοστό λίπους και τη ρύθμιση της γλυκόζης (Ryan et al., 2010), είτε καμία αύξηση στο σωματικό βάρος των νεογνών (Nakamura et al., 2012; Ryan and Vandenbergh, 2006; Susiarjo et al., 2015) είτε αύξηση στο βάρος των αρσενικών αλλά μείωση για τα θηλυκά (van Esterik et al., 2014), ανοχή στη

γλυκόζη και αντίσταση στην ινσουλίνη στα αρσενικά (Alonso-Magdalena et al., 2010; Susiarjo et al., 2015). Παρά την ανομοιομορφία των ερευνητικών αποτελεσμάτων, στην πλειοψηφία των μελετών η BPA προκαλεί αλλαγές στο μεταβολισμό. Για το λόγο αυτό, μπορεί να θεωρηθεί ως διαταράκτης μεταβολισμού (metabolic disruptor), προκαλεί διαβήτη (diabetogenic) και αλλάζει την καρδιαγγειακή λειτουργία.

Υπάρχει μεγάλος αριθμός επιδημιολογικών μελετών οι οποίες συσχετίζουν την BPA με την εμφάνιση της παχυσαρκίας στον άνθρωπο (Gore et al., 2015). Οι περισσότερες αφορούν σε δεδομένα της μελέτης NHANES σε ενήλικες και παιδιά τα οποία δείχνουν ότι υψηλές συγκεντρώσεις της ουσίας στα ούρα συσχετίζονται με υψηλή συχνότητα εμφάνισης παχυσαρκίας και μεγάλη περίμετρο μέσης (Bhandari et al., 2013; Carwile and Michels, 2011; Shankar et al., 2012; Trasande et al., 2012). Μελέτη κοορτής στην Κίνα βρήκε συσχετίσεις μεταξύ των συγκεντρώσεων στα ούρα και την παχυσαρκία, την αντίσταση στην ινσουλίνη και τον διαβήτη (Wang et al., 2012). Η συνεισφορά της προγεννητικής έκθεσης και της έκθεση κατά τους πρώτους μήνες της ζωής στην εμφάνιση της νόσου κατά την παιδική ηλικία έχει μελετηθεί σε κορίτσια ηλικίας 9 χρόνων (Harley et al., 2013a), ωστόσο τα ευρήματα της συγκεκριμένης έρευνας έρχονται σε σύγκρουση με άλλες παρόμοιες καθώς υποδεικνύει ότι υψηλότερη έκθεση είχαν τα παιδιά με χαμηλό σωματικό βάρος. Η πλειοψηφία των μελετών συσχετίζει την προγεννητική έκθεση ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις με αυξημένο σωματικό βάρος, συσσώρευση λίπους, διαταραχή των επιπέδων της ινσουλίνης και της λεπτίνης στο αίμα και μείωση της ανοχής στη γλυκόζη κατά τρόπο εξαρτώμενο από την ηλικία (Akingbemi et al., 2004; Angle et al., 2013; García-Arevalo et al., 2014; Miyawaki et al., 2007; Patisaul and Bateman, 2008; Rubin and Soto, 2009; Somm et al., 2009; Vom Saal et al., 2012; Wei et al., 2011).

Διαβήτης τύπου 2

Η σύνδεση της έκθεσης στη BPA με την εμφάνιση διαβήτη τύπου 2 και καρδιαγγειακά νοσήματα έχει μελετηθεί και φαίνεται πως υπάρχει θετική συσχέτιση όχι μόνο για παχύσαρκα άτομα αλλά και ανθρώπους με κανονικό

σωματικό βάρος (Beydoun et al., 2014; Lang et al., 2008; Shankar and Teppala, 2011; Sun et al., 2014). Αυτό επιβεβαιώνεται από την υψηλή συχνότητα εμφάνισης της νόσου σε πληθυσμό ηλικίας 18-74 της μελέτης NHANES 2003-2004 (Lang et al., 2008) και 2003-2008 (Shankar and Teppala, 2011; Silver et al., 2011) με υψηλή έκθεση στην BPA. Η συσχέτιση με τα επίπεδα της γλυκόζης δεν θεωρείται σωστός βιοδείκτης λόγω της λήψης φαρμάκων για τη ρύθμισή της στα φυσιολογικά επίπεδα (Ning et al., 2011), σε αντίθεση με τη μέτρηση της αιμογλοβίνης A1c (HbA1c) η οποία είναι πιο ακριβής δείκτης και η αύξηση της συγκέντρωσής της συσχετίζεται με υψηλή έκθεση στην BPA και εμφάνιση της νόσου (Silver et al., 2011). Το γεγονός ότι οι ανεξάρτητες αυτές μελέτες πραγματοποιήθηκαν στον ίδιο πληθυσμό (NHANES) και βρήκαν όλες συσχέτιση μεταξύ της BPA και την εμφάνιση του διαβήτη τύπου 2 ενισχύει τη σύνδεση της ουσίας με τη νόσο. Μελέτες στον Ασιατικό πληθυσμό (Hong et al., 2009; Wang et al., 2012) και όχι μόνο (Kandaraki et al., 2011) συσχετίζουν την υψηλή έκθεση με αντίσταση στην ινσουλίνη. Οι συγγραφείς έρευνας στον Ασιατικό πληθυσμό (Hong et al., 2009) δηλώνουν ότι ταυτόχρονα με την BPA μετρήθηκαν και ορισμένοι μεταβολίτες των φθαλικών οι οποίοι πιθανώς να δρουν συνεργιστικά με την BPA στην ινσουλίνη.

1.5.6 Αλληλεπίδραση με το καρδιαγγειακό σύστημα

Τα τελευταία χρόνια, η υπέρταση και τα καρδιαγγειακά νοσήματα διαγνώσκονται όλο και πιο συχνά στον γενικό πληθυσμό. Η έκθεση του ανθρώπινου σώματος σε περιβλλοντικούς ρύπους εξετάζεται μεταξύ άλλων, για την εύρεση της αιτίας των ασθενειών. Οι Han and Hong (2016) προσπάθησαν να αποσαφηνίσουν την ύπαρξη συσχέτισης με την έκθεση στην BPA μελετώντας επιδημιολογικές, εργαστηριακές και κλινικές μελέτες στην βιβλιογραφία. Παρά τον περιορισμένο αριθμό πληροφοριών, τα υπάρχοντα δεδομένα δείχνουν ότι η καθημερινή αποφυγή της έκθεσης στην ουσία δρα προστατευτικά στην εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων και

υπέρτασης. Οι συγκεντρώσεις της BPA στα ούρα συσχετίζονται με την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων αλλά όχι διαβήτη (Melzer et al., 2010), στεφανιαία νόσο (Melzer et al., 2012) και υψηλή πίεση (Bae et al., 2012).

Οι έρευνες σε πειραματόζωα είναι πιο πολλές σε αριθμό και συσχετίζουν την έκθεση στην BPA με αρρυθμία σε θηλυκούς αρουραίους (Yan et al., 2011) και υπέρταση (Saura et al., 2014), ενώ η χρόνια έκθεση επιταχύνει το σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας αορτής και αυξάνει τα επίπεδα της χοληροστερόλης υψηλής πυκνότητας χωρίς όμως να μεταβάλλεται το βάρος (Kim et al., 2013b).

1.6 Σκοπός και επιμέρους στόχοι

Λόγω της παγκόσμιας ανησυχίας για την ενδομήτρια έκθεση στους ενδοκρινικούς διαταράκτες, υπάρχουν πολλές μελέτες που εξετάζουν την έκθεση της μητέρας και του εμβρύου κυρίως μέσω των επιπέδων των ρυπαντών στα ούρα (Arbuckle et al., 2014). Υπάρχουν αναφορές για την παρουσία των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων και της BPA στο μητρικό γάλα και το αίμα της μητέρας και φαίνεται ότι τα επίπεδα μεταξύ των διαφορετικών υποστρωμάτων συσχετίζονται. Πολύ λίγες έρευνες μελετούν την παρουσία τους στο αμνιακό υγρό και οι έρευνες οι οποίες εστιάζουν σε συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων και των παθολογικών επιπτώσεων στα βρέφη είναι ελάχιστες (Jensen et al., 2015). Τελευταία, μη συμβατικές μήτρες όπως το σπέρμα και η τρίχα επιλέγονται να μελετηθούν από ερευνητές. Η παρουσία των ενώσεων στην τρίχα δείχνει την μακρόχρονη έκθεση και η υπάρχουσα βιβλιογραφία για τους φθαλικούς εστέρες περιορίζεται σε δύο αναφορές οι οποίες περιγράφουν δοκιμές σε πειραματόζωα και εφαρμογή σε πολύ μικρό αριθμό ανθρώπινων δειγμάτων (Chang et al., 2013; Hsu et al., 2015), ενώ για τη BPA οι μελέτες είναι περισσότερες, χωρίς όμως να υπάρχει η συσχέτιση με πληροφορίες από ερωτηματολόγια. Υποκατάστατα της BPA χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο, ωστόσο οι μελέτες για την παρουσία του στον ανθρώπινο οργανισμό είναι ελάχιστες έως μηδενικές.

Τα έμβρυα και τα βρέφη παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία και μεγαλύτερη επιβάρυνση από τους μολυντές σε σχέση με τους ενήλικες λόγω του μικρού σωματικού βάρους, τον γρήγορο ρυθμό ανάπτυξης των οργάνων και το μη ανεπτυγμένο ανοσοποιητικό. Αυτό σημαίνει ότι ακόμα και μικρή έκθεση στους ενδοκρινικούς διαταράκτες μπορεί να έχει σημαντική επίδραση για την υγεία του παιδιού. Η παρουσία των ρυπαντών στον οργανισμό συσχετίζεται πολύ συχνά με τοξικότητα στο αναπαραγωγικό, αναπνευστικό και νευρικό σύστημα, πρόωρο τοκετό και καθυστερημένη ανάπτυξη του εμβρύου (Ashley-Martin et al., 2014). Αν και ελάχιστες, ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι μελέτες που παρακολουθούν την εξέλιξη της υγείας και ανάπτυξης παιδιών που εκτέθηκαν στους ρυπαντές προγεννητικά μέχρι την ενηλικίωσή τους (Factor-Litvak et al., 2014; Rais-Bahrami et al., 2004). Τα ευρήματα είναι αντικρουόμενα και είναι δύσκολο να γίνει διάκριση μεταξύ της ενδομήτριας έκθεσης και της έκθεσης κατά την παιδική ηλικία. Υπάρχουν όμως ενδείξεις ότι η προγεννητική έκθεση στους διαταράκτες συσχετίζεται με σύνδρομα και ασθένειες που εμφανίζονται κατά την παιδική ηλικία (Factor-Litvak et al., 2014).

Λαμβάνοντας υπόψη την υπάρχουσα βιβλιογραφία γεννιούνται ερωτήματα τα οποία φιλοδοξούμε να απαντηθούν με την ολοκλήρωση της παρούσας έρευνας. Στοχεύουμε στην εκτίμηση της έκθεσης μητέρας-βρέφους στους φθαλικούς εστέρες, τη δισφαινόλη Α και υποκατάστατα αυτής (δισφαινόλες F και S) μέσω των επιπέδων των ρυπαντών σε συμβατικά (ούρα) και μη (αμνιακό υγρό και τρίχα) βιολογικά υποστρώματα. Η χημική ανάλυση των ουσιών στα δείγματα καλύπτεται πλήρως από βιβλιογραφικές αναφορές, ωστόσο θα γίνει ξανά επικύρωση των μεθόδων για τους σκοπούς της παρούσας έρευνας.

Τα αποτελέσματα από τις αναλύσεις στην τρίχα θα δείξουν την μακροχρόνια έκθεση της μητέρας και θα δώσουν πληροφορίες σχετικά με την αποθήκευση των ενώσεων στον οργανισμό, ενώ η άμεση έκθεση θα προκύψει από την ανάλυση των βιολογικών υγρών. Τα επίπεδα των ενώσεων (σε ελεύθερη και γλυκουρονιδιωμένη μορφή) που θα προσδιοριστούν στο αμνιακό υγρό θα δείξουν αν οι ουσίες διαπερνούν τον πλακούντα με αποτέλεσμα την έκθεση του εμβρύου και πως αυτή σχετίζεται με την έκθεση

της μητέρας, την εξέλιξη της εγκυμοσύνης και την υγεία του βρέφους. Θα γίνει χρήση στατιστικής για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Θα πραγματοποιηθούν συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων στις διαφορετικές βιολογικές μήτρες, συσχέτιση των επιπέδων με νοσηρότητα και παθολογικές καταστάσεις της μητέρας και του νεογνού . Θα προσδιοριστεί ο τρόπος με τον οποίο σχετίζονται οι καθημερινές συνήθειες και η διατροφή με την έκθεση στους ρυπαντές και τέλος, πως σχετίζεται η έκθεση του εμβρύου με την έκθεση της μητέρας, την υγεία και την ανάπτυξή του. Όλες οι πληροφορίες θα ληφθούν από τη συμπλήρωση ερωτηματολογίων κατά την δειγματοληψία.

1.7 Βιβλιογραφία

Akingbemi BT, Sottas CM, Koulova AI, Klinefelter GR, Hardy MP. (2004). Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. Endocrinol. 145:592–603.

Alonso-Magdalena P, Vieira E, Soriano S, et al. (2010). Bisphenol A exposure during pregnancy disrupts glucose homeostasis in mothers and adult male offspring. Environ Health Perspect. 118:1243–1250.

Alonso-Magdalena P., Ropero A.B., Soriano S., Garcia-Arevalo M., Ripoll C., Fuentes E., et al., (2012). Bisphenol-A acts as a potent estrogen via non-classical estrogen triggered pathways, Mol. Cell. Endocrinol. 355; 201–207.

Anderson OS, Nahar MS, Faulk C, et al. (2012). Epigenetic responses following maternal dietary exposure to physiologically relevant levels of bisphenol A. Environ Mol Mutagen. 53:334–342.

Angle BM, Do RP, Ponzi D, et al. (2013). Metabolic disruption in male mice due to fetal exposure to low but not high doses of bisphenol A (BPA): evidence for effects on body weight, food intake, adipocytes, leptin, adiponectin, insulin and glucose regulation. Reprod Toxicol. 42:256–268.

Arbuckle, T. E., Davis, K., Boylan, K., Fisher, M., & Fu, J. (2016). Bisphenol A, phthalates and lead and learning and behavioral problems in Canadian children 6-11 years of age: CHMS 2007-2009. NeuroToxicology, 54, 89–98. https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.03.014

Arbuckle, T. E., Davis, K., Marro, L., Fisher, M., Legrand, M., LeBlanc, A., … Fraser, W. D. (2014). Phthalate and bisphenol A exposure among pregnant women in Canada-results from the MIREC study. Environ. Int., 68, 55–65. http://doi.org/10.1016/j.envint.2014.02.010

Ashley-Martin, J., Dodds, L., Arbuckle, T. E., Ettinger, A. S., Shapiro, G. D., Fisher, M., … Fraser, W. D. (2014). A birth cohort study to investigate the association between prenatal phthalate and bisphenol A exposures and fetal markers of metabolic dysfunction. Environ. Health, *13*(1), 84. http://doi.org/10.1186/1476-069X-13-84

ATSDR, (1995). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Diethylphthalate, Atlanta, GA.

ATSDR, (2001). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Di-N-Butyl Phthalate (Atlanta, GA).

ATSDR, (2002). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Di(2-Ethylhexyl) Phthalate (Atlanta, GA).

Axelsson, J., Rylander, L., Rignell-hydbom, A., Jönsson, B. A. G., Lindh, C. H., & Giwercman, A. (2015). Phthalate exposure and reproductive parameters in young men from the general Swedish population. Environ. Int., 85, 54–60. https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.07.005

Bae S, Kim JH, Lim YH, Park HY, Hong YC. (2012). Associations of bisphenol A exposure with heart rate variability and blood pressure. Hypertension. 60:786–793.

Balakrishnan, B., Henare K., Thorstensen E.B., Ponnampalam A.P., and Mitchell M.D. (2010). Transfer of bisphenol A across the human placenta. Am. J. Obstet. Gynecol., 202 (4):393.e1-393.e7.

Batista TM, Alonso-Magdalena P, Vieira E, et al. (2012). Short term treatment with bisphenol-A leads to metabolic abnormalities in adult male mice. *PLoS One.* 7:e33814.

Berger RG, Shaw J, de Catanzaro D. (2008). Impact of acute bisphenol-A exposure upon intrauterine implantation of fertilized ova and urinary levels of progesterone and 17_- estradiol. Reprod Toxicol. 26:94–99.

Bertelsen, R. J., Calafat, A. M., & Hoppin, J. a. (2013). Research | Children ' s Health Urinary Biomarkers for Phthalates Associated with Asthma in Norwegian. Environ Health Perspect, 121(2), 251–256. Retrieved from http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1205256

Beydoun HA, Khanal S, Zonderman AB, Beydoun MA. (2014). Sex differences in the association of urinary bisphenol-A concentration with selected indices of glucose homeostasis among U.S. adults. Ann Epidemiol. 24:90–97.

Bhandari R, Xiao J, Shankar A. (2013). Urinary bisphenol A and obesity in U.S. children. Am J Epidemiol. 177:1263–1270.

Biles J., McNeal T., Begley T., Hollifield H. (1997). Determination of bisphenol-A in reusable polycarbonate food-contact plastics and migration to food-simulating liquids, J. Agric. Food Chem. 45; 3541–3544.

Bornehag, C. G., Sundell, J., Weschler, C. J., Sigsgaard, T., Lundgren, B., Hasselgren, M., & Hägerhed-Engman, L. (2004). The association between asthma and allergic symptoms in children and phthalates in house dust: A nested case-control study. Environ Health Perspect, 112(14), 1393–1397. https://doi.org/10.1289/ehp.7187

Bošnir, J., Puntarić, D., Galić,A., Škes, I., Dijanić, T., Klarić,M., Grgić,M., Čurković,M., Šmit, Z. (2007). Migration of phthalates from plastic containers into soft drinks and mineral water. Food Technol. Biotechnol. 45 (1), 91–95.

Braun JM, Kalkbrenner AE, Calafat AM, Yolton K, Ye X, Dietrich KN, et al. (2011). Impact of early-life bisphenol A exposure on behavior and executive function in children. Pediatr 128:873–82.

Braun JM, Yolton K, Dietrich KN, Hornung R, Ye X, Calafat AM, et al. (2009). Prenatal bisphenol A exposure and early childhood behavior. Environ Health Perspect 117:1945–52.

Brucker-Davis F, Ferrari P, Boda-Buccino M, Wagner-Mahler K, Pacini P, Gal J, et al. (2011). Cord blood thyroid tests in boys born with and without cryptorchidism: correlations with birth parameters and in utero xenobiotics exposure. Thyroid 21:1133–41.

Cabaton NJ, Wadia PR, Rubin BS, et al. (2011). Perinatal exposure to environmentally relevant levels of bisphenol A decreases fertility and fecundity in CD-1 mice. Environ Health Perspect. 119:547–552.

Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL. (2008). Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary- octylphenol: 2003–2004. Environ Health Perspect. 116:39–44.

Cantonwine D, Meeker JD, Hu H, et al. (2010). Bisphenol A exposure in Mexico City and risk of prematurity: a pilot nested case control study. Environ Health. 9:62.

Cao, X. L. (2010). Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 9(1), 21–43. http://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00093.x

Carlstedt, F., Jönsson, B. a. G., & Bornehag, C.-G. (2013). PVC flooring is related to human uptake of phthalates in infants. Indoor Air, 23(1), 32–39. https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2012.00788.x

Carwile JL and Michels KB. (2011). Urinary bisphenol A and obesity: NHANES 2003–2006. Environ Res. 111:825–830.

Caserta D, Bordi G, Ciardo F, et al. (2013). The influence of endocrine disruptors in a selected population of infertile women. Gynecol Endocrinol. 29:444–447.

Caserta D, Di Segni N, Mallozzi M, et al. (2014). Bisphenol A and the female reproductive tract: an overview of recent laboratory evidence and epidemiological studies. Reprod Biol Endocrinol. 12:37.

CDC, 2015. Centers for Disease Control and Prevention. National Biomonitoring Program. Factsheet, Phthalates. http://www.cdc.gov/biomonitoring/phthalates_factsheet.htmL (Accessed 13.04.16)

Chamorro-García R, Kirchner S, Li X, et al. (2012). Bisphenol A diglycidyl ether induces adipogenic differentiation of multipotent stromal stem cells through a peroxisome proliferator-activated receptor-independent mechanism. Environ Health Perspect. 120:984–989.

Chang, Y.-J., Lin, K.-L., & Chang, Y.-Z. (2013). Determination of Di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human hair using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Clin. Chim. Act., 420, 155–159. http://doi.org/10.1016/j.cca.2012.10.009

Chen D, Kannan K, Tan H, Zheng Z, Feng YL, Wu Y, et al. (2016). Bisphenol analogues other than BPA: environmental occurrence, human exposure, and toxicity-a review. Environ Sci Technol. 50(11):5438–53.

Chevrier C, Petit C, Philippat C, Mortamais M, Slama R, Rouget F, et al. (2012). Maternal urinary phthalates and phenols and male genital anomalies. Epidemiol. 23:353–6.

Chevrier J, Gunier RB, Bradman A, Holland NT, Calafat AM, Eskenazi B, et al. (2013). Maternal urinary Bisphenol A during pregnancy and maternal and neonatal thyroid function in the CHAMACOS study. Environ Health Perspect 121:138–44.

Cho, S.-C., Bhang, S.-Y., Hong, Y.-C., Shin, M.-S., Kim, B.-N., Kim, J.-W., Yoo, H.-J., Cho, I.H., Kim, H.-W. (2010). Relationship between environmental phthalate exposure and the intelligence of school-age children. Environ. Health Perspect. 118 (7), 1027–1032. http://dx.doi.org/10.1289/ehp.0901376.

Cobellis L, Colacurci N, Trabucco E, Carpentiero C, Grumetto L. (2009). Measurement of bisphenol A and bisphenol B levels in human blood sera from healthy and endometriotic women. Biomed Chromatogr. 23:1186–1190.

Danish EPA (2013). Phthalate Strategy. Environmental Project No 1488, ISBN 9788793026223, Danish Ministry of Health, www.mst.dk .

Dekant W and Völkel W. (2008). Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: methods, results and assessment of environmental exposures. Toxicol Appl Pharmacol. 228(1):114–34.

Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J.P., Giudice, L.C., Hauser, R., Prins, G.S., Soto, A.M., Zoeller, R.T., Gore, A.C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement, Endocr. Rev. 30 293–342.

Docea, A. O., Calina, D., Gofita, E., Arsene, A. L., Kouretas, D., Tsatsarakis, M., … Tsatsakis, A. (2017). Effects of long-term low dose exposure to mixtures of pesticides, food additives and consumer products chemicals on biochemical parameters. Toxicol Lett., 280, S217. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.07.597

Dodds EC and Lawson W. (1936). Synthetic oestrogenic agents without the phenanthrene nucleus. Nature. 137:996.

Dolinoy DC, Huang D, Jirtle RL. (2007). Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. Proc Natl Acad Sci USA. 104:13056–13061.

Domoradzki, J. Y., Pottenger, L. H., Thornton, C. M., Hansen, S. C., Card, T. L., Markham, D. A., … Waechter, J. M. (2003). Metabolism and pharmacokinetics of bisphenol A (BPA) and the embryo-fetal distribution of BPA and BPA-monoglucuronide in CD Sprague-Dawley rats at three gestational stages. Toxicological Sciences, 76(1), 21–34. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfg206

Donohue KM, Miller RL, Perzanowski MS, Just AC, Hoepner LA, Arunajadai S, et al. (2013). Prenatal and postnatal bisphenol A exposure and asthma development among inner-city children. J Allergy Clin Immunol 131, 736.e6–742.e6.

ECPI (2014). European Council for Plasticizers and Intermediates. The Plasticizers Information Centre. www.plasticisers.org

Ehrlich S, Williams PL, Missmer SA, et al. (2012). Urinary bisphenol A concentrations and implantation failure among women undergoing in vitro fertilization. Environ Health Perspect. 120:978–983.

EU CSTEE, (1998). Phthalate migration from soft PVC toys and child-care articles. In: European Union Scientific Committee on Toxicity Ecotoxicity and the Environment (Ed.), Opinion Expressed at the CSTEE Third PlenaryMeeting, Brussels, April 24, 1998.

Evans, S.F., Kobrosly, R.W., Barrett, E.S., Thurston, S.W., Calafat, A.M., Weiss, B., Stahlhut, R., Yolton, K., Swan, S.H., (2014). Prenatal bisphenol A exposure and maternally reported behavior in boys and girls. Neurotoxicology 45 (December), 91–99. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2014.10.003 (Epub 2014 Oct 13).

Factor-Litvak, P., Insel, B., Calafat, A. M., Liu, X., Perera, F., Rauh, V. a., & Whyatt, R. M. (2014). Persistent Associations between Maternal Prenatal Exposure to Phthalates on Child IQ at Age 7 Years. PLoS ONE, 9(12), e114003. http://doi.org/10.1371/journal.pone.0114003

Fenichel P, Dechaux H, Harthe C, Gal J, Ferrari P, Pacini P, et al. (2012). Unconjugated bisphenol A cord blood levels in boys with descended or undescended testes. Hum Reprod 27:983–90.

Fierens T, Servaes K, Van Holderbeke M, Geerts L, De Henauw S, Sioen I, Vanermen G. (2012). Analysis of phthalates in food products and packaging materials sold on the Belgian market. Food Chem Toxicol. 50 2575–2583.

García-Arevalo M, Alonso-Magdalena P, Rebelo Dos Santos J, Quesada I, Carneiro EM, Nadal A. (2014). Exposure to bisphenol-A during pregnancy partially mimics the effects of a high-fat diet altering glucose homeostasis and gene expression in adult male mice. PLoS One. 9: e100214.

Geens, T., Dirtu, A. C., Dirinck, E., Malarvannan, G., Van Gaal, L., Jorens, P. G., & Covaci, A. (2015). Daily intake of bisphenol A and triclosan and their association with anthropometric data, thyroid hormones and weight loss in overweight and obese individuals. Environ Int, 76, 98–105. https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.12.003

Genuis, S. J., Beesoon, S., Birkholz, D., & Lobo, R. A. (2012). Human excretion of bisphenol A: Blood, urine, and sweat (BUS) study. J. Environ. Public Health, 2012. https://doi.org/10.1155/2012/185731

Gerona RR, Woodruff TJ, Dickenson CA, et al. (2013). Bisphenol-A (BPA), BPA glucuronide, and BPA sulfate in midgestation umbilical cord serum in a

northern and central California population. Environ Sci Technol. 47:12477–12485.

Gong, M., Weschler, C. J., & Zhang, Y. (2016). Impact of clothing on dermal exposure to phthalates: observations and insights from sampling both skin and clothing. Environ Sci Technol. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00113

Goodman, J. E. and Peterson, M. K. (2014). Bisphenol A. Encyclopedia of Toxicology: Third Edition, 42(5), 514–518. America's children and the environment. Updated August 2017. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00366-3

Gore, A. C., Chappell, V. A., Fenton, S. E., Flaws, J. A., Nadal, A., Prins, G. S., … Zoeller, R. T. (2015). Executive Summary to EDC-2: The Endocrine Society's second Scientific Statement on endocrine-disrupting chemicals. Endocrine Rev, *36*(6), 593–602. https://doi.org/10.1210/er.2015-1093

Han, C. and Hong, Y. C. (2016). Bisphenol A, Hypertension, and Cardiovascular Diseases: Epidemiological, Laboratory, and Clinical Trial Evidence. Curr Hyperten Rep, 18(2), 1–5. https://doi.org/10.1007/s11906-015-0617-2

Hanaoka T, Kawamura N, Hara K, Tsugane S. (2002). Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidyl ether and mixed organic solvents. Occup Environ Med 59:625–8

Harley KG, Aguilar Schall R, Chevrier J, et al. (2013a). Prenatal and postnatal bisphenol A exposure and body mass index in childhood in the CHAMACOS cohort. Environ Health Perspect. 121:514–520.

Harley, K.G., Gunier, R.B., Kogut, K., Johnson, C., Bradman, A., Calafat, A.M., Eskenazi, B., (2013b). Prenatal and early childhood bisphenol A concentrations and behavior in school-aged children. Environ. Res. 126 (October), 43–50.

Hauser R, Duty S, Godfrey-Bailey L, Calafat AM. (2004). Medications as a source of human exposure to phthalates. Environ Health Perspect 112:751–753

Hauser R. and Calafat A M. (2005). Phthalates and human health. Occup Environ Med 62:806–818.

Hauser, R., Meeker, J. D., Duty, S., Silva, M. J., & Calafat, A. M. (2006). Altered Semen Quality in Relation to Urinary Concentrations of Phthalate Monoester and Oxidative Metabolites. Epidemiology, 17(6), 682–691. https://doi.org/10.1097/01.ede.0000235996.89953.d7

Health Canada, (1994a). Priority substances list. Assessment Report: Di Butyl Phthalate. Government of Canada, Environment Canada, Health Canada.

Health Canada, (1994b). Priority substances list. Assessment Report: Bis(2-Ethylhexyl) Phthalate. Government of Canada, Environment Canada, Health Canada.

Heller CH and Clermont Y. (1964). Kinetics of the germinal epithelium in man. Recent Prog Horm Res 20:545–75.

Helm, D., (2007). Correlation between production amounts of DEHP and daily intake. Sci. Total Environ. 388 (1–3), 389–391. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.07.009.

Heudorf U., Volker Mersch-Sundermann, Angerer J., (2007). Phthalates: Toxicology and exposure. Int. J. Hyg. Environ. Health 210 623–634.

Ho SM, Tang WY, Belmonte de Frausto J, Prins GS. (2006). Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. Cancer Res. 66:5624–5632.

Hong YC, Park EY, Park MS, Ko JA, Oh SY, Kim H, et al. (2009). Community level exposure to chemicals and oxidative stress in adult population. Toxicol Lett 184:139–44.

Hong, S.B., Hong, Y.C., Kim, J.W., Park, E.J., Shin, M.S., Kim, B.N., Yoo, H.J., Cho, I.H., Bhang, S.Y., Cho, S.C., (2013). Bisphenol A in relation to behavior and learning of school-age children. J. Child Psychol. Psychiatry 54 (August (8)), 890–899

Hoppin, J. A., Jaramillo, R., London, S. J., Bertelsen, R. J., Salo, P. M., Sandler, D. P., & Zeldin, D. C. (2013). Phthalate exposure and allergy in the U.S. population: Results from NHANES 2005-2006. Environ Health Perspect, *121*(10), 1129–1134. https://doi.org/10.1289/ehp.1206211

Hotchkiss A.K., Rider C.V., Blystone C.R., Wilson V.S., Hartig P.C., Ankley G.T., et al., (2008). Fifteen years after Wingspread environmental endocrine disrupters and human and wildlife health: where we are today and where we need to go, Toxicol. Sci. 105 235–259.

Hsu, J.-Y., Ho, H.-H., & Liao, P.-C. (2015). The potential use of diisononyl phthalate metabolites hair as biomarkers to assess long-term exposure demonstrated by a rat model. Chemosphere, 118, 219–228. http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.09.025

Huang, P. C., Kuo, P. L., Chou, Y. Y., Lin, S. J., & Lee, C. C. (2009). Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns. Environ Int, 35(1), 14–20. https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.05.012

Huang, P. C., Kuo, P. L., Guo, Y. L., Liao, P. C., & Lee, C. C. (2007). Associations between urinary phthalate monoesters and thyroid hormones in pregnant women. Human Repro, 22(10), 2715–2722. https://doi.org/10.1093/humrep/dem205

Jaimes, R., Swiercz, A., Sherman, M., Muselimyan, N., Marvar, P.J., Posnack, N.G. (2017). Plastics and cardiovascular health: phthalates may disrupt heart rate variability and cardiovascular reactivity. Am. J. Physiol Heart Circul Physiol 313 (5):H1044-H53.

Jensen, M. S., Anand-Ivell, R., Nørgaard-Pedersen, B., Jönsson, B. A. G., Bonde, J. P., Hougaard, D. M., … Toft, G. (2015). Amniotic fluid phthalate levels and male fetal gonad function. Epidemiology (Cambridge, Mass.), 26(1), 91–9. http://doi.org/10.1097/EDE.0000000000000198

Jurewicz, J., Radwan, M., Sobala, W., Ligocka, D., Radwan, P., Bochenek, M., … Hanke, W. (2013). Human urinary phthalate metabolites level and main semen parameters, sperm chromatin structure, sperm aneuploidy and reproductive hormones. Reprod Toxicol, 42(June), 232–241. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.10.001

Kandaraki E, Chatzigeorgiou A, Livadas S, Palioura E, Economou F, Koutsilieris M, et al. (2011). Endocrine disruptors and polycystic ovary syndrome (PCOS): elevated serum levels of bisphenol A in women with PCOS. J Clin Endocrinol Metab 96:E480–4.

Kato, K., Silva, M. J., Wolf, C., Gray, L. E., Needham, L. L., & Calafat, A. M. (2007). Urinary metabolites of diisodecyl phthalate in rats. Toxicol, 236(1–2), 114–122. https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.04.009

Katsikantami, I., Colosio, C., Alegakis, A., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Rizos, A. K., … Tsatsakis, A. M. (2019). Estimation of daily intake and risk assessment of organophosphorus pesticides based on biomonitoring data – The internal exposure approach. Food Chem Toxicol, 123, 57–71. https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.10.047

Katsikantami, I., Sifakis, S., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Kalantzi, O. I., Tsatsakis, A. M., & Rizos, A. K. (2016). A global assessment of phthalates burden and related links to health effects. Environ Int, 97, 212–236. https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.013

Keresztes, S., Tatár, E., Czégény, Z., Záray, G., Mihucz, V.G. (2013). Study on the leaching of phthalates from polyethylene terephthalate bottles into mineral

water. Sci. Total Environ. 458-460 (262), 451–458. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.056.

Kim JH, Rozek LS, Soliman AS, et al. (2013a). Bisphenol A-associated epigenomic changes in prepubescent girls: a crosssectional study in Gharbiah, Egypt. Environ Health.12:33

Kim JY, Kim HH, Cho KH. (2013b). Acute cardiovascular toxicity of sterilizers, PHMG, and PGH: severe inflammation in human cells and heart failure in zebrafish. Cardiovasc Toxicol.13:148–160.

Kobayashi K, Kubota H, Ohtani K, Hojo R, Miyagawa M. (2012). Lack of effects for dietary exposure of bisphenol A during in utero and lactational periods on reproductive development in rat offspring. J Toxicol Sci. 37:565–573.

Kobrosly, R.W., Evans, S., Miodovnik, A., Barrett, E.S., Thurston, S.W., Calafat, A.M., Swan, S.H. (2014). Prenatal phthalate exposures and neurobehavioral development scores in boys and girls at 6-10 years of age. Environ. Health Perspect. 122 (5), 521–528. http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1307063

Koch, H. M., Bolt, H. M., & Angerer, J. (2004). Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human urine and serum after a single oral dose of deuterium-labelled DEHP. Arch Toxicol, 78(3), 123–30. https://doi.org/10.1007/s00204-003-0522-3

Koch, H. M., Bolt, H. M., Preuss, R., & Angerer, J. (2005). New metabolites of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in human urine and serum after single oral doses of deuterium-labelled DEHP. Arch Toxicol, 79(7), 367–76. https://doi.org/10.1007/s00204-004-0642-4

Koch, H. M., Christensen, K. L. Y., Harth, V., Lorber, M., & Brüning, T. (2012). Di-n-butyl phthalate (DnBP) and diisobutyl phthalate (DiBP) metabolism in a human volunteer after single oral doses. Arch Toxicol., 86, 1829–1839. https://doi.org/10.1007/s00204-012-0908-1

Ku, H.Y., Su, P.H., Wen, H.J., Sun, H.L., Wang, C.J., Chen, H.Y., Jaakkola, J.J.K., Wang, S.L., Chen, M.L., Wu, M.T., Hsieh, C.J. (2015). Prenatal and postnatal exposure to phthalate esters and asthma: a 9-year follow-up study of a taiwanese birth cohort. PLoS One 10 (4), 1–14. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0123309.

Kurebayashi, H., Betsui, H., & Ohno, Y. (2003). Disposition of a low dose of 14C-bisphenol A in male rats and its main biliary excreation as BPA glucuronide. Toxicol Sci, 73(1), 17–25. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfg040

Lang IA, Galloway TS, Scarlett A, et al. (2008). Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. JAMA. 300:1303–1310.

Langley-Evans, S. (2006). Developmental programming of health and disease. Proceedings of the Nutrition Society, 65(1), 97–105. Retrieved from http://journals.cambridge.org/abstract_s0029665106000127

Larsson, M., Hägerhed-Engman, L., Kolarik, B., James, P., Lundin, F., Janson, S., Sundell, J., Bornehag, C.G. (2010). PVC - as flooring material - and its association with incident asthma in a Swedish child cohort study. Indoor Air 20 (6), 494–501. http://dx.doi. org/10.1111/j.1600-0668.2010.00671.x.

Lathi RB, Liebert CA, Brookfield KF, et al. (2014). Conjugated bisphenol A in maternal serum in relation to miscarriage risk. Fertil Steril. 102:123–128.

LCSP (2011). Phthalates and their alternatives: Health and Environmental concerns. Technical Briefing. Lowell Centre for Sustainable Production. University of Massachusetts Lowell.

Lee SH, Kang SM, Choi MH, et al. (2014). Changes in steroid metabolism among girls with precocious puberty may not be associated with urinary levels of bisphenol A. Reprod Toxicol. 44:1–6.

Li DK, Zhou Z, Miao M, He Y, Qing D, Wu T, et al. (2010a). Relationship between urine bisphenol-A level and declining male sexual function. J Androl 31:500–6.

Li DK, Zhou Z, Miao M, He Y, Wang J, Ferber J, et al. (2011). Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality. Fertil Steril 95:625–30.

Li DK, Zhou Z, Qing D, He Y, Wu T, Miao M, et al. (2010b). Occupational exposure to bisphenol-A (BPA) and the risk of self-reported male sexual dysfunction. Hum Reprod 25:519–27.

Li X., Ying G.G., Zhao J.L., Chen Z.F., Lai H.J., Su H.C. (2013). 4-Nonylphenol, bisphenol-A and triclosan levels in human urine of children and students in China, and the effects of drinking these bottled materials on the levels, Environment International 52;81–86.

Liao C and Kannan K. (2012). Determination of free and conjugated forms of bisphenol A in human urine and serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Environ Sci Technol. 46:5003–5009.

Lien, Y.-J., Ku, H.-Y., Su, P.-H., Chen, S.-J., Chen, H.-Y., Liao, P.-C., Chen, W.-J., Wang, S.-L., (2015). Prenatal exposure to phthalate esters and behavioral syndromes in children at 8 years of age: Taiwan maternal and infant cohort

study. Environ. Health Perspect. 123 (1), 95–100. http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1307154

Liu, T., Li, N., Zhu, J., Yu, G., Guo, K., Zhou, L., … Ye, L. (2014). Effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate on the hypothalamus-pituitary-ovarian axis in adult female rats. Reprod Toxicol, 46, 141–147. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2014.03.006

Mahalingaiah S, Meeker JD, Pearson KR, Calafat AM, Ye X, Petrozza J, et al. (2008). Temporal variability and predictors of urinary bisphenol A concentrations in men and women. Environ Health Perspect 116:173–8.

Meeker JD and Ferguson KK. (2011).Relationship between urinary phthalate and bisphenol A concentrations and serum thyroid measures in U.S. adults and adolescents from the National Health and Nutrition Examina- tion Survey (NHANES) 2007-2008. Environ Health Perspect 119: 1396–402.

Meeker JD, Calafat AM, Hauser R. (2010a). Urinary bisphenol A concentrations in relation to serum thyroid and reproductive hormone levels in men from an infertility clinic. Environ Sci Technol 44:1458–63.

Meeker JD, Ehrlich S, Toth TL, Wright DL, Calafat AM, Trisini AT, et al. (2010b). Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from an infertility clinic. Reprod Toxicol 30:532–9.

Melzer D, Osborne NJ, Henley WE, et al. (2012). Urinary bisphenol A concentration and risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women. Circulation 125:1482–1490.

Melzer D, Rice NE, Lewis C, Henley WE, Galloway TS. (2010). Association of urinary bisphenol A concentration with heart disease: evidence from NHANES 2003/06. PLoS One. 5(1): e8673.

Mendiola J, Jorgensen N, Andersson AM, Calafat AM, Ye X, Redmon JB, et al. (2010). Are environmental levels of bisphenol a associated with reproductive function in fertile men? Environ Health Perspect 118:1286–91.

Miao M, Yuan W, He Y, Zhou Z, Wang J, Gao E, et al. (2011). In utero exposure to bisphenol-A and anogenital distance of male offspring. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol 91:867–72.

Miodovnik A, Engel SM, Zhu C, Ye X, Soorya LV, Silva MJ, et al. (2011). Endocrine disruptors and childhood social impairment. Neurotoxicology 32: 261–7.

Miyawaki J, Sakayama K, Kato H, Yamamoto H, Masuno H. (2007). Perinatal and postnatal exposure to bisphenol A increases adipose tissue mass and serum cholesterol level in mice. J Atheroscler Thromb. 14:245–252.

Nakamura K, Itoh K, Dai H, et al. (2012). Prenatal and lactational exposure to low-doses of bisphenol A alters adult mice behavior. Brain Dev. 34:57–63.

National Institute of Health (2010). National Institute of Health. U.S. Department of Health and Human Services, USA. http://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/ endocrine/ (Accessed 13.04.16)

Ning G, Bi Y, Wang T, Xu M, Xu Y, Huang Y, et al. (2011). Relationship of urinary bisphenol A concentration to risk for prevalent type 2 diabetes in Chinese adults: a cross-sectional analysis. Ann Intern Med 155:368–74.

Nishikawa, M., H. Iwano, R. Yanagisawa, N. Koike, H. Inoue, and H. Yokota. (2010). Placental transfer of conjugated bisphenol A and subsequent reactivation in the rat fetus. Environ Health Perspect 118 (9):1196-203

Park, S., Kim, B.-N., Cho, S.-C., Kim, Y., Kim, J.-W., Lee, J.-Y., Hong, S.-B., Shin, M.-S., Yoo, H., Im, H., Cheong, J., Han, D. (2014). Association between urine phthalate levels and poor attentional performance in children with attention-deficit hyperactivity disorder with evidence of dopamine gene-phthalate interaction. Int. J. Environ. Res. Public Health 11 (7), 6743–6756. http://dx.doi.org/10.3390/ijerph110706743

Patisaul HB and Bateman HL. (2008). Neonatal exposure to endocrine active compounds or an ER_ agonist increases adult anxiety and aggression in gonadally intact male rats. Horm Behav. 53:580–588.

Patterson TA, Twaddle NC, Roegge CS, Callicott RJ, Fisher JW, Doerge DR. (2013). Concurrent determination of bisphenol A pharmacokinetics in maternal and fetal rhesus monkeys. Toxicol Appl Pharmacol. 267:41–48.

Pereira-Fernandes A, Demaegdt H, Vandermeiren K, et al. (2013). Evaluation of a screening system for obesogenic compounds: screening of endocrine disrupting compounds and evaluation of the PPAR dependency of the effect. PLoS One. 8:e77481.

Perera F, Vishnevetsky J, Herbstman JB, Calafat AM, Xiong W, Rauh V, et al. (2012). Prenatal bisphenol a exposure and child behavior in an inner-city cohort. Environ Health Perspect 120:1190–4.

Peretz J, Vrooman L, Ricke WA, et al. (2014). Bisphenol A and reproductive health: update of experimental and human evidence, 2007–2013. Environ Health Perspect. 122:775–786.

Pollock T, Tang B, de Catanzaro D. (2014). Triclosan exacerbates the presence of 14C-bisphenol A in tissues of female and male mice. Toxicol Appl Pharmacol. 278:116–123.

Rais-Bahrami, K., Nunez, S., Revenis, M. E., Luban, N. L. C., & Short, B. L. (2004). Follow-up study of adolescents exposed to Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) as neonates on extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) support. Environ Health Perspect, 112(13), 1339–1340. http://doi.org/10.1289/ehp.6901

Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: A review of the literature. Reprod Toxicol. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008

Roen, E.L., Wang, Y., Calafat, A.M., Wang, S., Margolis, A., Herbstman, J., Hoepner, L.A., Rauh, V., Perera, F.P., (2015). Bisphenol A exposure and behavioral problems among inner city children at 7–9 years of age. Environ. Res. 142 (October), 739– 745. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2015.01.014.

Rubin B.S. and Soto A.M. (2009). Bisphenol A. Perinatal exposure and body weight, Mol. Cell. Endocrinol. 304; 55–62.

Ryan BC and Vandenbergh JG. (2006). Developmental exposure to environmental estrogens alters anxiety and spatial memory in female mice. Horm Behav. 50:85–93.

Ryan KK, Haller AM, Sorrell JE, Woods SC, Jandacek RJ, Seeley RJ. (2010). Perinatal exposure to bisphenol-A and the development of metabolic syndrome in CD-1 mice. Endocrinology. 151:2603–2612.

Salian S, Doshi T, Vanage G. (2009). Perinatal exposure of rats to bisphenolAaffects the fertility of male offspring. Life Sci. 85:742–752.

Sathish, V. and Prakash, Y.S. (2016). Sex Differences in Pulmonary Anatomy and Physiology: Implications for Health and Disease. In: Neigh GN and Mitzefelt MM, editors. Sex Differences in Physiology: Academic Press; 2016: p. 89-103.

Saura M, Marquez S, Reventun P, et al. (2014). Oral administration of bisphenol A induces high blood pressure through angiotensin II/CaMKII-dependent uncoupling of eNOS. FASEB J. 28:4719–4728.

Schettler T. (2005). Human exposure to phthalates via consumer products. International Journal of Andrology ISSN 0105-6263

Schmidt, C. W. (2018). Scratching the Surface : Exploring the Association between Prenatal Phthalate Exposure and Eczema in Boys. Environ Health Perspect, 126(5), 10–11.

Shankar A and Teppala S. (2011). Relationship between urinary bisphenol A levels and diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 96:3822–3826.

Shankar A, Teppala S, Sabanayagam C. (2012). Urinary bisphenol A levels and measures of obesity: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2008. ISRN Endocrinol. 2012:965243.

Shi, H., Cao, Y., Shen, Q., Zhao, Y., Zhang, Z., Zhang, Y. (2015). Association between urinary phthalates and pubertal timing in Chinese adolescents. J. Epidemiol. 25 (9), 574–582. http://dx.doi.org/10.2188/jea.JE20140205

Shu, H., Jonsson, B.A., Larsson, M., Nanberg, E., Bornehag, C.G. (2014). PVC flooring at home and development of asthma among young children in Sweden, a 10-year follow-up. Indoor Air 24, 227–235. http://dx.doi.org/10.1111/ina.12074

Silver MK, O'Neill MS, Sowers MR, Park SK. (2011). Urinary bisphenol A and type-2 diabetes in U.S. adults: data from NHANES 2003-2008. PloS One 6:e26868.

Singh S. and Li SS. (2011). Phthalates: toxicogenomics and inferred human diseases. Genomics 97:148-157

Somm E, Schwitzgebel VM, Toulotte A, et al. (2009). Perinatal exposure to bisphenol A alters early adipogenesis in the rat. Environ Health Perspect. 117:1549–1555.

Spanier AJ, Kahn RS, Kunselman AR, Hornung R, Xu Y, Calafat AM, et al. (2012). Prenatal exposure to bisphenol A and child wheeze from birth to 3 years of age. Environ Health Perspect 120:916–20.

Stein, T.P., Schluter, M.D., Steer, R.A., Ming, X. (2013). Autism and phthalate metabolite glucuronidation. J. Autism Dev. Disord. 43 (11), 2677–2685. http://dx.doi.org/10. 1007/s10803-013-1822-y

Sun Q, Cornelis MC, Townsend MK, et al. (2014). Association of urinary concentrations of bisphenol A and phthalate metabolites with risk of type 2 diabetes: a prospective investigation in the Nurses' Health Study (NHS) and NHSII cohorts. Environ Health Perspect. 122:616–623.

Susiarjo M, Sasson I, Mesaros C, Bartolomei MS. (2013). Bisphenol A exposure disrupts genomic imprinting in the mouse. PLoS Genet. 9:e1003401.

Susiarjo M., Xin F., Bansal A., Stefaniak M., Li C., Simmons R.A., et al., (2015). Bisphenol A exposure disrupts metabolic health across multiple generations in the mouse, Endocrinology 156; 2049–2058.

Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, et al. (2005). Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. Environ Health Perspect 113:1056–1061

Takeuchi T and Tsutsumi O. (2002). Serum bisphenol a concentrations showed gender dif- ferences, possibly linked to androgen levels. Biochem Biophys Res Commun 291:76–8.

Tang WY, Morey LM, Cheung YY, Birch L, Prins GS, Ho SM. (2012). Neonatal exposure to estradiol/bisphenol A alters promoter methylation and expression of Nsbp1 and Hpcal1 genes and transcriptional programs of Dnmt3a/b and Mbd2/4 in the rat prostate gland throughout life. Endocrinol. 153:42–55.

Teeguarden J, Hanson-Drury S, Fisher JW, Doerge DR. (2013). Are typical human serum BPA concentrations measurable and sufficient to be estrogenic in the general population? Food Chem Toxicol. 62:949–963.

Tiwari D and Vanage G. (2013). Mutagenic effect of bisphenol A on adult rat male germ cells and their fertility. Reprod Toxicol. 40:60–68.

Trasande L, Attina TM, Blustein J. (2012). Association between urinary bisphenol A concentration and obesity prevalence in children and adolescents. JAMA. 308:1113–1121.

Trasande, L., and Attina, T. M. (2015). Association of Exposure to Di-2-Ethylhexylphthalate Replacements With Increased Blood Pressure in Children and AdolescentsNovelty and Significance. Hypertension, 66(2), 301–308. https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05603

Trasande, L., Sathyanarayana, S., Spanier, A. J., Trachtman, H., Attina, T. M., & Urbina, E. M. (2013). Urinary phthalates are associated with higher blood pressure in childhood. J. Pediatr, 163(3), 747–753.e1. https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.03.072

Tsatsakis, A. M., Katsikantami, I., Kalantzi, O.-I., Sevim, Ç., Tsarouhas, K., Sarigiannis, D., Tzatzarakis, M. N., & Rizos, A. K. (2019). Phthalates: Exposure and Health Effects. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11434-4

Tsatsakis, A. M., Kouretas, D., Tzatzarakis, M. N., Stivaktakis, P., Tsarouhas, K., Golokhvast, K. S., Rakitskii, V. N., Tutelyan, V. A., Hernandez, A. F., Rezaee, R., Chung, G., Fenga, C., Engin, A. B., Neagu, M., Arsene, A. L., Docea, A. O., Gofita, E., Calina, E., Taitzoglou, I., Liesivuori, J., Hayes, A. W., Gutnikov, S., Tsitsimpikou, C. (2017). Simulating real-life exposures to uncover possible risks to human health: A proposed consensus for a novel methodological approach. Hum Exp Toxicol, 36(6), 554–564. https://doi.org/10.1177/0960327116681652

Tsumura, Y., Ishimitsu, S., Saito, I., Sakai, H., Kobayashi, Y., Tonogai, Y., (2001). Eleven phthalate esters and di(2- ethylhexyl) adipate in one-week duplicate diet samples obtained from hospitals and their estimated daily intake. Food Addit. Contam. 18, 449–640.

Tyl RW, Myers CB, Marr MC, et al. (2008). Two-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD-1 (Swiss) mice. Toxicol Sci. 2008;104:362–384.

Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Kavvalakis, M. P., Barmpas, M., Kokkinakis, E. N., Xenos, K., & Tsatsakis, A. M. (2015). Biomonitoring of bisphenol A in hair of Greek population. Chemosphere, 118(1), 336–341. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.044

U.S. FDA (2011). Food and Drug Administration. Public Health Notification: PVC Devices Containing the Plasticizer DEHP.

US EPA, (1988). In: U. S. Environmental Protection Agency (Ed.), Integrated Risk Information System (IRIS), Butyl Benzyl Phthalate (BBP). Hazard Summary.US EPA, (1987a). In: U. S. Environmental Protection Agency (Ed.), Integrated Risk Information System (IRIS), Di ethyl phthalate (DEP). Hazard Summary.

US EPA, (1987a). In: U. S. Environmental Protection Agency (Ed.), Integrated Risk Information System (IRIS), Di ethyl phthalate (DEP). Hazard Summary.

US EPA, (1987b). In: U. S. Environmental Protection Agency (Ed.), Integrated Risk Information System (IRIS), Di butyl phthalate (DBP). Hazard Summary.

US EPA, (1987c). In: U. S. Environmental Protection Agency (Ed.), Integrated Risk Information System (IRIS), Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). Hazard Summary.

van Esterik JC, Dollé ME, Lamoree MH, et al. (2014). Programming of metabolic effects in C57BL/6JxFVB mice by exposure to bisphenol A during gestation and lactation. Toxicology. 321:40–52.

Vandenberg, L. N., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N., & Welshons, W. V. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). Reprod Toxicol, 24(2), 139–177. http://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.07.010

Varayoud J, Ramos JG, Bosquiazzo VL, Lower M, Muñoz-de-Toro M, Luque EH. (2011). Neonatal exposure to bisphenol A alters rat uterine implantation-associated gene expression and reduces the number of implantation sites. Endocrinol. 152:1101–1111.

Varayoud J, Ramos JG, Muñoz-de-Toro M, Luque EH. (2014). Long-lasting effects of neonatal bisphenol A exposure on the implantation process. Vitam Horm. 94:253–275.

Veiga-Lopez A, Pennathur S, Kannan K, et al. (2015). Impact of gestational bisphenol A on oxidative stress and free fatty acids: human association and interspecies animal testing studies. Endocrinol. 156:911–922.

Völkel W, Colnot T, Csanády GA, Filser JG, Dekant W. (2002). Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. Chem Res Toxicol. 15(10): 1281–7

vom Saal FS and Welshons WV. (2014). Evidence that bisphenol A (BPA) can be accurately measured without contamination in human serum and urine, and that BPA causes numerous hazards from multiple routes of exposure. Mol Cell Endocrinol. 398:101–113.

vom Saal FS, Nagel SC, Coe BL, Angle BM, Taylor JA. (2012). The estrogenic endocrine disrupting chemical bisphenol A (BPA) and obesity. Mol Cell Endocrinol. 354:74–84.

Wang J, Sun B, Hou M, Pan X, Li X. (2013a). The environmental obesogen bisphenol A promotes adipogenesis by increasing the amount of 11_-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in the adipose tissue of children. Int J Obes (Lond). 37:999–1005.

Wang T, Li M, Chen B, Xu M, Xu Y, Huang Y, et al. (2012). Urinary bisphenol A (BPA) concentration associates with obesity and insulin resistance. J Clin Endocrinol Metab 97:E223–7

Wang T, Lu J, Xu M, Xu Y, Li M, Liu Y, et al. (2013b). Urinary Bisphenol A concentration and thyroid function in Chinese adults. Epidemiology 24: 295–302.

Wei J, Lin Y, Li Y, et al. (2011). Perinatal exposure to bisphenol A at reference dose predisposes offspring to metabolic syndrome in adult rats on a high-fat diet. Endocrinol. 152:3049–3061.

WHO (2003). Di(2-ethylhexyl)adipate in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization (WHO/SDE/WSH/03.04/68).

Wilkes, C. E., Daniels, C. A., Summers, J. M. (2005). PVC Handbook, Hanser, ISBN 3-446-22714-8.

Wittassek, M., and Angerer, J. (2008). Phthalates: Metabolism and exposure. International Journal of Andrology, 31(2), 131–136. http://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2007.00837.x

Wittassek, M., Koch, H. M., Angerer, J., & Brüning, T. (2011). Assessing exposure to phthalates - The human biomonitoring approach. Mol Nutr Food Res, 55(1), 7–31. http://doi.org/10.1002/mnfr.201000121

Xiao S, Diao H, Smith MA, Song X, Ye X. (2011). Preimplantation exposure to bisphenol A (BPA) affects embryo transport, preimplantation embryo development, and uterine receptivity in mice. Reprod Toxicol. 32:434–441.

Yan S, Chen Y, Dong M, Song W, Belcher SM, Wang HS. (2011). Bisphenol A and 17_-estradiol promote arrhythmia in the female heart via alteration of calcium handling. PLoS One. 6:e25455.

Yolton K, Xu Y, Strauss D, Altaye M, Calafat AM, Khoury J. (2011). Prenatal exposure to bisphenol A and phthalates and infant neurobehavior. Neurotoxicol Teratol 33:558–66.

Zalko D., Jacques C., Duplan H., Bruel S., Perdu E. (2011). Viable skin efficiently absorbs and metabolizes bisphenol A, Chemosphere 82; 424–430.

Zhang, X.-F., Zhang, T., Han, Z., Liu, J.-C., Liu, Y.-P., Ma, J.-Y., … Shen, W. (2015b). Transgener0ational inheritance of ovarian development deficiency induced by maternal diethylhexyl phthalate exposure. Reproduction, Fertility and Development, 27(8), 1213. https://doi.org/10.1071/RD14113

Zhang, Y., Cao, Y., Shi, H., Jiang, X., Zhao, Y., Fang, X., Xie, C. (2015a). Could exposure to phthalates speed up or delay pubertal onset and development? A 1.5-year follow- up of a school-based population. Environ. Int. 83, 41–49. http://dx.doi.org/10.1016/ j.envint.2015.06.005

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Πειραματικό μέρος

2.1 Δειγματοληψία

2.1.1 Πληθυσμός μελέτης

Για την επίτευξη του στόχου της παρούσας διατριβής και τη συλλογή των δειγμάτων ήταν απαραίτητη η συνεργασία με τη μαιευτική-γυναικολογική κλινική «ΜΗΤΕΡΑ» και το Δρ. Σταύρο Σηφάκη. Στην έρευνα πήραν μέρος εκατό έγκυες γυναίκες που υποβλήθησαν στην εξέταση της αμνιοπαρακέντισης κατά το τέλος του πρώτου ή αρχή του δεύτερου τριμήνου της κύησης, όπως αυτή καθορίστηκε για ιατρικούς λόγους από τον θεράπων ιατρό. Έγκυες γυναίκες ηλικίας μικρότερης από τα 18 έτη αποκλείονταν από τη μελέτη.

Κάθε μια από τις συμμετέχουσες έδωσε δείγματα ούρων, τρίχας και αμνιακού υγρού γραπτή συγκατάθεση και τη συμπλήρωση ερωτηματολογίου σχετικά με α) το ιατρικό ιστορικό (αλλεργίες, κληρονομικά νοσήματα, χρόνιες παθήσεις, προβλήματα σε προηγούμενες κυήσεις), β) δημογραφικές πληροφορίες (ηλικία, εκπαίδευση, επάγγελμα, τόπος κατοικίας), γ) διατροφικές και καθημερινές συνήθειες (κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ, αναψυκτικών, γαλακτοκομικών προϊόντων και λαχανικών), δ) σωματομερικά χαρακτηριστικά (ύψος, βάρος) και ε) πληροφορίες σχετικά με την έκθεση στους μελετώμενους ρυπαντές μέσω της συχνότητας χρήσης πλαστικών συσκευών για την αποθήκευση των τροφίμων, χρήση καλλυντικών, πηγή πόσιμου νερού (εμφιαλωμένο, δίκτυο), παρουσία πλαστικών δεξαμενών και σωληνώσεων στο δίκτυο ύδρευσης, παρουσία πλαστικής ταπετσαρίας τοίχου ή δαπέδου στον εσωτερικό χώρο και χρήση πλαστικής μεμβράνης περιτύλιξης τροφίμων. Μετά την γέννηση του βρέφους συλλέχτηκαν πληροφορίες μέσω τηλεφωνικής επικοινωνίας με τις συμμετέχουσες σχετικά με την έκβαση της εγκυμοσύνης και την πορεία υγείας του παιδιού κατά το πρώτο εξάμηνο (αναπνευστικά προβλήματα, αλλεργίες, δυσμορφίες, βάρος και ύψος κατά την γέννηση και περίμετρος κεφαλής). Τα ερωτηματολόγια που

χρησιμοποιήθηκαν και το ενημερωτικό φυλλάδιο επισυνάπτονται στο Παράρτημα ΙΙΙ. Η μελέτη αυτή εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας της Έρευνας του Πανεπιστημίου Κρήτης (43/22.11.2018).

2.1.2 Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων

Τα δείγματα τρίχας συλλέγονταν από το πίσω μέρος της κεφαλής, όλο το μήκος της τρίχας και αποθηκεύονταν σε χάρτινο φάκελο σε σκοτεινό και ξηρό μέρος σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι την ανάλυση. Τα δείγματα ούρων συλλέγονταν σε αποστειρωμένους ουροσυλλέκτες από πολυπροπυλένιο, διατηρούνταν στην συντήρηση του ιατρείου (4° C) μέχρι να γίνει η μεταφορά τους στο χώρο του εργαστηρίου όπου γινόταν η αρχειοθέτηση και αποθήκευση σε ειδικά φιαλίδια πολυπροπυλενίου (cryovials) στην κατάψυξη (-20° C). Τα δείγματα αμνιακού υγρού συλλέγονταν με γυάλινη αποστειρωμένη σύριγγα χωρητικότητας 10 ml, μεταφέρονταν σε γυάλινα σκουρόχρωμα φιαλίδια και αποθηκεύονταν στην κατάψυξη (-20° C). Σε κάθε δείγμα δόθηκε μοναδιαίος κωδικός για την διασφάλιση της ανωνυμίας των συμμετεχόντων και με βάση του κωδικού αυτού πραγματοποιήθηκαν οι αναλύσεις, η καταχώρηση των αποτελεσμάτων και η στατιστική επεξεργασία τους.

2.2 Πειραματική διαδικασία

2.2.1 Υλικά και αντιδραστήρια

Οι πρότυπες ουσίες των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων mono 2-ethylhexyl phthalate (mEHP), mono 2-ethyl-5-hydroxyhexyl phthalate (mEHHP), mono 2-ethyl-5-oxohexyl phthalate (mEOHP), mono ethyl phthalate (mEP), mono n-butyl phthalate (mnBP), mono isobutyl phthalate (miBP) και mono benzyl phthalate (mBzP) αγοράστηκαν σε καθαρότητα 98%

από την Toronto Research Chemicals (TRC Inc). Όλες οι ουσίες ήταν σε στερεή μορφή εκτός από τους mEHHP και mEOHP οι οποίοι ήταν ελαιώδεις. Οι δισφαινόλες A, F και S αγοράστηκαν από την εταιρία Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Ως εσωτερικό πρότυπο (internal standard, IS) χρησιμοποιήθηκε η ουσία Phenobarbital-d^5, η οποία αγοράστηκε από την Isotec Inc (Miamisburg OH, USA). Οι διαλύτες μεθανόλη, ακετονιτρίλιο και οξικός αιθυλεστέρας ήταν Chromasolv grade for HPLC και αγοράστηκαν από την Sigma–Aldrich (St Louis, MO, USA). Το υπερκάθαρο νερό παραγόταν από σύστημα καθαρισμού του νερού Direct-Q 3UV (Merck, Germany). Για την ενζυμική υδρόλυση στα δείγματα ούρων και αμνιακού υγρού χρησιμοποιήθηκε το ένζυμο Escherichia Coli β-glucuronidase K12 (140 units/mg), το οποίο αγοράστηκε από την εταιρία Sigma-Aldrich σε ποσότητα 5 ml. Για τη συλλογή του αμνιακού υγρού χρησιμοποιήθηκαν γυάλινες σύριγγες 10 ml FORTUNA OPTIMA (Germany) και σκουρόχρωμα γυάλινα φιαλίδια των 5 ml για την αποθήκευση του δείγματος (Sigma-Aldrich). Για την εκχύλιση στερεάς φάσης χρησιμοποιήθηκαν φυσίγγια εκχύλισης C18 (100 mg).

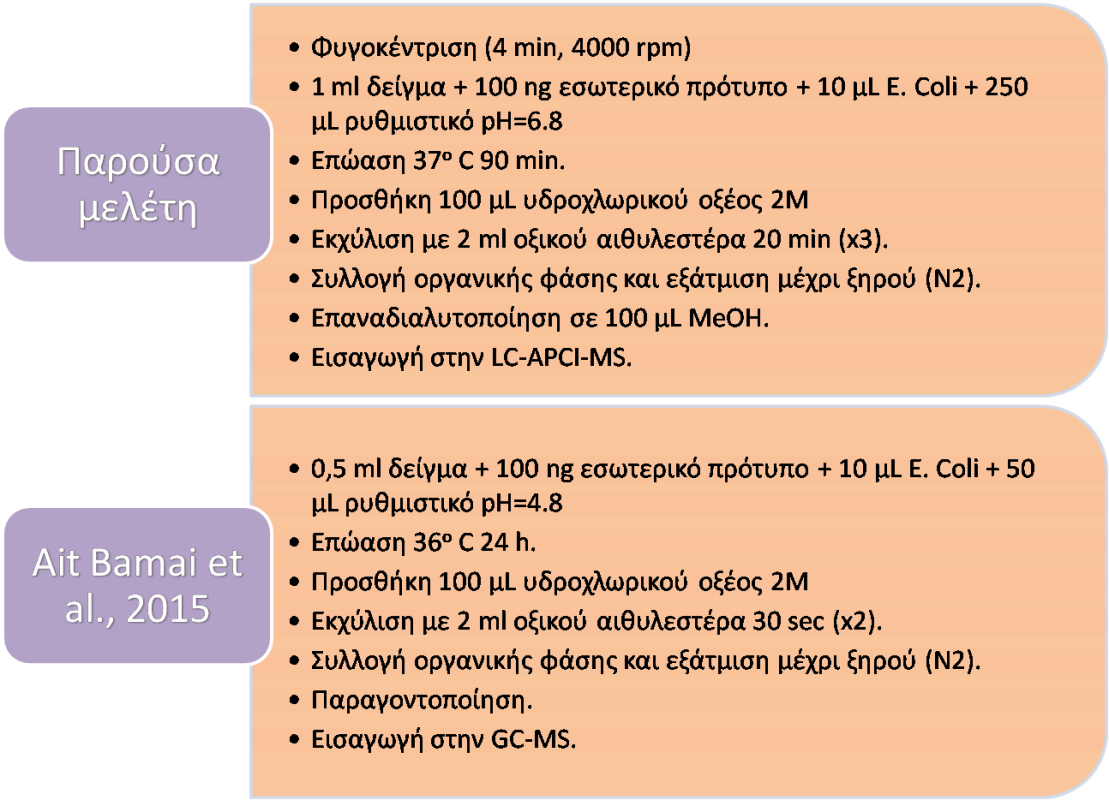
2.2.2 Προετοιμασία της τρίχας

Το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε για την ανάλυση των δειγμάτων τρίχας είχε ήδη αναπτυχθεί και επικυρωθεί πλήρως από την ομάδα του εργαστηρίου (Karzi et al., 2018; Tzatzarakis et al., 2015). Η πειραματική διαδικασία περιλάμβανε το πλύσιμο των δειγμάτων τρίχας δύο φορές με 5 ml νερό και 2 ml μεθανόλης για την απομάκρυνση των εξωτερικών επιμολύνσεων και στέγνωμα στους 50°C. Τα δείγματα κόπηκαν σε μικρότερα κομμάτια και ποσότητα 100 mg τοποθετούνταν σε φιαλίδια πολυπροπυλενίου μαζί με 100 ng IS και 2 ml μεθανόλης. Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε στους υπερήχους σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 50 ± 5°C για δύο ώρες και επαναλήφθηκε συνολικά τρεις φορές. Τα οργανικά εκχυλίσματα συνδυάστηκαν και εξατμίστηκαν μέχρι ξηρού υπό ήπια ροή αζώτου και το στερεό υπόλειμμα επαναδιαλυτοποιήθηκε σε 100 μL μεθανόλης. Η ανίχνευση

των ουσιών πραγματοποιήθηκε με υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας και πηγή χημικού ιονισμού ατμοσφαιρική πίεσης (liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry, LC-APCI-MS).

2.2.3 Προετοιμασία του αμνιακού υγρού

Για την επεξεργασία των δειγμάτων αμνιακού υγρού εφαρμόστηκε η μέθοδος των Ait Bamai et al., (2015) με ορισμένες τροποποιήσεις για τις ανάγκες της παρούσας έρευνας. Οι τροποποιήσεις που έγιναν στη μέθοδο και η σύγκριση με τη μέθοδο στη βιβλιογραφία φαίνονται στην Εικόνα 12. Αρχικά, τα δείγματα ξεπάγωσαν από τους -20° C σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν (4 min, 4000 rpm). Ποσότητα 1 ml μεταφέρθηκε σε γυάλινο σωλήνα και προστέθηκαν 100 ng IS και 120 μL φωσφορικού οξέος (1 M) για τον περιορισμό της δράσης του ενζύμου λιπάση (Wittassek et al., 2009). Η διαδικασία της ενζυμικής υδρόλυσης των μεταβολιτών πραγματοποιήθηκε με 10 μL E. coli παρουσία ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών (250 μL, pH 6.8) και επώαση στους 37°C για 90 min. Μετά την απογλυκουρονιδίωση των μεταβολιτών, στα δείγματα προστέθηκαν 100 μL υδροχλωρικού οξέος 2M για την απενεργοποίηση του ενζύμου και για την διασφάλιση του όξινου περιβάλλοντος για την εκχύλιση. Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε με 2 ml οξικού αιθυλεστέρα για 20 min και επαναλήφθηκε συνολικά τρεις φορές. Τα οργανικά εκχυλίσματα συνδυάστηκαν και εξατμίστηκαν μέχρι ξηρού υπό ήπια ροή αζώτου. Το στερεό υπόλειμμα επαναδιαλυτοποιήθηκε σε 100 μL μεθανόλης.

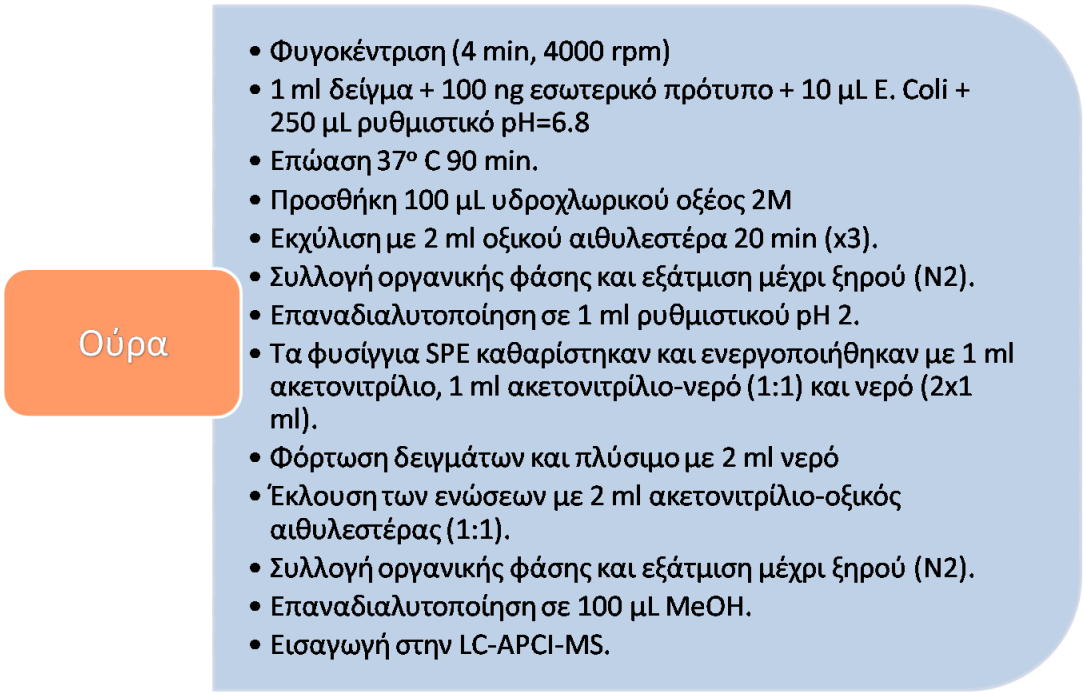


Εικόνα 12. Σύγκριση της μεθόδου ανάλυσης του αμνιακού υγρού με τη βιβλιογραφική αναφορά (Ait Bamai et al., 2015).

2.2.4 Προετοιμασία των ούρων

Η επεξεργασία των δειγμάτων ούρων στηρίχτηκε στο πρωτόκολλο που εφαρμόστηκε για το αμνιακό υγρό με ένα επιπλέον στάδιο καθαρισμού με τη μέθοδο της εκχύλισης στερεάς φάσης (solid phase extraction, SPE). Πιο συγκεκριμένα, τα δείγματα ξεπάγωσαν από τους -20° C σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν (4 min, 4000 rpm). Ποσότητα 1 ml μεταφέρθηκε σε γυάλινο σωλήνα και προστέθηκαν 100 ng IS. Οι διαδικασίες της ενζυμικής υδρόλυσης και της υγρής-υγρής εκχύλισης πραγματοποιήθηκαν όμοια με την διαδικασία για το αμνιακό υγρό. Τα οργανικά εκχυλίσματα συνδυάστηκαν, εξατμίστηκαν μέχρι ξηρού και επαναδιαλυτοποιήθηκαν σε 1 ml ρυθμιστικού διαλύματος pH 2. Πριν την έναρξη της διαδικασίας SPE τα φυσίγγια καθαρίστηκαν και ενεργοποιήθηκαν με 1 ml ακετονιτρίλιο, 1 ml ακετονιτρίλιο-νερό σε αναλογία 1:1 και τέλος δύο

φορές με νερό, 1 ml κάθε φορά. Το δείγματα φορτώθηκαν στα φυσίγγια και πλύθηκαν με 2 ml νερό, για την απομάκρυνση των πολικών προσμίξεων. Όταν στέγνωσαν πλήρως έγινε έκλουση των ενώσεων με 2 ml μείγματος ακετονιτρίλιο-οξικός αιθυλεστέρας σε αναλογία 1:1. Ακολούθησε εξάτμιση μέχρι ξηρού υπό ήπια ροή αζώτου και επαναδιαλυτοποίηση σε 100 μL μεθανόλης. Η σχηματική απεικόνιση των σταδίων της μεθόδου φαίνεται στην Εικόνα 13.



Εικόνα 13. Μέθοδος ανάλυσης των ούρων.

2.3 Ενόργανη ανάλυση και ανίχνευση

Η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των ουσιών πραγματοποιήθηκε με σύστημα Shimadzu LC-MS-2010EV (Kyoto, Japan) και για το χρωματογραφικό διαχωρισμό χρησιμοποιήθηκε η στήλη Supelco Discovery C18 column (25 cm x 4,6 mm, 5 μm) (Sigma-Aldrich). Η κινητή φάση για την ανίχνευση των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων ήταν νερό (διαλύτης A)

και ακετονιτρίλιο (διαλύτης Β) με 0,1% (v/v) φορμικό οξύ και στους δύο διαλύτες και η ταχύτητα ροής ήταν 0,6 ml/min. Η έκλουση των αναλυτών ήταν βαθμιδωτή με αρχική συγκέντρωση διαλύτη Β 10% (χρόνος: 0.0 min), στη συνέχεια 80% (χρόνος: 14.0 min), 95% (χρόνος: 18.0 min), 100% (χρόνος: 20.0 min) και στο τέλος 10% (χρόνος: 21.0). Ο όγκος του ενέσιμου δείγματος ήταν 10 μL. Η στήλη διατηρήθηκε σε θερμοκρασία 30°C κατά την ανάλυση. Οι χρόνοι έκλουσης και τα επιλεγμένα ιόντα m/z για κάθε ουσία ήταν ως εξής: IS: 12.40 min, 236,05 m/z, mEP: 12.83 min, 193,05, 239,10 m/z, mEHHP: 14.73 min, 293,20, 339,25 m/z, mEOHP: 15.00 min, 291,20, 337,25 m/z, miBP: 15.23 min, 221,05, 267,15 m/z, mnBP: 15.33 min, 221,05, 267,15 m/z, mBzP: 15.50 min, 225,15, 301,15 m/z και mEHP: 19.37 min, 277,20, 323,20 m/z.

Η κινητή φάση για την ανίχνευση των δισφαινολών ήταν νερό (διαλύτης Α) και μεθανόλη (διαλύτης Β) με ταχύτητα ροής 0.6 ml/min. Το πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης ξεκίνησε με συγκέντρωση διαλύτη Β 15% (χρόνος: 0.0 min) και στη συνέχεια 95% (χρόνος: 20.00 min), 15% (χρόνος: 22.00 min). Η διάρκεια της χρωματογραφικής ανάλυσης ήταν 26 min. Ο όγκος του ενέσιμου δείγματος ήταν 20 μL. Οι χρόνοι έκλουσης και τα επιλεγμένα ιόντα m/z για κάθε ουσία ήταν ως εξής: IS: 16.30 min, 236,05 m/z, BPS: 15.36 min, 249,05, 285,05 m/z, BPF: 18.60 min, 197,05, 199,00 m/z και BPA: 20.43 min, 227,15, 259,10 m/z.

Οι αναλύσεις όλων των βιολογικών δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν με φασματόμετρο μάζας το οποίο ήταν συζευγμένο με πηγή ιονισμού APCI και η ανίχνευση επετεύχθη με παρακολούθηση επιλεγμένου ιόντος και αρνητικό ιονισμό (selected ion monitoring, SIM in negative mode). Οι παράμετροι του ανιχνευτή ήταν ως εξής: detector voltage: 1,5 KV, drying gas: 0,02 MPa, interface temperature: 400°C, CDL temperature: 200°C, nebulizing gas flow: 2,5 L/min και heat block temperature: 200°C.

2.4 Στατιστική ανάλυση

Οι συνεχείς μεταβλητές εκφράστηκαν σε μορφή μέσης τιμής και τυπικής απόκλισης, ενώ για την περιγραφή των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν η διάμεσος, ελάχιστη μέγιστη τιμή και τεταρτημόρια. Οι διακριτές μεταβλητές εκφράστηκαν στη μορφή συχνοτήτων και % συχνοτήτων. Η συσχέτιση διακριτών μεταβλητών έγινε με τον έλεγχο χ^2 του Pearson, ενώ η συσχέτιση συνεχών μεταβλητών με τον συντελεστή συσχέτισης r του Pearson ή τον αντίστοιχο μη παραμετρικό του Spearman. Οι μεταβολές σε ζευγαρωτές μετρήσεις διακριτών μεταβλητών έγιναν είτε με τον έλεγχο Mc Nemar για 2x2 πίνακες είτε με τον έλεγχο Mc Nemar-Bowker για nxn πίνακες.

Οι συγκεντρώσεις των μετρούμενων ενδοκρινικών διαταρακτών (μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και δισφαινόλες A, F, S) εκφράστηκαν όπου ήταν απαραίτητο -λόγω μεγάλης διασποράς- σε λογαριθμική κλίμακα. Για την γραφική αναπαράσταση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν απλά ομαδοποιημένα και αθροιστικά ραβδογράμματα (simple, grouped and stacked bar charts), διαγράμματα διασποράς (scatter plots) και θηκογράμματα (Box and Whisker plots).

Η καταχώριση των δεδομένων έγινε σε λογιστικό φύλο EXCEL 2017 ενώ η στατιστική ανάλυση έγινε με το πρόγραμμα IBM SPSS Statistics 24.0. Ως επίπεδο σημαντικότητας για την αποδοχή ή απόρριψη των στατιστικών υποθέσεων τέθηκε το p=0,05.

2.5 Βιβλιογραφία

Ait Bamai, Y., Araki, A., Kawai, T., Tsuboi, T., Yoshioka, E., Kanazawa, A., Cong, S., Kishi, R., (2015). Comparisons of urinary phthalate metabolites and daily phthalate intakes among Japanese families. Int. J. Hyg. Environ. Health 218 (5), 461–470. http://dx. doi.org/10.1016/j.ijheh.2015.03.013

Karzi, V., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Alegakis, T., Katsikantami, I., Sifakis, S., … Tsatsakis, A. M. (2018). Biomonitoring of bisphenol A, triclosan and

perfluorooctanoic acid in hair samples of children and adults. J. Appl. Toxicol., 38(8), 1144–1152. https://doi.org/10.1002/jat.3627

Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Kavvalakis, M. P., Barmpas, M., Kokkinakis, E. N., Xenos, K., & Tsatsakis, A. M. (2015). Biomonitoring of bisphenol A in hair of Greek population. Chemosphere, 118(1), 336–341. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.044

Wittassek, M., Angerer, J., Kolossa-Gehring, M., Schäfer, S. D., Klockenbusch, W., Dobler, L., … Wiesmüller, G. A. (2009). Fetal exposure to phthalates - a pilot study. Int. J. Hyg. Environ. Health, 212(5), 492–498. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2009.04.001

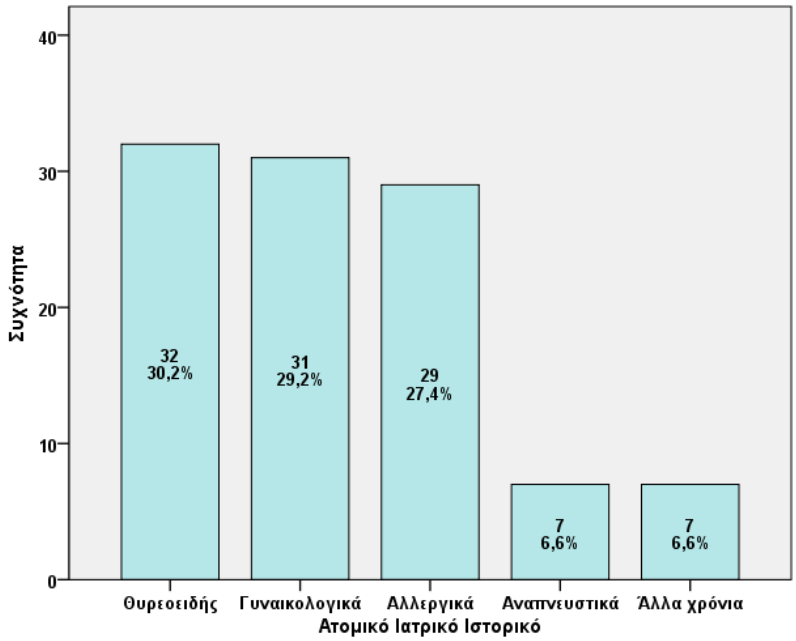
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Αποτελέσματα

3.1 Ερωτηματολόγια

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελείται από εκατό έγκυες γυναίκες με μέσο όρο ηλικίας 35,4 ± 5,5 έτη. Τα σωματομετρικά στοιχεία των γυναικών, βάρος, ύψος και δείκτης μάζας σώματος φαίνονται στον Πίνακας 5. Τα προβλήματα υγείας που καταγράφηκαν περιλάμβαναν προβλήματα με τον θυρεοειδή (30,2%), γυναικολογικά προβλήματα (29,2%) και αλλεργίες (27,4%) ενώ το 13,2% των συμμετεχόντων ανέφερε αναπνευστικά προβλήματα και άλλες χρόνιες παθήσεις (Εικόνα 14). Το 81,2% του πληθυσμού δεν αντιμετώπισε κανένα πρόβλημα κατά την εγκυμοσύνη, το 18,8% αντιμετώπισε τουλάχιστον ένα πρόβλημα όπως προεκλαμψία, πρόωρες συσπάσεις, μικρή ενδομήτρια ανάπτυξη και αποκόλληση πλακούντα. Το 64,7% γέννησε με καισαρική τομή και το 17,6% πρόωρα.

Πίνακας 5. Σωματομετρικά χαρακτηριστικά των εγκύων γυναικών.

Παράμετρος	Μέσος όρος ± SD	Διάμεσος	Ελάχιστο	Μέγιστο
Ηλικία (έτη)	35,4 ± 5,5	37,0	22,0	44,0
Ύψος (cm)	164,8 ± 5,9	165,0	150,0	180,0
Σωματικό βάρος πριν την εγκυμοσύνη (Kg)	66,4 ± 16,7	63,3	40,0	147,0
Σωματικό βάρος κατά την εγκυμοσύνη (Kg)	70,6 ± 16,1	69,0	43,0	150,0
Διαφορά στο βάρος (Kg)	4,1 ± 3,8	4,0	-8,0	13,0
ΔΜΣ πριν την εγκυμοσύνη (Kg/m^2)	24,4 ± 5,6	22,9	16,0	45,4
ΔΜΣ κατά την εγκυμοσύνη (Kg/m^2)	25,9 ± 5,3	25,0	17,2	46,3
Διαφορά στο ΔΜΣ (Kg/m^2)	1,5 ± 1,4	1,5	-3,0	5,2

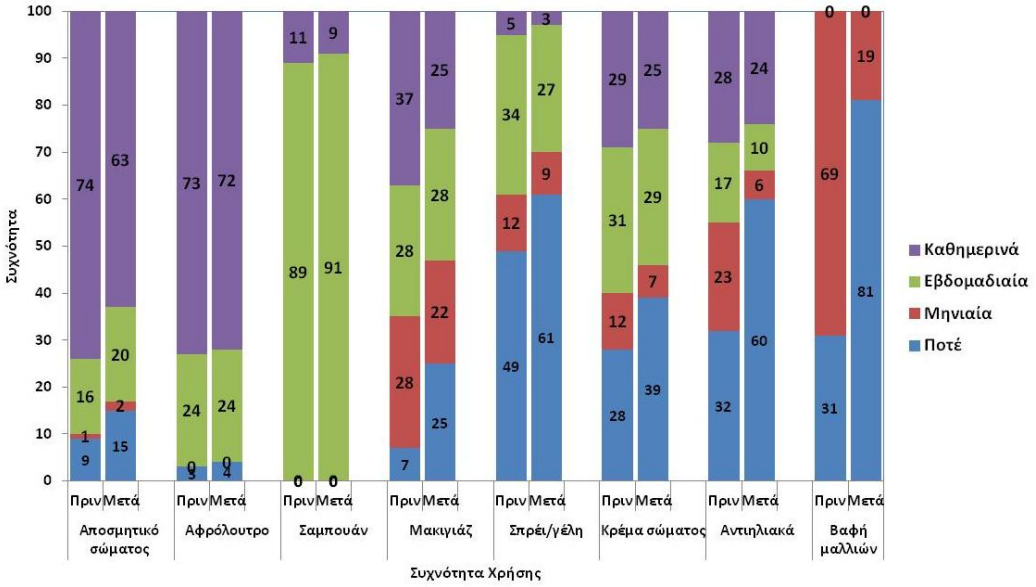


Εικόνα 14. Συχνότητα εμφάνισης προβλημάτων υγείας των εγκύων γυναικών.

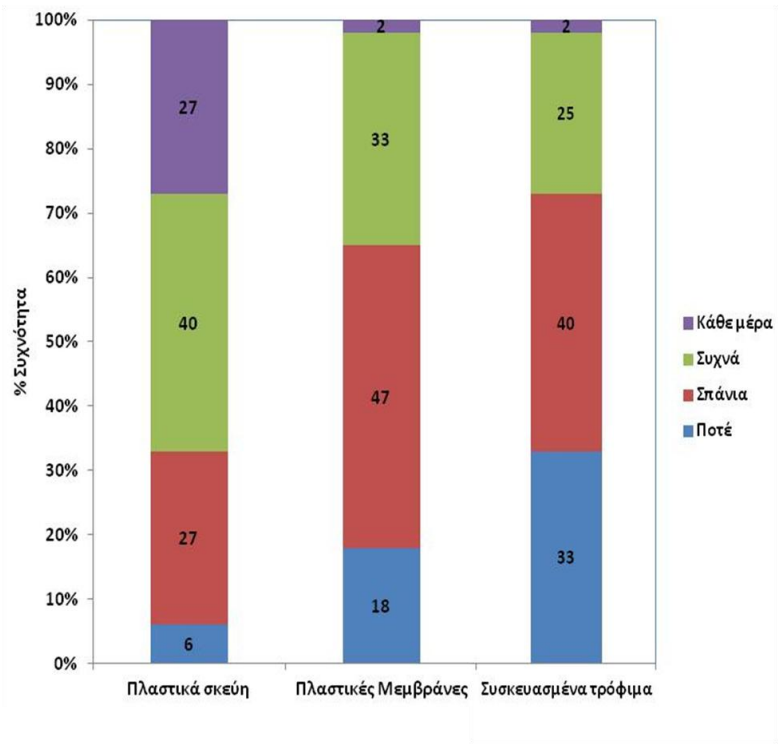
Το ερωτηματολόγιο περιλάμβανε επίσης ερωτήσεις σχετικά με την έκθεση των συμμετεχόντων στους ρυπαντές λόγω διατροφικών συνηθειών, τρόπο ζωής, χρήση καλλυντικών και πλαστικών προϊόντων, πριν και κατά το πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης. Οι γυναίκες ανέφεραν τη περιορισμένη χρήση καλλυντικών και προϊόντων προσωπικής φροντίδας λόγω της εγκυμοσύνης και παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη χρήση του αποσμητικού σώματος (Mc Nemar-Bowker=12,00, df=4, p=0,017), προϊόντα μακιγιάζ (Mc Nemar-Bowker=26,20, df=6, p<0,001), σπρέι και γέλη μαλλιών (Mc Nemar-Bowker=13,57, df=5, p=0,019), αντηλιακό (McNemar-Bowker =25,3,df=5, p<0,001) και βαφή μαλλιών (McNemar p<0,001) (Εικόνα 15). Σχετικά με την χρήση των πλαστικών για τη συντήρηση και αποθήκευση των τροφίμων, το 40% δήλωσε ότι χρησιμοποιεί συχνά πλαστικά δοχεία ενώ το 27% δήλωσε καθημερινή χρήση. Για την μεμβράνη περιτύλιξης των τροφίμων το 33% δήλωσε συχνή χρήση και το 47% σπάνια (Εικόνα 16).

Το 71% των ερωτηθέντων δήλωσαν την παρουσία πλαστικών δεξαμενών και σωληνώσεων για την αποθήκευση και μεταφορά του νερού στο οικιακό δίκτυο ύδρευσης. Μόνο το 6% των συμμετεχόντων ανέφερε την παρουσία

πλαστικής ταπετσαρίας (PVC) τοίχου ή δαπέδου σε εσωτερικούς χώρους του σπιτιού ή του χώρου εργασίας και το 23% χρησιμοποιεί αποσμητικό χώρου.



Εικόνα 15. Συχνότητα χρήσης ειδών ατομικής υγιεινής και περιποίησης.



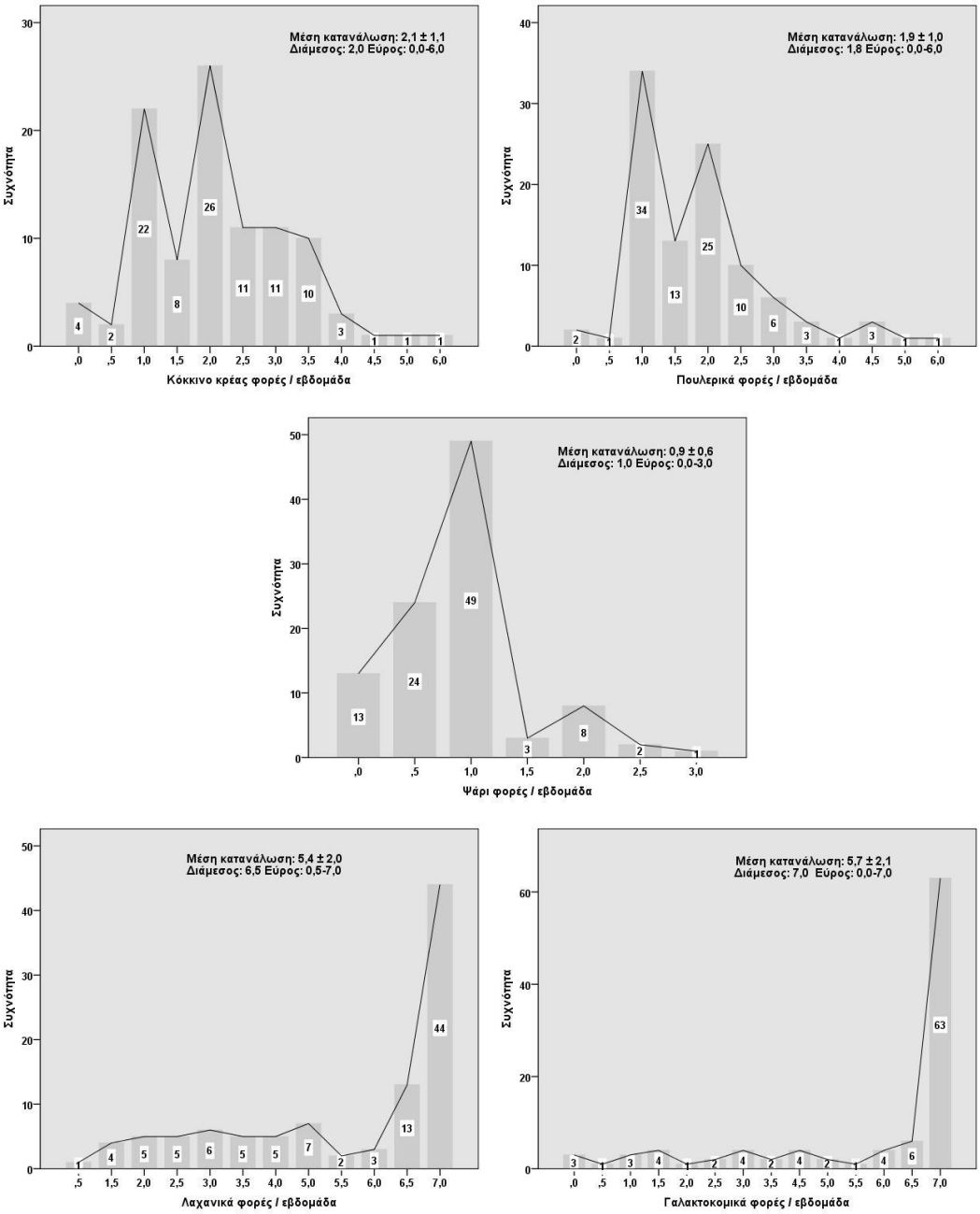
Εικόνα 16. Συχνότητα χρήσης ειδών καθημερινής οικιακής χρήσης.

Οι διατροφικές συνήθειες των εγκύων γυναικών αποτυπώνονται στην Εικόνα 17. Το 44% και 63% των γυναικών καταναλώνει καθημερινά λαχανικά και γαλακτοκομικά προϊόντα, αντίστοιχα, ενώ οι αντίστοιχες μέσες συχνότητες κατανάλωσης κυμαίνονται σε 5,4 ± 2,0 φορές/εβδομάδα και 5,7 ± 2,1φορές/εβδομάδα. Η συχνότητα κατανάλωσης κόκκινου ή λευκού κρέατος και ψαριού περιορίστηκε σε 1 ή 2 φορές εβδομαδιαία για όλες τις συμμετέχουσες. Η πλειοψηφία των ερωτηθέντων (84%) χρησιμοποιεί ως πηγή πόσιμου νερού το εμφιαλωμένο σε σχέση με το νερό από το δίκτυο.

Έγινε διάκριση των εγκύων γυναικών σε ομάδα υψηλού και χαμηλού κινδύνου με βάση την πιθανή έκθεσή τους στις ουσίες λόγω του επαγγέματός τους. Μόνο το 14% ανήκει στην κατηγορία υψηλού κινδύνου και αφορά σε επαγγέλματα όπως κομμώτριες, μακιγιάζ, ιατρικά επαγγέλματα, αγρότες σε θερμοκήπια. Η απασχόληση των υπόλοιπων 86% δεν θεωρείται ότι αυξάνει την έκθεσή τους στις μελετώμενες ουσίες και τα επαγγέλματα αυτά είναι τουριστικά, εστιατόρια, διδασκαλία, πωλητές, οικιακά και δουλειά γραφείου.

Τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά των νεογνών φαίνονται στον

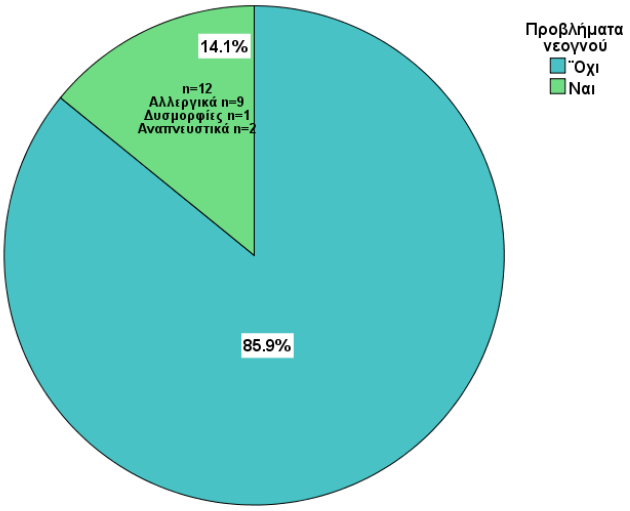
Πίνακας 6. Δεν προέκυψαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των δύο φύλων στο σωματικό βάρος (p=0,621), ύψος (p=0,790) και περίμετρο κεφαλής (p=0,949). Το 14,1% των νεογνών αντιμετώπισε κάποιο πρόβλημα υγείας (Εικόνα 18) όπως αλλεργίες (75,0%), αναπνευστικά προβλήματα (16,7%) και δυσμορφίες (υποσπαδίαση) (8,3%).



Εικόνα 17. Διατροφικές συνήθειες συμμετεχουσών και συχνότητα κατανάλωσης κρέατος, ψαριού, λαχανικών και γαλακτοκομικών προϊόντων.

Πίνακας 6. Χαρακτηριστικά νεογνών.

Παράμετρος		N	Μέσος όρος ± SD	Διάμεσος	Ελάχιστο	Μέγιστο	P
Βάρος (gr)	Θήλυ	44	2981 ± 670	3185	640	4400	0,621
	Άρρεν	41	3048 ± 559	3040	1800	4250	
Ύψος (cm)	Θήλυ	39	50 ± 3	50	41	56	0,790
	Άρρεν	39	50 ± 3	51	42	57	
Περίμετρος κεφαλής (cm)	Θήλυ	39	35 ± 2	35	28	41	0,949
	Άρρεν	35	35 ± 1	35	32	38	



Εικόνα 18. Προβλήματα υγείας των νεογνών μετά την γέννηση.

3.2 Επικύρωση μεθόδων

3.2.1 Τρίχα

Το πρωτόκολλο για την επεξεργασία της τρίχας έχει αναπτυχθεί και επικυρωθεί από την ερευνητική ομάδα του εργαστηρίου και έχει εφαρμοστεί για την ανάλυση της δισφαινόλης Α σε δείγματα τρίχας στο παρελθόν (Karzi et

al., 2018; Tzatzarakis et al., 2015). Η μεθοδολογία αυτή εφαρμόστηκε επιτυχώς για τον προσδιορισμό των επτά μεταβολιτών των φθαλικών, οι οποίοι προσδιορίστηκαν για πρώτη φορά στην τρίχα. Η μέθοδος επικυρώθηκε για τις ανάγκες της παρούσας έρευνας και οι παράμετροι που ελέγχθησαν είναι η γραμμικότητα, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης, ανάκτηση, επαναληψιμότητα και ακρίβεια της μεθόδου (Πίνακας 7).

Παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα με όλες τις προσδιοριζόμενες ουσίες σε συγκεντρώσεις 0, 25, 50, 100, 250 και 500 ng/ml. Κατασκευάστηκαν καμπύλες βαθμονόμησης χρησιμοποιώντας την αναλογία μεταξύ της επιφάνειας της χρωματογραφικής κορυφής κάθε ουσίας με το εσωτερικό πρότυπο. Χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος τριών επαναλήψεων σε όλα τα επίπεδα συγκέντρωσης για τον υπολογισμό της γραμμικότητας του οργάνου. Ο συντελεστής γραμμικότητας του οργάνου R^2 κυμάνθηκε από 0,993 έως 0,999. Πιο συγκεκριμένα για κάθε ουσία είναι 0,999 για τους μεταβολίτες mEOHP και mEHHP, 0,998 για τον miBP και τη BPA, 0,996 για τους mEP, mBzP και mEHP, 0,995 για την BPS και 0,993 για τον mnBP.

Για την παρασκευή φορτισμένων δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε τρίχα απαλλαγμένη από τις προσδιοριζόμενες ουσίες, φορτίστηκαν με τις προσδιοριζόμενες ουσίες σε συγκεντρώσεις 0, 5, 10, 25, 50 και 100 pg/mg και για την ανάλυσή τους εφαρμόστηκε το ίδιο πρωτόκολλο με τα δείγματα. Κατασκευάστηκαν καμπύλες βαθμονόμησης από τρεις επαναλήψεις φορτισμένων δειγμάτων σε όλα τα επίπεδα συγκεντρώσεων με σκοπό να προσδιοριστεί η γραμμικότητα της μεθόδου. Ο συντελεστής R^2 ήταν μεγαλύτερος από 0.99 για όλες τις ουσίες.

Τα όρια ανίχνευσης (limit of detection, LOD) και ποσοτικοποίησης (limit of quantification, LOQ) υπολογίστηκαν με βάση το λόγο σήμα προς θόρυβο (signal-to-noise, S/N) ο οποίος είναι μεγαλύτερος από 3 και 10 αντίστοιχα για κάθε όριο. Τα όρια ανίχνευσης που προσδιορίστηκαν κυμάνθηκαν μεταξύ 0,6 pg/mg έως 11,3 pg/mg. Πιο συγκεκριμένα είναι 11,3 pg/mg για τον mEP, 2,3 pg/mg για τον mEHHP, 1,6 pg/mg για τον mEOHP, 6,6 pg/mg για τον miBP, 5,8 pg/mg για τον mnBP, 24,3 pg/mg για τον mBzP και 0,6 pg/mg για τους mEHP, BPA και BPS.

Η ανάκτηση της μεθόδου υπολογίστηκε για πέντε επαναλήψεις φορτισμένων δειγμάτων σε όλα τα επίπεδα συγκεντρώσεων από 5 έως 100 ng/ml. Η μέση ανάκτηση για τους μεταβολίτες των φθαλικών εστέρων κυμάνθηκαν από 93,0% (mEOHP) έως 102,8% (mnBP), 98,5% για την BPA και 63,0% για την BPS. Η ακρίβεια της μεθόδου υπολογίστηκε για τρεις επαναλήψεις φορτισμένων δειγμάτων και κυμάνθηκε μεταξύ 80,0% (mEOHP) έως 107,2% (mEP) για όλες τις ουσίες.

Για τον υπολογισμό της επαναληψιμότητας της μεθόδου αναλύθηκαν φορτισμένα δείγματα για όλες τις συγκεντρώσεις σε επτά εργαστηριακές ημέρες (between-day precision) και εκφράστηκε με τον συντελεστή σχετική τυπική απόκλιση (%RSD). Ο συντελεστής κυμάνθηκε μεταξύ 5,1% (miBP) και 13,3% (BPA) για όλες τις ουσίες. Η επαναληψιμότητα της μεθόδου υπολογίστηκε για τρεις επαναλήψεις φορτισμένων δειγμάτων την ίδια εργαστηριακή ημέρα και ο συντελεστής %RSD κυμάνθηκε από 5,5% (mEHP) έως 12,0% (mEP) για όλες τις ουσίες.

3.2.2 Αμνιακό υγρό

Για την επικύρωση της μεθόδου για την επεξεργασία του αμνιακού υγρού, παρασκευάστηκαν φορτισμένα δείγματα αμνιακού υγρού με τους μεταβολίτες των φθαλικών εστέρων και τις δισφαινόλες A, F και S σε συγκεντρώσεις 0, 2,5, 5,0, 10,0, 25,0 και 50 μg/L. Οι παράμετροι που ελέχθησαν και τα αποτελέσματα της επικύρωσης φαίνονται στον Πίνακας 8. Η γραμμικότητα της μεθόδου υπολογίστηκε μέσω του συντελεστή γραμμικότητας από τις καμπύλες βαθμονόμησης των φορτισμένων δειγμάτων, όπως περιγράφηκε για την τρίχα. Ο συντελεστής R^2 κυμάνθηκε από 0,990 έως 0,999. Πιο συγκεκριμένα, 0,990 για τον mEP, 0,991 για τους mnBP και mEHP, 0,995 για τον miBP, 0,996 για την BPF, 0,997 για την BPA, 0,998 για τον mBzP και 0,999 για τους mEHHP, mEOHP και BPS.

Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης υπολογίστηκαν όπως περιγράφηκε στην τρίχα. Τα όρια ανίχνευσης για τους επτά μεταβολίτες των

φθαλικών εστέρων κυμάνθηκαν από 0,02 μg/L έως 0,8 μg/L και τα όρια ποσοτικοποίησης από 0,06 μg/L έως 2,8 μg/L. Πιο συγκεκριμένα, το όριο ανίχνευσης για τους mEHHP και mEOHP είναι 0,02 μg/L, για τον mEHP 0,06 μg/L, για τον miBP 0,2 μg/L, για τους mnBP και mBzP 0,5 μg/L και για τον mEP 0,8 μg/L. Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης για την δισφαινόλη S προσδιορίστηκαν 0,01 μg/L και 0,04 μg/L, για την F 0,07 μg/L και 0,2 μg/L και για την A 0,5 μg/L και 1,6 μg/L, αντίστοιχα.

Οι ανακτήσεις για τους μεταβολίτες των φθαλικών εστέρων κυμάνθηκαν από 72,0% (miBP) έως 113,4% (mEP) και για τις δισφαινόλες A, F και S, 92,0%, 93,4% και 92,5% αντίστοιχα. Η ακρίβεια της μεθόδου κυμάνθηκε από 92,9% (mEOHP) έως 118,7% (mnBP) για τα φθαλικά και από 98,5% (BPS) έως 101,0% (BPA) για τις δισφαινόλες.

Η μέθοδος παρουσίασε ικανοποιητική επαναληψιμότητα (%RSD <25%) για όλες τις ουσίες. Υπολογίστηκε ο συντελεστής %RSD για τρεις επαναλήψεις φορτισμένων δειγμάτων την ίδια εργαστηριακή ημέρα και οι τιμές κυμάνθηκαν από 9,1% (miBP) έως 16,2% (mEOHP) για τα φθαλικά και από 7,8% (BPF) έως 16,0% (BPA) για τις δισφαινόλες. Ο συντελεστής %RSD μεταξύ τριών διαφορετικών εργαστηριακών ημερών κυμάνθηκε από 4,4% (mEOHP) έως 17,5% (mEP) για τα φθαλικά και από 13,4% (BPF) έως 21,6% (BPA) για τις δισφαινόλες.

3.2.3 Ούρα

Για την επικύρωση της μεθόδου παρασκευάστηκαν φορτισμένα δείγματα ούρων με τους μεταβολίτες των φθαλικών εστέρων σε συγκεντρώσεις 0, 2,5, 5,0, 10,0, 25,0 και 50 μg/L και τις δισφαινόλες σε 0, 10, 25, 50, 100 και 250 μg/L. Οι παράμετροι που ελέχθησαν και τα αποτελέσματα της επικύρωσης φαίνονται στον Πίνακας 9. Η γραμμικότητα της μεθόδου υπολογίστηκε μέσω του συντελεστή γραμμικότητας από τις καμπύλες βαθμονόμησης των φορτισμένων δειγμάτων, όπως περιγράφηκε προηγουμένως. Ο συντελεστής R^2 κυμάνθηκε από 0,979 έως 0,999. Τα όρια ανίχνευσης για τους μεταβολίτες

των φθαλικών κυμάνθηκαν από 0,3 μg/L έως 4,5 μg/L και τα όρια ποσοτικοποίησης από 1,1 μg/L έως 14,9 μg/L. Πιο συγκεκριμένα, το όριο ανίχνευσης για τους mEHHP, mEOHP, miBP, mnBP, mBzP και mEHP είναι 2,2 μg/L, 0,6 μg/L, 4,4 μg/L, 4,5 μg/L, 1,5 μg/L και 0,3 μg/L, αντίστοιχα. Τα όρια ανίχνευσης για τις BPF και BPA αντίστοιχα είναι 2,2 και 7,3 μg/L.

Οι ανακτήσεις για τους μεταβολίτες των φθαλικών κυμάνθηκαν από 60,7% (mEHP) έως 101,4% (mBzP) και για τις δισφαινόλες A και F 83,6% και 88,4%, αντίστοιχα. Η ακρίβεια της μεθόδου κυμάνθηκε από 67,5% (mnBP) έως 115,5% (mBzP) για τα φθαλικά και 96,8% για την BPA και 100,3% για την BPF. Η επαναληψιμότητα της μεθόδου ήταν ικανοποιητική για όλες τις ουσίες (%RSD <25%) και προσδιορίστηκε για τρεις διαφορετικές εργαστηριακές ημέρες για τους μεταβολίτες των φθαλικών και για τρεις επαναλήψεις εντός της ίδιας ημέρας για τις δισφαινόλες.

Πίνακας 7. Παράμετροι επικύρωσης της μεθόδου για τον προσδιορισμό των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων και των δισφαινολών Α και S σε δείγματα τριχών.

Ουσίες	Όριο ανίχνευσης (pg/mg)	Όριο ποσοτικοποίησης (pg/mg)	Γραμμικότητα μεθόδου R^2 (N=3)	% Ανάκτηση (N=5)	Επαναληψιμότητα μεταξύ ημερών %RSD (N=7)	Επαναληψιμότητα εντός μιας ημέρας % RSD (N=3)	% Ακρίβεια (N=3)
mEP	11,3	37,5	0,999	99,2	8,5	12,0	107,2
mEHHP	2,3	7,5	0,997	102,5	10,6	8,7	85,4
mEOHP	1,6	5,4	0,994	93,0	12,3	7,9	80,0
miBP	6,6	22,0	0,987	95,9	5,1	9,5	96,7
mnBP	5,8	19,3	0,988	102,8	9,8	10,5	105,3
mBzP	24,3	81,0	0,986	97,6	9,6	9,6	91,8
mEHP	0,6	1,9	0,986	94,6	6,5	5,5	90,4
BPA	0,6	1,8	0,986	98,5	13,3	8,1	94,2
BPS	0,6	1,8	0,994	63,0	10,7	8,5	95,6

Πίνακας 8. Παράμετροι επικύρωσης της μεθόδου για τον προσδιορισμό των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων και των δισφαινολών A, F και S σε δείγματα αμνιακού υγρού.

Ουσίες	Όριο ανίχνευσης (μg/L)	Όριο ποσοτικοποίησης (μg/L)	Γραμμικότητα μεθόδου R^2 (N=3)	% Ανάκτηση (N=3)	Επαναληψιμότητα μεταξύ ημερών %RSD (N=3)	Επαναληψιμότητα εντός μιας ημέρας % RSD (N=3)	% Ακρίβεια (N=4)
mEP	0,8	2,8	0,990	113.4	17,5	13,2	107,0
mEHHP	0,02	0,07	0,999	101,1	9,9	9,4	108,5
mEOHP	0,02	0,06	0,999	82,0	4,4	16,2	92,9
miBP	0,2	0,8	0,995	72,0	13,4	9,1	108,7
mnBP	0,5	1,7	0,991	79,5	10,9	15,1	118,7
mBzP	0,5	1,6	0,998	78,6	12,9	11,9	101,7
mEHP	0,06	0,2	0,991	94,4	10,8	13,1	116,6
BPS	0,01	0,04	0,999	92,5	10,8	12,3	101,0
BPF	0,07	0,2	0,996	93,4	13,4	7,8	108,4
BPA	0,5	1,6	0,997	92,0	21,6	16,0	98,5

Πίνακας 9. Παράμετροι επικύρωσης της μεθόδου για τον προσδιορισμό των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων και των δισφαινολών Α και F σε δείγματα ούρων.

Ουσίες	Όριο ανίχνευσης (μg/L)	Όριο ποσοτικοποίησης (μg/L)	Γραμμικότητα μεθόδου R^2 (N=3)	% Ανάκτηση (N=4)	Επαναληψιμότητα % RSD (N=3)	% Ακρίβεια (N=4)
mEHHP	2,0	6,8	0,992	90,3	5,9	93,1
mEOHP	0,6	2,0	0,990	77,2	4,9	89,8
miBP	4,4	14,8	0,999	71,8	14,0	93,0
mnBP	4,5	14,9	0,979	67,5	6,9	67,5
mBzP	1,5	4,8	0,991	101,4	5,5	115,5
mEHP	0,3	1,1	0,995	60,7	7,4	92,8
BPF	2,2	7,4	0,999	88,4	7,4	100,3
BPA	7,3	24,3	0,997	83,6	8,3	96,8

3.3 Αποτελέσματα βιοπαρακολούθησης

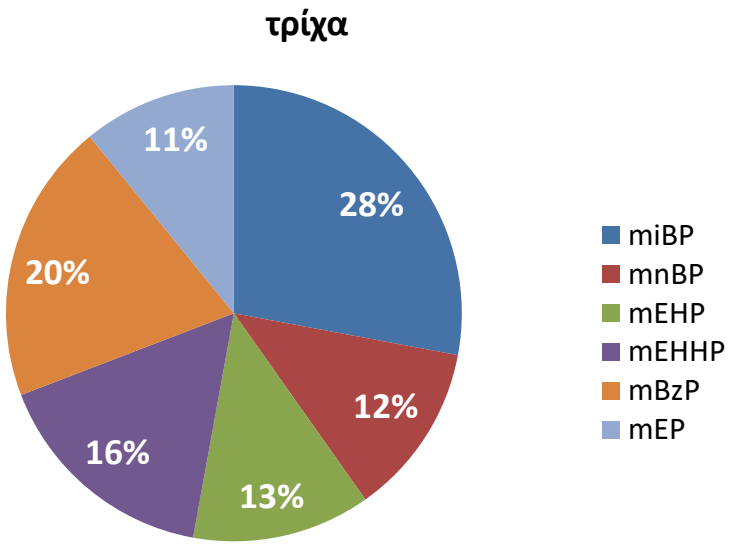
3.3.1 Τρίχα

Στα δείγματα τρίχας προσδιορίστηκαν επτά μεταβολίτες φθαλικών εστέρων: τους τρεις μεταβολίτες (mEHP, mEHHP, mEOHP) του πιο ευρέως χρησιμοποιούμενου φθαλικού διεστέρα DEHP, τους mnBP, miBP, mBzP και mEP οι οποίοι είναι οι αντίστοιχοι πρωτογενείς μεταβολίτες των DnBP, DiBP, BBzP και DEP, καθώς επίσης οι δισφαινόλες A και S. Ο πρωτογενής μεταβολίτης του DEHP, mEHP ανιχνεύτηκε στα δείγματα σε μεγαλύτερη συχνότητα (68,0%) ενώ οι δευτερογενείς μεταβολίτες mEHHP και mEOHP ανιχνεύτηκαν σε μόνο 3 και 1 δείγματα, αντίστοιχα. Οι μεταβολίτες miBP και mnBP ανιχνεύτηκαν στο 40,0% και 28,0% των δειγμάτων, αντίστοιχα, ενώ οι mEP και mBzP ανιχνεύτηκαν σε μόλις 5,0% και 3,0% των δειγμάτων. Οι διάμεσες συγκεντρώσεις των μεταβολιτών με την μεγαλύτερη συχνότητα ανίχνευσης ήταν 44,4 pg/mg για τον miBP (εύρος: 6,8-164,6 pg/mg), 19,5 pg/mg για τον mnBP (εύρος: 8,0-77,6 pg/mg) και 20,1 pg/mg για τον mEHP (εύρος: 1,1-412,9 pg/mg) (Πίνακας 10). Σε σχέση με την ολική συγκέντρωση των φθαλικών που προσδιορίστηκαν, τη μεγαλύτερη συνεισφορά έχουν οι miBP και mBzP σε ποσοστά 28% και 20%, αντίστοιχα (Εικόνα 19). Όσο αναφορά στην ανιχνευσιμότητα των ουσιών, ο μεταβολίτης με τη συχνότερη παρουσία στα θετικά δείγματα είναι ο mEHP σε ποσοστό 46% και ακολουθούν οι miBP και mnBP με 27% και 19%, αντίστοιχα (Εικόνα 20).

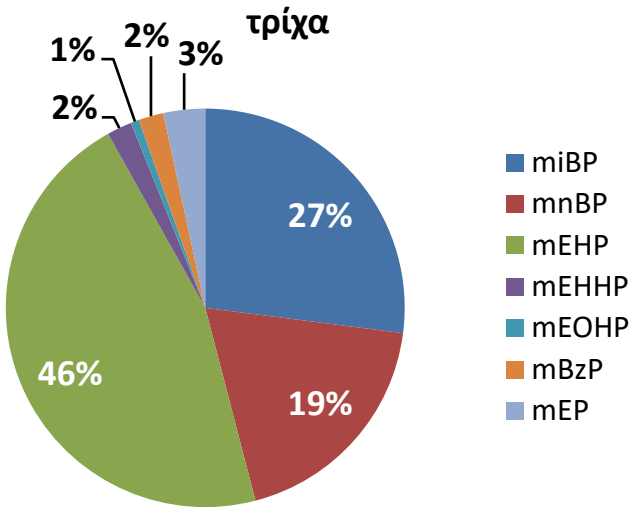
Η BPA ανιχνεύτηκε στο 37,0% των δειγμάτων με διάμεση συγκέντρωση 69,9 pg/mg και εύρος 9,6 pg/mg - 650,3 pg/mg. Η BPS ανιχνεύτηκε στο 34,0% των δειγμάτων με διάμεση συγκέντρωση 3,5 pg/mg και εύρος 0,8 pg/mg – 147,3 pg/mg (Πίνακας 10).

Πίνακας 10. Συγκεντρώσεις των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων και δισφαινολών A και S (pg/mg) στα δείγματα τρίχας (N=100).

Ουσίες	Θετικά δείγματα (%)	Μέσος όρος ± SD	Διάμεσος	Ελάχιστο	Μέγιστο
		Μεταβολίτες φθαλικών εστέρων			
mEP	5	47,2 ± 59,5	17,3	13,0	152,4
miBP	40	56,0 ± 40,7	44,4	6,8	164,6
mnBP	28	24,9 ± 17,2	19,5	8,0	77,6
mBzP	3	32,0 ± 3,6	31,7	28,6	35,7
mEHP	68	47,4 ± 74,7	20,1	1,1	412,9
mEHHP	3	55,5 ± 67,0	25,9	8,5	132,2
mEOHP	1		<LOQ		2,0
		Δισφαινόλες			
BPS	34	10,7 ± 25,9	3,5	0,8	147,3
BPA	37	101,7 ± 131,2	69,9	9,6	650,3



Εικόνα 19. Συνεισφορά κάθε φθαλικού μεταβολίτη στη συνολική συγκέντρωση των μεταβολιτών που προσδιορίστηκαν στα δείγματα τρίχας.



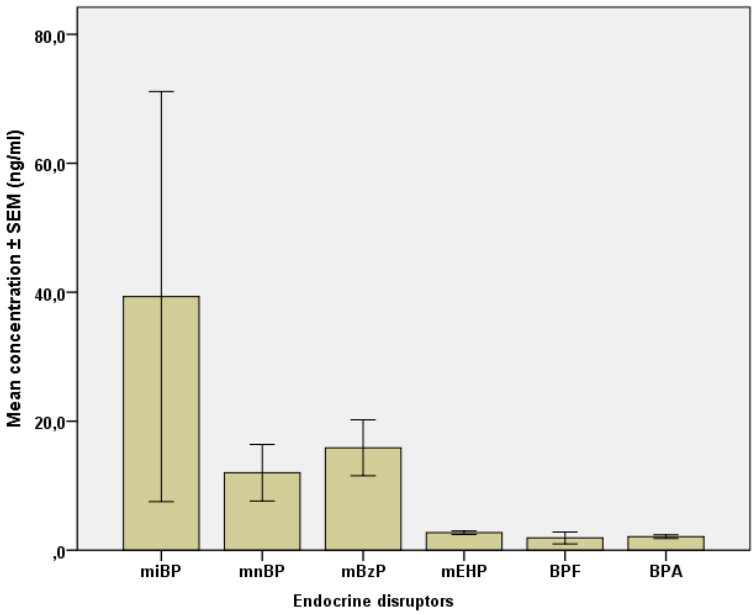
Εικόνα 20. Συνεισφορά κάθε φθαλικού μεταβολίτη στην ανιχνευσιμότητα των μεταβολιτών που προσδιορίστηκαν στα θετικά δείγματα τρίχας.

3.3.2 Αμνιακό υγρό

Όσο αφορά στο αμνιακό υγρό, μόνο ο mEHP ανιχνεύτηκε σε ποσοστό 21,0%, οι miBP, mnBP, mBzP και mEOHP σε ποσοστό μικρότερο από 5,0% ενώ οι mEP και mEHHP δεν ανιχνεύθηκαν σε κανένα δείγμα (Πίνακας 11). Οι διάμεσες συγκεντρώσεις για τους miBP, mnBP και mEHP είναι αντίστοιχα 10,0 μg/L, 10,7 μg/L και 2,3 μg/L. Οι μέσες συγκεντρώσεις των ενώσεων που προσδιορίστηκαν σε ποσοστό μεγαλύτερο από 2,0% φαίνονται στην Εικόνα 21. Οι μέγιστες συγκεντρώσεις είναι 102,9 μg/L για τον miBP, 24,5 μg/L για τον mnBP, 20,2 μg/L για τον mBzP και 7,0 μg/L για τον mEHP. Σε σχέση με την ολική συγκέντρωση των φθαλικών, τη μεγαλύτερη συνεισφορά έχουν οι mnBP και miBP σε ποσοστά 47% και 43%, αντίστοιχα (Εικόνα 22). Όσο αναφορά στην ανιχνευσιμότητα των ουσιών, ο μεταβολίτης με τη συχνότερη παρουσία στα θετικά δείγματα είναι ο mEHP σε ποσοστό 66% και ακολουθεί ο mnBP με 16% (Εικόνα 23).

Πίνακας 11. Συγκεντρώσεις των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων και δισφαινολών A, F και S (μg/L) στα δείγματα αμνιακού υγρού (N=100).

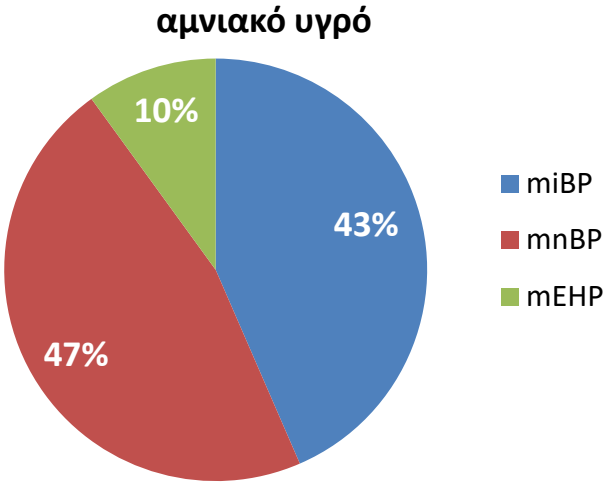
Ουσίες	Θετικά δείγματα (%)	Μέσος όρος ± SD	Διάμεσος	Ελάχιστο	Μέγιστο
		Μεταβολίτες φθαλικών εστέρων			
mEP		<LOQ			
miBP	3	39,3 ± 55,1	10,0	5,1	102,9
mnBP	5	12,0 ± 9,8	10,7	2,4	24,5
mBzP	2	15,9 ± 6,1	-	11,6	20,2
mEHP	21	2,7 ± 1,3	2,3	1,4	7,0
mEHHP		<LOQ			
mEOHP	1	0,9	<LOQ	<LOQ	0,9
		Δισφαινόλες			
BPS		<LOQ			
BPF	3	1,9 ± 1,6	1,3	0,7	3,7
BPA	17	2,1 ± 1,2	1,7	1,2	5,8



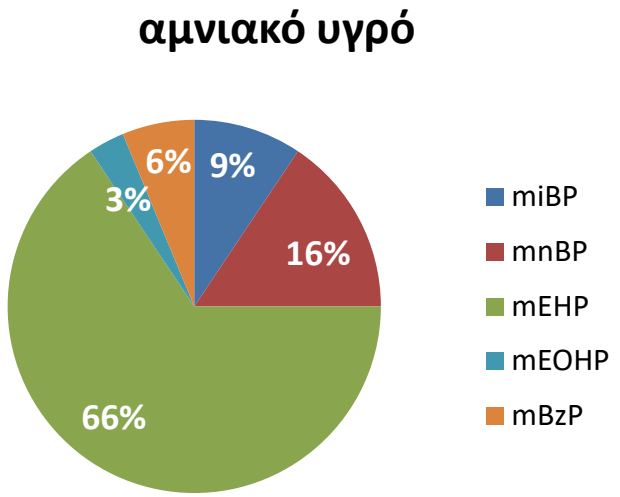
Εικόνα 21. Μέσες συγκεντρώσεις (μg/L) των ουσιών που προσδιορίστηκαν σε ποσοστό μεγαλύτερο από 2,0%.

Η BPA βρέθηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό δειγμάτων αμνιακού (17,0%) σε σχέση με την BPF (3,0%) ενώ η BPS δεν βρέθηκε σε κανένα δείγμα. Οι διάμεσες συγκεντρώσεις για τις BPA και BPF αντίστοιχα είναι 1,7 μg/L και 1,3 μg/L και το αντίστοιχο εύρος 1,2-5,8 μg/L και 0,7-3,7 μg/L.

Οι συγκεντρώσεις των ουσιών που προσδιορίστηκαν στο αμνιακό υγρό και τα ποσοστά θετικών δειγμάτων είναι χαμηλά, το οποίο είναι αναμενόμενο καθώς ο πλακούντας θα έπρεπε να αποτελεί φραγμό για τις ουσίες. Ωστόσο, το γεγονός ότι βρέθηκαν θετικά δείγματα για κάποιες από τις ουσίες αποτελεί ένδειξη ότι έχουν την ικανότητα να διαπερνούν τον πλακούντα και το έμβρυο να εκτίθεται σε αυτές.



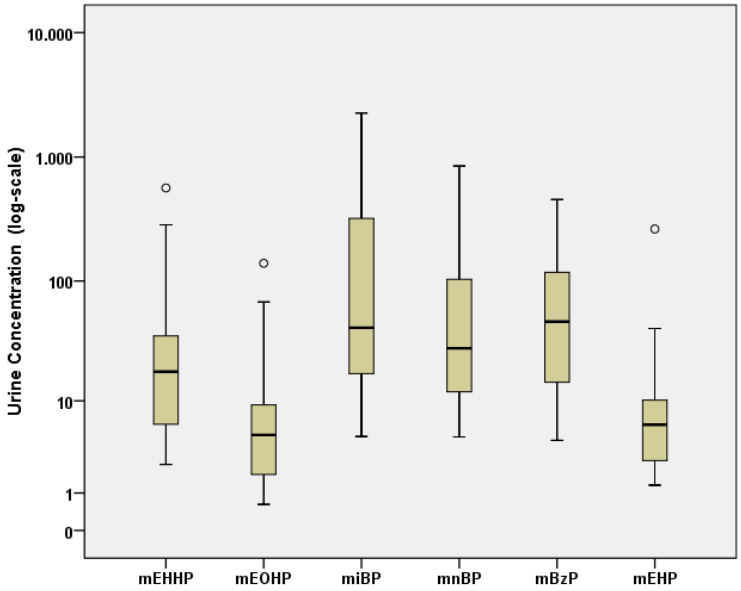
Εικόνα 22. Συνεισφορά κάθε φθαλικού μεταβολίτη στη συνολική συγκέντρωση των μεταβολιτών που προσδιορίστηκαν στα δείγματα αμνιακού υγρού.



Εικόνα 23. Συνεισφορά κάθε φθαλικού μεταβολίτη στην ανιχνευσιμότητα των μεταβολιτών που προσδιορίστηκαν στα θετικά δείγματα αμνιακού υγρού.

3.3.3 Ούρα

Υψηλότερες συγκεντρώσεις και μεγαλύτερο ποσοστό θετικών δειγμάτων προσδιορίστηκαν στα δείγματα ούρων σε σχέση με τα βιολογικά υποστρώματα τρίχα και αμνιακό υγρό. Το 75% των δειγμάτων προσδιορίστηκε με τουλάχιστον ένα φθαλικό μεταβολίτη, το 41% προσδιορίστηκε με 1 έως 3 μεταβολίτες και το 34% με 4 έως 6 ενώσεις. Οι μεταβολίτες που προσδιορίστηκαν πιο συχνά είναι οι miBP, mEOHP, mEHHP και mnBP σε ποσοστά 54%, 52%, 50% και 44%, αντίστοιχα (Πίνακας 12). Οι διάμεσες συγκεντρώσεις κυμάνθηκαν από 4,9 μg/L (mEOHP) έως 46,7 μg/L (mBzP), ενώ το εύρος των συγκεντρώσεων για όλα τα δείγματα ήταν από 0,6 μg/L (mEOHP) έως 2255,6 μg/L (miBP). Στην Εικόνα 24 γίνεται συγκριτική παρουσίαση των συγκεντρώσεων για κάθε φθαλικό σε λογαριθμική κλίμακα. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες του DEHP, mEOHP και mEHHP προσδιορίστηκαν περίπου στο ίδιο ποσοστό δειγμάτων (52% και 50% αντίστοιχα), ωστόσο ο mEHHP σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (Πίνακας 12). Ο πρωτογενής μεταβολίτης mEHP, προσδιορίστηκε σε χαμηλότερο ποσοστό και συγκεντρώσεις (27%, διάμεσος 6,1 μg/L).

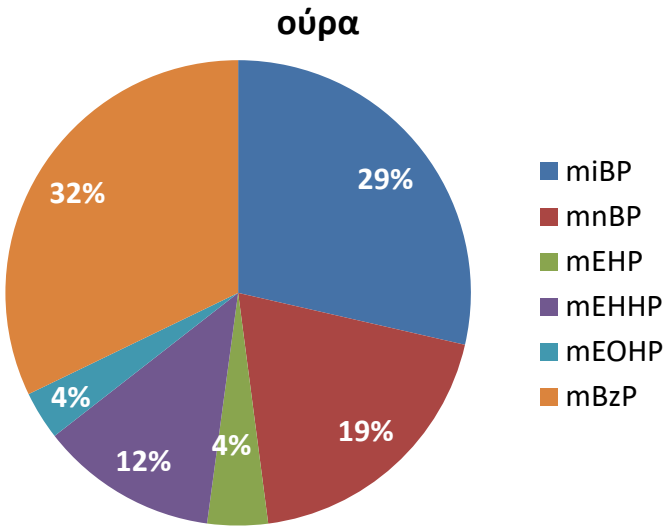


Εικόνα 24. Συγκεντρώσεις μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων (μg/L) σε λογαριθμική κλίμακα στα δείγματα ούρων.

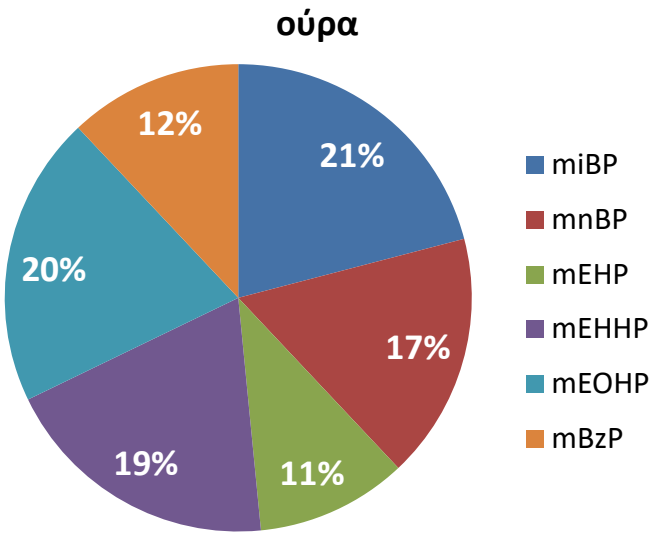
Πίνακας 12. Συγκεντρώσεις των ουσιών (μg/L) στα δείγματα ούρων (N=100).

Ουσίες	Θετικά δείγματα (%)	Μέσος όρος ± SD	Διάμεσος	Ελάχιστο	Μέγιστο
		Μεταβολίτες φθαλικών εστέρων			
miBP	54	251,6 ± 453,3	41,5	4,7	2255,6
mnBP	44	103,6 ± 192,4	28,1	4,6	847,6
mBzP	31	80,6 ± 97,3	46,7	4,3	455,4
mEHP	27	17,4 ± 49,9	6,1	1,3	263,4
mEHHP	50	40,7 ± 88,0	17,9	2,4	563,7
mEOHP	52	10,7 ± 21,3	4,9	0,6	139,1
		Δισφαινόλες			
BPA		<LOQ			
BPF		<LOQ			

Σχετικά με τους mnBP και miBP, το 41% των δειγμάτων ήταν θετικό και για τις δύο ενώσεις ενώ στο 43% δεν προσδιορίστηκε κανένας από τους δύο μεταβολίτες. Από τα δείγματα που προσδιορίστηκαν και με τις δύο ενώσεις, το 88% ανιχνεύτηκε με υψηλότερη συγκέντρωση miBP σε σχέση με mnBP. Σε σχέση με την ολική συγκέντρωση των φθαλικών για όλα τα δείγματα, τη μεγαλύτερη συνεισφορά έχουν οι mBzP και miBP σε ποσοστά 32% και 29%, αντίστοιχα (Εικόνα 25). Όσο αναφορά στην ανιχνευσιμότητα των ουσιών, οι μεταβολίτες που ανιχνεύτηκαν εξίσου συχνά στα θετικά δείγματα είναι οι miBP, mEOHP, mEHHP και mnBP σε ποσοστά 21%, 20%, 19% και 17% (Εικόνα 26).



Εικόνα 25. Συνεισφορά κάθε φθαλικού μεταβολίτη στη συνολική συγκέντρωση των μεταβολιτών που προσδιορίστηκαν στα δείγματα ούρων.



Εικόνα 26. Συνεισφορά κάθε φθαλικού μεταβολίτη στην ανιχνευσιμότητα των μεταβολιτών που προσδιορίστηκαν στα δείγματα ούρων.

3.4 Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης

3.4.1 Τρίχα

Από τη στατιστική συσχέτιση μεταξύ των ουσιών που προσδιορίστηκαν στα δείγματα τρίχας προέκυψαν σημαντικές θετικές συσχετίσεις μεταξύ των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων και αρνητική συσχέτιση μεταξύ ενός μεταβολίτη και της διαφαινόλης Α. Οι θετικές συσχετίσεις μεταξύ των φθαλικών ήταν αναμενόμενες καθώς οι ουσίες αυτές προστίθενται σαν μίγματα στα προϊόντα και όχι μεμονωμένες. Οι διεστέρες DiBP και DnBP έχουν παρόμοιες ιδιότητες και χρησιμοποιούνται ως μίγμα σε βιομηχανικά προϊόντα και οι αντίστοιχοι μεταβολίτες τους miBP και mnBP στην τρίχα συσχετίστηκαν στατιστικά σημαντικά (rs=0,556, p=0,004) (Πίνακας 13, Εικόνα 27). Σημαντικές συσχετίσεις βρέθηκαν επίσης μεταξύ των mnBP και mEHP (rs=0,760, p<0,001) η οποία υποδεικνύει επίσης κοινή πηγή έκθεσης στις μητρικές ενώσεις. Σημαντική αρνητική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ της BPA με τον mEHP (rs=-0,458, p=0,011).

Όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 1, διάφορες μελέτες συσχετίζουν την έκθεση στους ενδοκρινικούς διαταράκτες με αρνητικές επιπτώσεις στην διάρκεια της κύησης, την υγεία των ενηλίκων, την ανάπτυξη και υγεία των νεογνών. Για το λόγο αυτό, οι παράμετροι αυτοί εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη, σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα βιοπαρακολούθησης. Ωστόσο, δεν προέκυψαν σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στις συγκεντρώσεις των ουσιών στην τρίχα και τον πρόωρο τοκετό, προβλήματα και επιπλοκές κατά την εγκυμοσύνη.

Πίνακας 13. Συσχετίσεις μεταξύ των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων και των δισφαινολών που ανιχνεύτηκαν στα δείγματα τρίχας.

Ουσίες		**rs**	**P**
mEP	mEHP	-0,500	0,667
	BPA	0,000	1,000
mEHHP	mEHP	-0,500	0,667
miBP	mnBP	0,556	0,004
	mBzP	0,500	0,667
	mEHP	0,207	0,226
	BPS	-0,027	0,929
	BPA	0,022	0,943
mnBP	mEHP	0,760	0,000
	BPS	-0,043	0,907
	BPA	-0,413	0,183
mBzP	mEHP	-0,500	0,667
mEHP	BPS	0,054	0,786
	BPA	-0,458	0,011
BPS	BPA	0,319	0,267

*rs, παράγοντας συσχέτισης Spearmann

Σχετικά με τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά των εγκύων, μόνο η BPS συσχετίστηκε σημαντικά με αυξημένο σωματικό βάρος (rs=0,384, p=0,028) και ΔΜΣ (rs=0,367, p=0,036). Η εργασιακή απασχόληση των γυναικών δεν

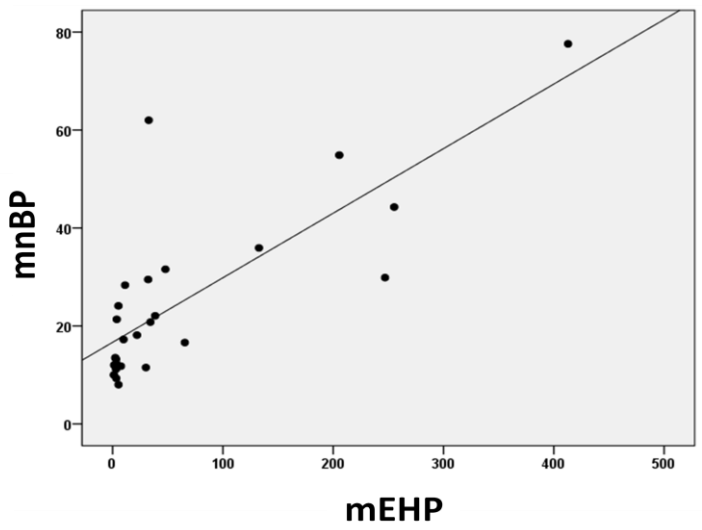
συσχετίστηκε με αυξημένη έκθεση σε καμία από τις ουσίες. Παρά το γεγονός ότι οι συμμετέχουσες στην έρευνα δήλωσαν την μειωμένη χρήση καλλυντικών και προϊόντων προσωπικής περιποίησης κατά την εγκυμοσύνη σε σχέση με πριν (μείωση στη χρήση αποσμητικού σώματος p=0,017, σπρέυ μαλλιών p=0,019, μακιγιάζ p<0,001), βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ της βιοπαρακολούθησης και των πληροφοριών από τα ερωτηματολόγια. Πιο συγκεκριμένα, η συχνή χρήση σπρέυ μαλλιών πριν την εγκυμοσύνη συσχετίστηκε με αυξημένες συγκεντρώσεις των μεταβολιτών mBzP (p=0,041) και miBP (p=0,066) στην τρίχα, η χρήση προϊόντων μακιγιάζ κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης συσχετίστηκε σημαντικά με τον miBP (p=0,015) και λιγότερο σημαντικά με τον mnBP (p=0,085) (Πίνακας 15, Πίνακας 16) και η χρήση αποσμητικού σώματος κατά την εγκυμοσύνη συσχετίστηκε αντίστροφα με τις συγκεντρώσεις του mEHP (p=0,021) (

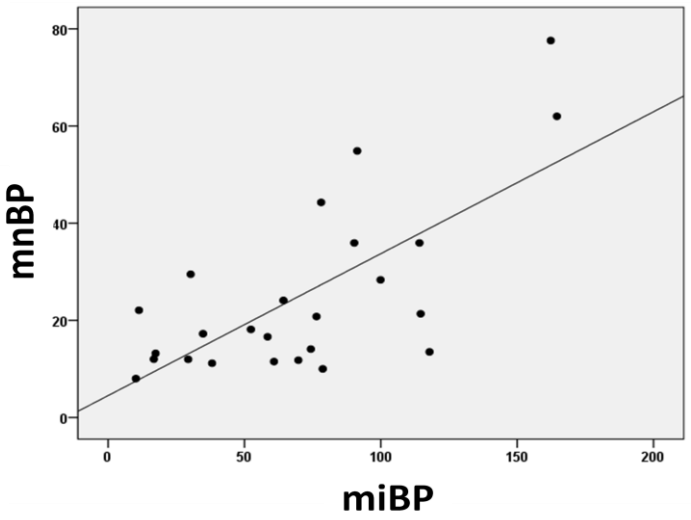
Πίνακας 17).

Το εμφιαλωμένο νερό και η μεμβράνη περιτύλιξης τροφίμων θεωρούνται πηγές έκθεσης στις ουσίες φθαλικοί εστέρες και BPA (Cao, 2010) και για το λόγο αυτό η συχνότητα χρήσης τους από τις συμμετέχουσες καταγράφηκε, ωστόσο δεν συσχετίστηκε με τις συγκεντρώσεις των ουσιών στην τρίχα. Ο κύριος μεταβολίτης του DEHP ο οποίος είναι ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος φθαλικός, mEHP, συσχετίστηκε σημαντικά με την συχνή χρήση πλαστικών δοχείων για την αποθήκευση των τροφίμων (p=0,013), ενώ η ίδια τάση, χωρίς ωστόσο να είναι στατιστικά σημαντική, προέκυψε για τον miBP (p=0,063) (Πίνακας 18). Όσο αναφορά στις διατροφικές συνήθειες, την κατανάλωση εμφιαλωμένου νερού και την παρουσία πλαστικών δεξαμενών και σωληνώσεων στο δίκτυο ύδρευσης, δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση με τα δεδομένα της βιοπαρακολούθησης.

Σχετικά με τις παραμέτρους που αφορούν στα νεογνά, η υψηλή έκθεση στο μεταβολίτη mEHP συσχετίστηκε σημαντικά με χαμηλότερο σωματικό βάρος των νεογνών (rs=-0,302, p=0,021), αλλά δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση για το ύψος και την περίμετρο κεφαλής. Τα επίπεδα της BPA τείνουν να είναι υψηλότερα στα αρσενικά βρέφη σε σχέση με τα θηλυκά (p=0,051) και είναι

υψηλότερα σε νεογνά χωρίς προβλήματα υγείας (p=0,017). Η συσχέτιση αυτή είναι πιθανό να επηρεάζεται από άλλες παραμέτρους οι οποίες ήταν δύσκολο να προσδιοριστούν.





Εικόνα 27. Γραμμική θετική συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων mEHP και mnBP (rs=0,760, p <0,001) (πάνω) και miBP και mnBP (rs=0,556, p=0,004) (κάτω).

3.4.2 Αμνιακό υγρό

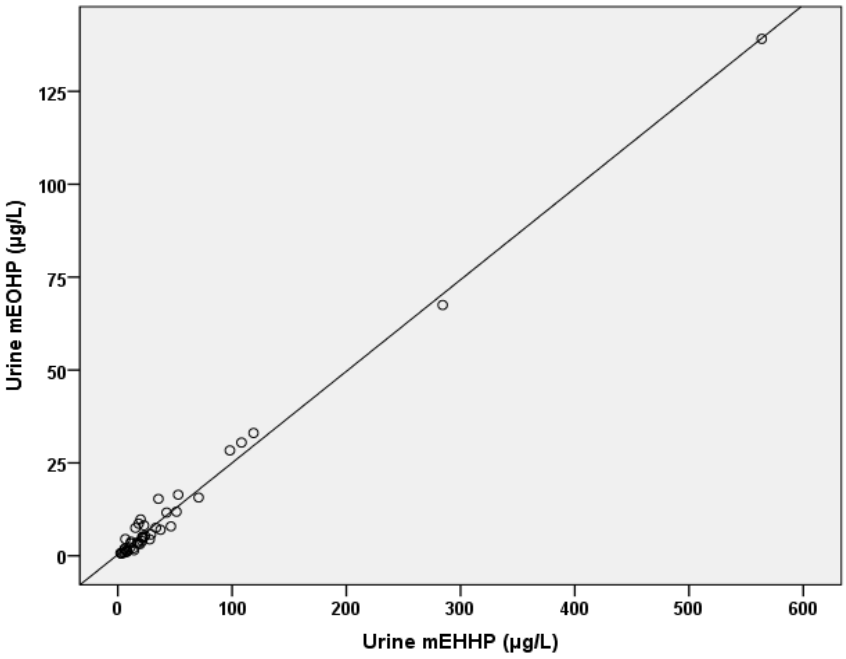
Η στατιστική ανάλυση για τα δείγματα αμνιακού υγρού πραγματοποιήθηκε μόνο για τις ουσίες mEHP και BPA οι οποίες προσδιορίστηκαν σε ποσοστό θετικών δειγμάτων 21,0% και 17,0% αντίστοιχα και οι παράμετροι που εξετάστηκαν ήταν ίδιες με την τρίχα. Από τα αποτελέσματα, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν η τάση για υψηλότερη συγκέντρωση του mEHP στο αμνιακό υγρό όταν η χρήση των πλαστικών σκευών ήταν συχνότερη (διάμεσος 1,8 μg/L για σπάνια χρήση και διάμεσος 2,8 μg/L για συχνή ή καθημερινή χρήση, p=0,093, Πίνακας 18), η αυξημένη συγκέντρωση της BPA όταν γινόταν συχνή χρήση σπρέυ μαλλιών πριν την εγκυμοσύνη (διάμεσος 1,4 μg/L για σπάνια χρήση και 2,1 μg/L για συχνή ή καθημερινή χρήση, p=0,068, Πίνακας 16) και η στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της BPA και της χρήσης μακιγιάζ πριν την εγκυμοσύνη (p=0,032) (Πίνακας 15).

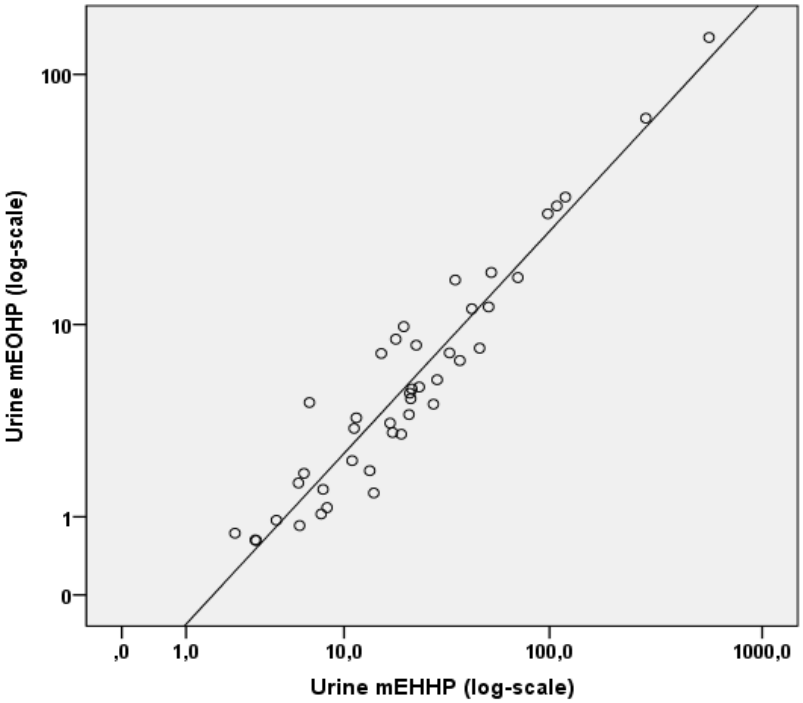
3.4.3 Ούρα

Πολλές από τις συσχετίσεις που βρέθηκαν για τις ουσίες στα ούρα είναι κοινές με τα αποτελέσματα για την τρίχα επιβεβαιώνοντας ότι οι ουσίες αυτές προστίθενται σαν μίγματα στα προϊόντα και όχι μεμονωμένες (Πίνακας 14). Οι μεταβολίτες του DEHP στα ούρα συσχετίστηκαν σημαντικά μεταξύ τους, υποδεικνύοντας ότι προέρχονται από κοινή μητρική ουσία και συγκεκριμένα συσχετίστηκαν τα δευτερογενή οξειδωτικά προϊόντα mEHHP και mEOHP (rs=0,92, p<0,001) και ο πρωτογενής mEHP με τον mEHHP (rs=0,41, p=0,07). Οι σημαντικές συσχετίσεις που βρέθηκαν μεταξύ των μεταβολιτών mEHHP και mnBP (rs=0,38, p=0,05) και mEOHP και mnBP (rs=0,41, p=0,02) υποδεικνύουν την κοινή έκθεση στους DEHP και DnBP. Οι mnBP και miBP συσχετίστηκαν σημαντικά μεταξύ τους (rs=0,95, p<0,001), όπως και στα δείγματα τρίχας και ο mBzP συσχετίστηκε με τους miBP (rs=0,70, p<0,001) και mnBP (rs=0,63, p=0,002). Ασθενής συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ των mEHP και miBP (rs=0,39, p=0,08). Όλες οι συσχετίσεις, είναι γραμμικές και απεικονίζονται στις Εικόνες 26, 27 και 28.

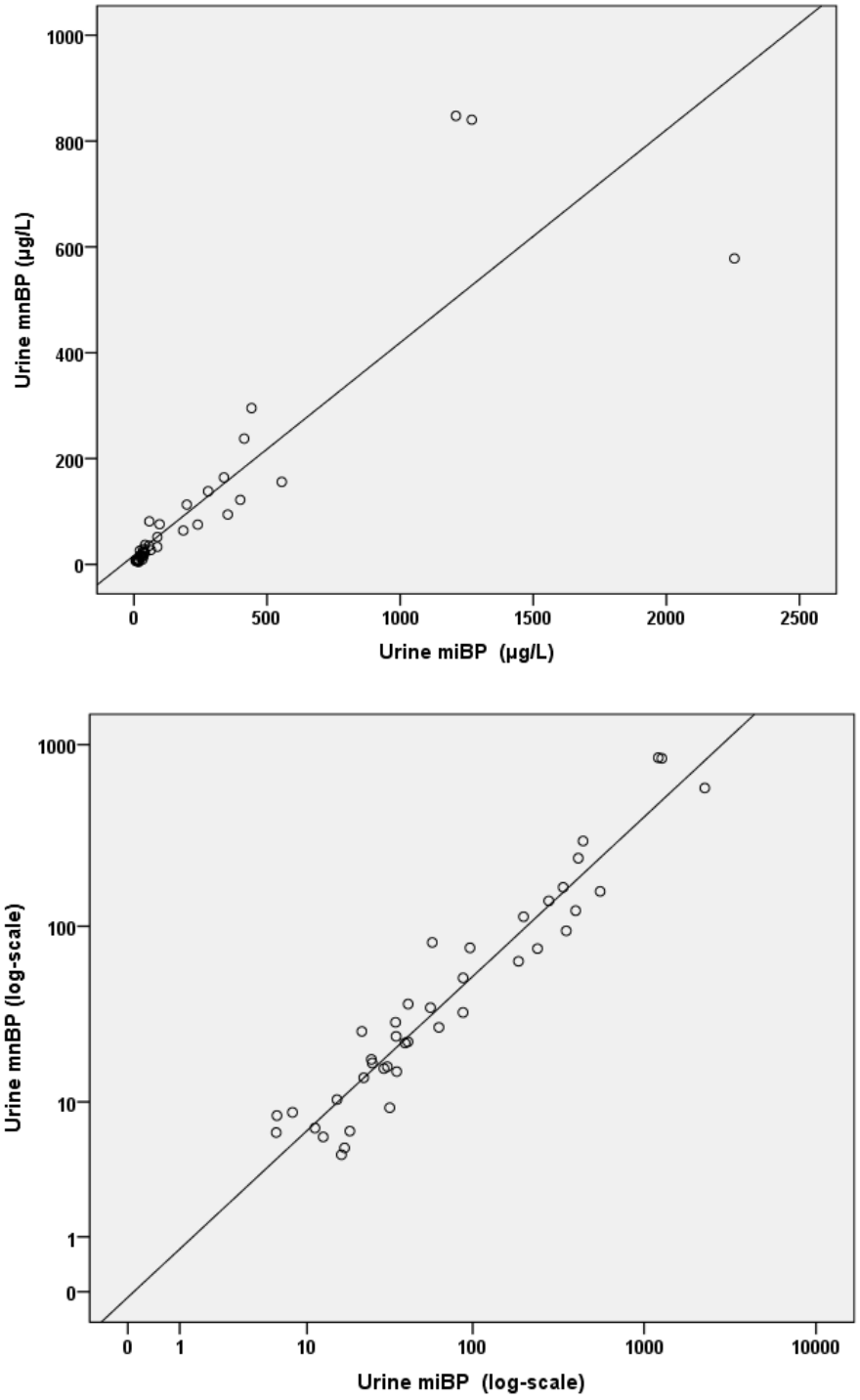
Πίνακας 14. Συσχετίσεις μεταξύ των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων που ανιχνεύτηκαν στα δείγματα ούρων.

Ουσίες		**Rs**	**P**
mEHHP	mEOHP	0,92	<0,001
	miBP	0,28	0,10
	mnBP	0,38	0,05
	mBzP	0,06	0,79
	mEHP	0,41	0,07
mEOHP	miBP	0,21	0,20
	mnBP	0,41	0,02
	mBzP	-0,01	0,97
	mEHP	0,21	0,36
miBP	mnBP	0,95	<0,001
	mBzP	0,70	<0,001
	mEHP	0,39	0,08
mnBP	mBzP	0,63	0,002
	mEHP	0,39	0,16
mBzP	mEHP	0,30	0,28

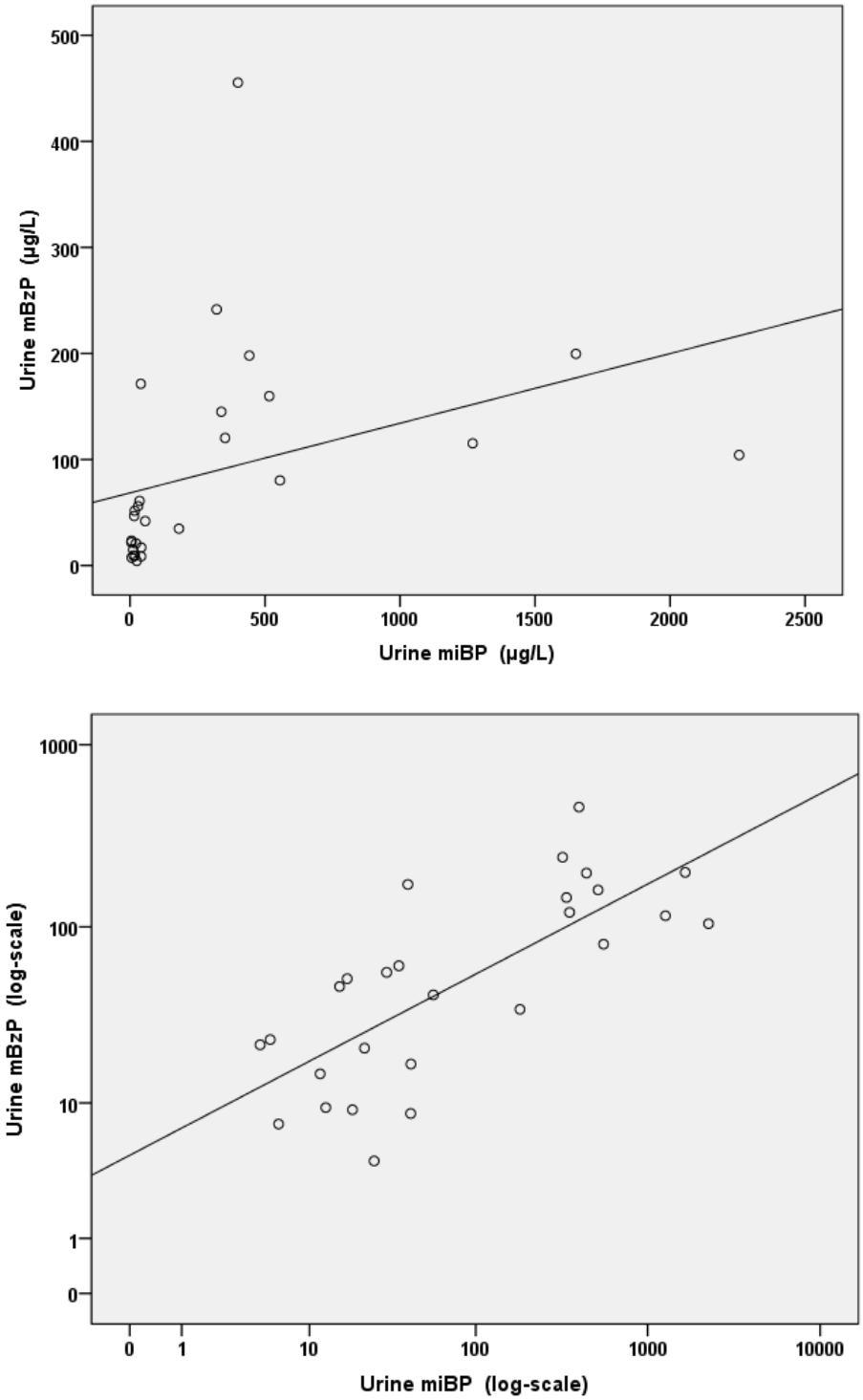




Εικόνα 28. Γραμμική θετική συσχέτιση (rs=0,92, p <0,001) μεταξύ των συγκεντρώσεων mEOHP και mEHHP σε πραγματική (πάνω) και λογαριθμική κλίμακα (κάτω).



Εικόνα 29. Γραμμική θετική συσχέτιση (rs=0,95, p <0,001) μεταξύ των συγκεντρώσεων mnBP και miBP σε πραγματική (πάνω) και λογαριθμική κλίμακα (κάτω).



Εικόνα 30. Γραμμική θετική συσχέτιση (rs=0,70, p <0,001) μεταξύ των συγκεντρώσεων mBzP και miBP σε πραγματική (πάνω) και λογαριθμική κλίμακα (κάτω).

Η σύνδεση της μητρικής έκθεσης στις ουσίες με επιπτώσεις στην εξέλιξη της κύησης, την υγεία των ενηλίκων, την ανάπτυξη και υγεία των νεογνών, εξετάστηκε και για τα δείγματα ούρων χωρίς ωστόσο να προκύψουν σημαντικές συσχετίσεις. Η προγεννητική έκθεση στα φθαλικά όπως αυτή προσδιορίστηκε μέσω των ούρων της μητέρας, δεν συσχετίστηκε προβλήματα υγείας των νεογνών, το σωματικό βάρος ή την περίμετρο κεφαλής, ωστόσο παρατηρήθηκε η τάση ότι η υψηλή έκθεση σε mEHP πιθανώς να σχετίζεται με χαμηλό ύψος των νεογνών (rs=0,396, p=0,062).

Καμία συσχέτιση δεν προέκυψε μεταξύ των συγκεντρώσεων των ουσιών στα ούρα και τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά των γυναικών. Παρόμοια με τα ευρήματα από την τρίχα και το αμνιακό υγρό, οι υψηλές συγκεντρώσεις του mEHP στην τρίχα συσχετίστηκαν με την συχνή χρήση των πλαστικών σκευών από τις συμμετέχουσες (Πίνακας 16). Πιο συγκεκριμένα, η διάμεση συγκέντρωση για μηδενική ή σπάνια χρήση ήταν 2,9 μg/L ενώ για συχνή ή καθημερινή χρήση 6,8 μg/L και η διαφορά αυτή είναι στατιστικά σημαντική (p=0,026). Η κατανάλωση αναψυκτικών, συσκευασμένων χυμών και τροφίμων ήταν περιορισμένη κατά το πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης και δεν βρέθηκαν συσχετίσεις μεταξύ της διατροφής και των αποτελεσμάτων έκθεσης από την βιοπαρακολούθηση. Η κατανάλωση εμφιαλωμένου νερού και η παρουσία πλαστικών δεξαμενών και σωληνώσεων στο οικιακό δίκτυο ύδρευσης δεν φαίνεται να επιβαρύνουν τις έγκυες με τις ουσίες. Σχετικά με τη χρήση προϊόντων μακιγιάζ, βρέθηκε ασθενής αντίστροφη συσχέτιση με τον mBzP στα ούρα (ποτέ/σπάνια διάμεσος: 60,9 μg/L, εβδομαδιαία/καθημερινά διάμεσος: 28,3 μg/L p=0,053) (Πίνακας 15). Υψηλότερες συγκεντρώσεις miBP (p=0,640) και mnBP (p=0,318) παρατηρήθηκαν στα ούρα όταν η χρήση προϊόντων μακιγιάζ ήταν συχνή κατά το πρώτο τρίμηνο, ωστόσο η διαφορά αυτή δεν βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντική. Οι συμμετέχουσες που δήλωσαν καθημερινή ή πολύ συχνή χρήση αποσμητικού πριν την εγκυμοσύνη βρέθηκαν με σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις miBP (p=0,050) και mnBP (p=0,028) στα ούρα. Αρνητική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ του mEHP και της συχνής χρήσης αποσμητικού (ποτέ/σπάνια διάμεσος: 14,8 μg/L, εβδομαδιαία/καθημερινά διάμεσος: 5,8 μg/L p=0,041) κατά το πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης, ωστόσο η συσχέτιση αυτή πιθανώς

να επηρεάζεται από άλλους παράγοντες. Δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση για τη χρήση σπρέι μαλλιών.

Πίνακας 15. Σύγκριση των επιπέδων των των μεταβολιτών των φθαλικών και των δισφαινολών στα δείγματα τρίχας, αμνιακού υγρού και ούρων με τη χρήση μακιγιάζ κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης.

		Συχνότητα χρήσης μακιγιάζ						
		Ποτέ/Μηνιαία			**Εβδομαδιαία/Καθημερινά**			
Βιολογικό υπόστρωμα	**Ουσίες**	**25th**	**50th**	**75th**	**25th**	**50th**	**75th**	**P**
ΤΡΙΧΑ	mEP	36,97	36,97	36,97	14,8	16,9	84,8	0,480
	mEHHP	-	-	-	8,5	25,9	132,2	-
	miBP	6,8	17,8	43,6	20,2	52,7	91,4	0,015
	mnBP	3,7	8,0	17,2	11,5	14,1	29,5	0,085
	mBzP	8,5	15,7	30,2	7,3	13,5	17,3	0,346
	mEHP	7,7	25,2	65,8	3,3	12,4	32,2	0,100
	BPS	1,5	4,1	9,7	1,5	2,9	4,4	0,376
	BPA	25,2	43,5	123,9	24,2	78,6	95,9	0,530
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	0,74	2,23	3,72	-	-	-	-
	BPA	1,25	1,465	1,85	1,4	1,9	2,2	0,315
ΟΥΡΑ	mEHHP	5,8	17,6	27,9	6,6	19,4	50,9	0,536
	mEOHP	1,6	4,9	8,3	2,6	5,2	13,5	0,545
	miBP	16,5	37,5	352,3	22,2	60,5	259,2	0,640
	mnBP	8,6	22,5	94,3	15,1	35,1	119,7	0,318
	mBzP	17,0	60,9	197,9	8,9	28,3	77,4	0,053
	mEHP	2,9	5,9	11,2	2,0	6,5	7,2	1,000

Πίνακας 16. Σύγκριση των επιπέδων των μεταβολιτών των φθαλικών και των δισφαινολών στα δείγματα τρίχας, αμνιακού υγρού και ούρων με τη χρήση σπρέι μαλλιών πριν την εγκυμοσύνη.

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Συχνότητα χρήσης σπρέι μαλλιών						P
		Ποτέ/Μηνιαία			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	
ΤΡΙΧΑ	mEP	-	-	-	15,1	27,1	94,7	-
	mEHHP	-	-	-	8,5	25,9	132,2	-
	mEOHP	0,3	0,4	0,7	0,3	0,4	0,5	0,817
	miBP	6,4	27,1	65,3	17,8	48,9	92,1	0,066
	mnBP	5,1	13,2	29,9	5,3	13,5	28,3	1,000
	mBzP	6,4	9,5	17,3	10,4	17,8	28,6	0,041
	mEHP	4,3	18,5	47,9	5,2	16,3	50,3	0,824
	BPS	1,5	3,1	6,2	1,5	3,2	5,9	0,830
	BPA	27,5	60,1	103,5	23,5	71,3	103,3	0,974
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	0,7	0,7	0,7	1,3	2,5	3,7	0,221
	BPA	1,4	1,4	1,7	1,7	2,1	2,8	0,068
ΟΥΡΑ	mEHHP	6,1	19,4	29,0	7,6	17,1	35,5	0,959
	mEOHP	2,0	5,0	8,7	1,5	4,7	11,9	0,902
	miBP	12,7	39,9	320,9	25,1	67,4	278,7	0,651
	mnBP	8,6	25,0	81,3	15,1	34,1	119,7	0,633
	mBzP	9,2	22,7	109,7	34,8	50,5	145,0	0,364
	mEHP	2,0	5,9	7,2	2,9	6,9	13,8	0,572

Πίνακας 17. Σύγκριση των επιπέδων των των μεταβολιτών των φθαλικών και των δισφαινολών στα δείγματα τρίχας, αμνιακού υγρού και ούρων με τη χρήση αποσμητικού κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης.

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Συχνότητα χρήσης αποσμητικού						P
		Ποτέ/Σπάνια			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	
ΤΡΙΧΑ	mEP				16,6	17,3	37,0	
	mEHHP				8,5	25,9	132,2	
	mEOHP	0,2	0,3	0,6	0,3	0,4	0,6	0,470
	miBP	6,4	20,2	76,4	14,5	38,1	74,3	0,578
	mnBP	3,3	20,8	35,9	5,3	13,2	28,3	0,829
	mBzP	6,4	8,9	11,3	7,3	14,5	22,3	0,281
	mEHP	24,7	62,5	109,9	4,3	14,3	32,7	0,021
	BPS	2,9	5,1	11,2	1,4	2,7	4,8	0,150
	BPA	22,8	93,1	369,1	24,2	65,0	95,9	0,383
ΟΥΡΑ	mEHHP	5,9	15,9	74,7	6,1	18,8	29,0	0,666
	mEOHP	1,1	3,2	28,4	2,3	5,0	8,1	0,991
	miBP	8,6	35,5	338,0	22,5	57,8	278,7	0,307
	mnBP	6,5	22,1	155,9	15,8	29,0	81,3	0,542
	mBzP	17,0	51,6	120,3	14,1	44,3	115,2	0,965
	mEHP	5,5	14,8	41,0	1,9	5,8	7,0	0,041

Πίνακας 18. Σύγκριση των επιπέδων των των μεταβολιτών των φθαλικών και των δισφαινολών στα δείγματα τρίχας, αμνιακού υγρού και ούρων με τη χρήση πλαστικών σκευών κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης.

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Συχνότητα χρήσης πλαστικών σκευών						P
		Ποτέ/σπάνια			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	
ΤΡΙΧΑ	mEP	37,0	94,7	152,4	13,0	16,6	17,3	0,083
	mEHHP	-	-	-	8,5	25,9	132,2	-
	miBP	17,1	22,5	58,9	32,4	55,6	90,8	0,063
	mnBP	12,6	13,8	19,0	11,9	23,1	35,9	0,170
	mBzP	-	-	-	28,6	31,7	35,7	-
	mEHP	3,2	8,1	24,1	7,5	26,5	68,4	0,013
	BPS	1,6	3,9	24,1	1,6	3,5	6,2	0,678
	BPA	44,2	78,7	191,7	21,9	46,2	95,9	0,194
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	1,5	1,8	2,3	2,1	2,8	3,2	0,093
	BPA	1,7	1,7	2,1	1,3	1,7	2,2	0,461
ΟΥΡΑ	mEHHP	6,6	21,4	42,7	5,8	17,6	29,0	0,573
	mEOHP	4,5	8,1	15,3	1,6	4,2	7,9	0,066
	miBP	11,7	37,7	320,9	23,8	49,0	308,4	0,633
	mnBP	6,5	18,6	119,7	16,2	31,0	94,3	0,496
	mBzP	9,4	34,8	104,2	18,9	58,4	152,4	0,268
	mEHP	1,7	2,9	5,7	5,8	6,8	12,5	0,026

3.5 Βιβλιογραφία

Cao, X. L. (2010). Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 9(1), 21–43. http://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00093.x

Karzi, V., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Alegakis, T., Katsikantami, I., Sifakis, S., … Tsatsakis, A. M. (2018). Biomonitoring of bisphenol A, triclosan and perfluorooctanoic acid in hair samples of children and adults. Journal of Applied Toxicology, 38(8), 1144–1152. https://doi.org/10.1002/jat.3627

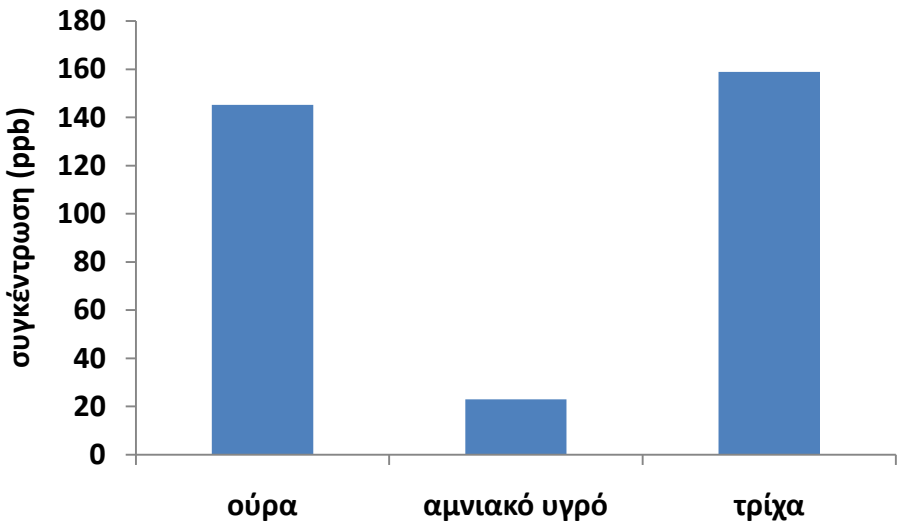
Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Kavvalakis, M. P., Barmpas, M., Kokkinakis, E. N., Xenos, K., & Tsatsakis, A. M. (2015). Biomonitoring of bisphenol A in hair of Greek population. Chemosphere, 118(1), 336–341. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.044

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Συζήτηση αποτελεσμάτων

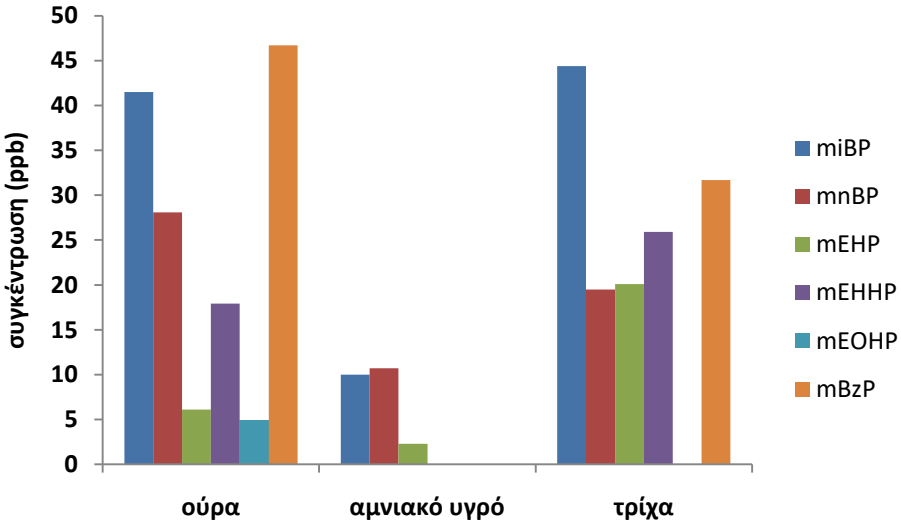
4.1 Σύγκριση αποτελεσμάτων για τα φθαλικά με τη βιβλιογραφία

Αν και η επαγγελματική έκθεση σε ρύπους θεωρείται σημαντική πηγή επιβάρυνσης για τον οργανισμό, στην παρούσα μελέτη δεν υπάρχουν σημαντικά ευρήματα ειδικά για τις γυναίκες που λόγω επαγγέλματος ανήκουν σε κατηγορία υψηλότερου κινδύνου. Παρόμοια, σε μια μελέτη η οποία προσδιόρισε διάφορους ρυπαντές συμπεριλαμβανομένου και τα φθαλικά, στο μητρικό γάλα, δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφοροποίηση με βάση την εργασιακή απασχόληση (Schlumpf et al., 2010). Ωστόσο, η ερευνητική ομάδα των Myridakis et al., (2015) προσδιόρισε μεταβολίτες των φθαλικών και BPA σε ούρα και βρέθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις του mEP σε δείγματα που προέρχονταν από κομμωτές. Διάφορες μελέτες έχουν επισημάνει τη σημασία της περαιτέρω έρευνας πάνω στην επαγγελματική έκθεση στα φθαλικά καθώς τα μέχρι σήμερα δεδομένα είναι ανεπαρκή (Hauser and Calafat, 2005; Huang et al., 2007).

Αν συγκριθούν μεταξύ τους τα αποτελέσματα για τα τρία υποστρώματα προκύπτει ότι στα ούρα και την τρίχα οι συγκεντρώσεις των φθαλικών είναι υψηλότερες, 145,2 μg/L και 158,9 pg/mg αντίστοιχα, σε σχέση με το αμνιακό 23,0 μg/L (Εικόνα 31). Οι κύριοι μεταβολίτες στα ούρα και την τρίχα είναι οι miBP και mBzP, ενώ στο αμνιακό ο miBP βρίσκεται στα ίδια επίπεδα με τον mnBP (Εικόνα 32).



Εικόνα 31. Σύγκριση της ολικής συγκέντρωσης των μεταβολιτών που προσδιορίστηκε στα τρία υποστρώματα.



Εικόνα 32. Διάμεσες συγκεντρώσεις των επιμέρους μεταβολιτών που προσδιορίστηκαν στα τρία υποστρώματα.

Το προφίλ των ουσιών στα τρία υποστρώματα είναι διαφορετικό. Στα ούρα η σειρά κατά αυξανόμενη συγκέντρωση είναι mEOHP < mEHP < mEHHP < mnBP < miBP < mBzP, στο αμνιακό mEHP < miBP < mnBP και στην τρίχα mnBP < mEHP < mEHHP < mBzP < miBP. Σύμφωνα με τον μεταβολισμό του

DEHP (Koch et al., 2005), το 74,3% της ποσότητας της προσλαμβανόμενης ουσίας απεκκρίνεται μέσω των ούρων μετά από 48 ώρες ως mEHP (7,3%), mEHHP (24,7%) και mEOHP (14,9%). Παρά το γεγονός ότι στα ούρα οι δευτερογενείς μεταβολίτες είναι πιο άφθονοι σε άλλα υποστρώματα όπως στον ορό του αίματος προσδιορίζεται κυρίως ο mEHP και δύο ώρες μετά την έκθεση η συγκέντρωσή του είναι έως και δέκα φορές υψηλότερη από τους δευτερογενείς μεταβολίτες (Koch et al., 2004). Η κατανομή των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων στα βιολογικά υποστρώματα διαφέρει και εξαρτάται από τις ιδιότητες της βιολογικής μήτρας και τις φυσικοχημικές ιδιότητες των ενώσεων.

4.1.1 Τρίχα

Πριν χρόνια υπήρχε η άποψη ότι τα φθαλικά απεκκρίνονται από τον οργανισμό μέσω των ούρων και δεν αποθηκεύονται στον λιπώδη ιστό (Schmid and Schlatter, 1985). Μελέτες με εθελοντές ανθρώπους και πειραματόζωα έδειξαν ότι η απέκκριση των φθαλικών (DEP, DEHP, DnBP, BBzP, DiNP, DiBP) μέσω των ούρων σε 24 ώρες κυμαίνεται από 39,5% για τον DiNP (Koch and Angerer, 2007) έως 92,2% για τον DnBP (Koch et al., 2012). Οι πιο λιπόφιλες ουσίες έχουν χαμηλότερο ποσοστό απέκκρισης λόγω αργής απομάκρυνσης από τον οργανισμό ή ενδεχομένως μερική αποθήκευση στον λιπώδη ιστό. Η τρίχα έχει αποδειχτεί ότι είναι κατάλληλη βιολογική μήτρα για την βιοπαρακολούθηση ουσιών που αποθηκεύονται στον οργανισμό όπως τα ναρκωτικά, φαρμακευτικές ουσίες, φυτοφάρμακα και βαρέα μέταλλα (Tsatsakis et al., 2008) και έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για την εκτίμηση της μακροχρόνιας έκθεσης σε διάφορα χημικά.

Οι διαθέσιμες πληροφορίες στην βιβλιογραφία σχετικά με την παρουσία των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων στην τρίχα είναι περιορισμένες, ενώ περισσότερες είναι οι αναφορές για προσδιορισμό των μητρικών ενώσεων (Zhao et al., 2017; He et al., 2018). Ωστόσο, η βιοπαρακολούθηση των μητρικών φθαλικών στην τρίχα παρουσιάζει δυσκολίες επειδή η ανάλυση των

διεστέρων αντιμετωπίζει σημαντικά προβλήματα επιμόλυνσης από τη συλλογή μέχρι τα στάδια επεξεργασίας των δειγμάτων (Tienpont et al., 2005; Fierens et al., 2012) με αποτέλεσμα να υπάρχει κίνδυνος υπερεκτίμησης της πραγματικής έκθεσης. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στην παρούσα εργασία για την βιοπαρακολούθηση των μεταβολιτών των φθαλικών στην τρίχα είναι μοναδικά. Υπάρχει μία έρευνα η οποία μελέτησε την παρουσία των πέντε μεταβολιτών του DEHP, συγκεκριμένα mEHP, mEHHP, mEOHP, 5cx-mEPP και 2cx-mMHP σε δέκα ανθρώπινα δείγματα τρίχας (Chang et al., 2013). Η σειρά των ενώσεων με βάση τις συγκεντρώσεις που προσδιορίστηκαν ήταν mEHP > mEOHP > mEHHP > 5cx-mEPP και 2cx-mMHP. Ο κύριος μεταβολίτης που ανιχνεύτηκε ήταν ο mEHP με μέση συγκέντρωση 44,9 pg/mg και στη συνέχεια οι δευτερογενείς μεταβολίτες mEOHP και mEHHP σε συγκεντρώσεις 9,2 και 5,7 pg/mg, αντίστοιχα. Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε πολύ μεγαλύτερος αριθμός συμμετεχόντων και ο mEHP είναι ο μεταβολίτης με το μεγαλύτερο ποσοστό θετικότητας (68,0%) ενώ οι δευτερογενείς μεταβολίτες ανιχνεύτηκαν σε λιγότερο από το 3,0% των δειγμάτων. Η μέση συγκέντρωση του mEHP ήταν 47,4 ± 74,7 pg/mg, ο mEHHP ανιχνεύτηκε μόνο σε τρία δείγματα με μέση συγκέντρωση 55,5 ± 67,0 pg/mg και ο mEOHP σε ένα μόνο δείγμα σε συγκέντρωση 2,0 pg/mg.

Στη βιβλιογραφία υπάρχει μελέτη που εξέτασε την παρουσία των μεταβολιτών του DiNP στην τρίχα από αρουραίους μετά από ελεγχόμενη χορήγηση της μητρικής ουσίας (Hsu et al., 2015). Δείγματα ούρων και τρίχας αναλύθηκαν ταυτόχρονα και οι συγκεντρώσεις των miNP, mOiNP και mHiNP στην τρίχα συσχετίστηκαν σημαντικά με τις συγκεντρώσεις στα ούρα. Ο κύριος μεταβολίτης στην τρίχα ήταν ο mHiNP, ωστόσο, ένα ανθρώπινο δείγμα αναλύθηκε στο οποίο ο πρωτογενής μεταβολίτης του DiNP, miNP, ήταν ο κύριος μεταβολίτης σε συγκέντρωση 40,4 μg/g, εύρημα το οποίο είναι σε συμφωνία με την παρούσα έρευνα. Ωστόσο, η διαφορά στην κατανομή των ουσιών μεταξύ της ανθρώπινης τρίχας και στα πειραματόζωα δεν μπορεί να εξηγηθεί με βάση την υπάρχουσα βιβλιογραφία.

Όσο αναφορά στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, δεν βρέθηκαν συσχετίσεις μεταξύ των ουσιών στην τρίχα και της χρήσης μεμβράνης περιτύλιξης τροφίμων ή την κατανάλωση συγκεκριμένων

τροφίμων, εμφιαλωμένου νερού ή την παρουσία πλαστικών δεξαμενών και σωληνώσεων για την αποθήκευση και μεταφορά του νερού στο οικιακό δίκτυο ύδρευσης. Ωστόσο, υπάρχουν μελέτες στα ούρα οι οποίες υποδεικνύουν την πιθανή σύνδεση αυτών. Στην παρούσα μελέτη, βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της συχνής χρήσης πλαστικών σκευών για την αποθήκευση τροφίμων και τα επίπεδα του mEHP στην τρίχα (p=0,013) και πιο ασθενής τάση για τον miBP (p=0,063). Το εύρημα αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με την βιβλιογραφία, σύμφωνα με την οποία έχει βρεθεί συσχέτιση μεταξύ της χρήσης πλαστικών δοχείων για τα τρόφιμα και υψηλές συγκεντρώσεις των μεταβολιτών του DEHP (mEHP, mEHHP) στα ούρα (Tranfo et al., 2013).

Παρά το γεγονός ότι οι συμμετέχουσες δήλωσαν μειωμένη χρήση καλλυντικών κατά την εγκυμοσύνη, η συστηματική χρήση σπρέι μαλλιών πριν την εγκυμοσύνη συσχετίστηκε με υψηλά επίπεδα mBzP (p=0,041) και miBP (p=0,066) στην τρίχα. Οι έγκυες που δήλωσαν συχνή χρήση προϊόντων μακιγιάζ κατά την εγκυμοσύνη βρέθηκαν να έχουν υψηλότερη επιβάρυνση σε miBP (p=0,015) και mnBP (p=0,085). Οι συγκεντρώσεις του mEHP συσχετίστηκαν αντιστρόφως με τη συχνή χρήση αποσμητικού κατά την εγκυμοσύνη (p=0,021), ωστόσο η συσχέτιση αυτή φαίνεται ότι επηρεάζεται από άλλους παράγοντες και επιπλέον το αποσμητικό και τα καλλυντικά γενικότερα, δεν θεωρούνται κύρια πηγή έκθεσης για τον DEHP (Koniecki et al., 2011; Lyche et al., 2009). Τα παραπάνω ευρήματα στην τρίχα είναι σημαντικά και μοναδικά στην βιβλιογραφία και δείχνουν ότι τα φθαλικά αποθηκεύονται στην ανθρώπινη τρίχα και μπορούν να παρέχουν πληροφορίες τόσο για την παρελθοντική και μακροχρόνια έκθεση όσο και για την πρόσφατη έκθεση.

Όπως έχει εκτενώς αναφερθεί σε μελέτες ανασκόπησης (Katsikantami et al., 2016), διάφορες έρευνες συσχετίζουν την προγεννητική έκθεση στους ρυπαντές με καθυστερημένη ενδομήτρια ανάπτυξη, μεταβολές στις παραμέτρους βρεφικής ανάπτυξης και αντι-ανδρογονική δράση σε νεογέννητα αρσενικά. Ωστόσο δεν υπάρχει κάποια αναφορά σχετικά με την τρίχα. Στην παρούσα μελέτη, η υψηλή συγκέντρωση του mEHP συσχετίστηκε σημαντικά με το χαμηλό σωματικό βάρος των νεογνών (p=0,021) το οποίο είναι σε συμφωνία με μελέτες βιοπαρακολούθησης σε άλλα βιολογικά υποστρώματα

στην βιβλιογραφία (Huang et al., 2014; Valvi et al., 2015; Zhang et al., 2009). Μελέτες στο μητρικό αίμα, τα ούρα και το ομφάλιο αίμα συσχετίζουν την προγεννητική έκθεση στους μεταβολίτες των φθαλικών (mEHP, mEHHP, mEOHP, mECPP, mBzP and mnBP) με χαμηλό βάρος κατά την γέννηση και χαμηλό ρυθμό αύξησης βάρους εν συνεχεία (Huang et al., 2014; Valvi et al., 2015; Zhang et al., 2009).

Οι σημαντικές συσχετίσεις που βρέθηκαν μεταξύ των μεταβολιτών (miBP και mnBP, mnBP και mEHP) στην τρίχα δεν αναφέρονται στην βιβλιογραφία, ωστόσο βρίσκονται σε συμφωνία με αντίστοιχες μελέτες στα ούρα (Myridakis et al., 2015; Frederiksen et al., 2010), οι οποίες αναφέρονται παρακάτω. Το μεγαλύτερο ποσοστό θετικών δειγμάτων και η υψηλότερη διάμεση συγκέντρωση του miBP (40,0%, 44,4 pg/mg) σε σχέση με τον mnBP (28,0%, 19,5 pg/mg) που βρέθηκαν, βρίσκονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα από άλλες μελέτες στα ούρα (Myridakis et al., 2016), τα οποία υποδεικνύουν τις κοινές πηγές των DnBP και DiBP και την μεγαλύτερη επιβάρυνση του πληθυσμού στον DiBP. Η σημαντική αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της BPA και του mEHP δεν αναφέρεται στην βιβλιογραφία. Στη μελέτη των Martínez et al., (2018) προσδιορίστηκε η ταυτόχρονη έκθεση των εγκύων γυναικών στις ουσίες BPA και DEHP, μέσω των επιπέδων των ουσιών σε προϊόντα ευρείας κατανάλωσης. Η έκθεση στην BPA μέσω της διατροφής ήταν καθοριστικός παράγοντας (99,8%) στην συνολική έκθεση και από άλλες πηγές, ενώ για τον DEHP η έκθεση μέσω της διατροφής αντιστοιχούσε στο 63,0% της συνολικής έκθεσης, το 30,0% ήταν μέσω της κατάποσης αλλά όχι λόγω διατροφής (non-dietary ingestion), η δερματική απορρόφηση και η εισπνοή αντιστοιχούσαν στο 7%.

4.1.2 Αμνιακό υγρό

Στα δείγματα αμνιακού υγρού, από τους επτά μεταβολίτες μόνο ο mEHP ανιχνεύτηκε σε ποσοστό 21,0% και διάμεση συγκέντρωση 2,3 μg/L, ενώ οι υπόλοιποι σε ποσοστό μικρότερο από 5,0%. Τα επίπεδα αυτά είναι

χαμηλότερα από τις αναφερόμενες τιμές στην βιβλιογραφία (Πίνακας 19). Ενδεικτικά αναφέρονται οι διάμεσες συγκεντρώσεις για τον mnBP και mEHP 85,5 μg/L και 24,0 μg/L, αντίστοιχα, για τα θηλυκά νεογνά και 81,3 μg/L και 22,1 μg/L αντίστοιχα για τα αρσενικά (Huang et al., 2009). Οι mnBP και mEHP σε αυτή την έρευνα αντιστοιχούσαν στο 75% και 20% αντίστοιχα των φθαλικών που προσδιορίστηκαν στα δείγματα. Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχουν πρόσφατες έρευνες για την βιοπαρακολούθηση των μεταβολιτών των φθαλικών στο αμνιακό υγρό. Η πιο πρόσφατη είναι των Jensen et al., (2015), ωστόσο η δειγματοληψία του αμνιακού πραγματοποιήθηκε κατά τα έτη 1980-1996. Οι αναφερόμενες διάμεσες συγκεντρώσεις των μεταβολιτών στο αμνιακό υγρό είναι είτε χαμηλότερες σε σχέση με τα ούρα (<LOD – 7,8 μg/L στο αμνιακό, 1,3-55,6 μg/L στα ούρα) είτε παρόμοιες (22,1-85,5 μg/L στο αμνιακό, 24,6-78,0 μg/L στα ούρα) (Huang et al., 2009; Wittassek et al., 2009) (Πίνακας 19). Οι μεταβολίτες που ανιχνεύονται σε μεγαλύτερα ποσοστά είναι οι mnBP, mEHP, miBP και mEP (90–100%) και συσχετίζονται σημαντικά και γραμμικά με τις συγκεντρώσεις στα ούρα (Huang et al., 2009). Στην παρούσα έρευνα δεν βρέθηκαν συσχετίσεις μεταξύ των συγκεντρώσεων των ουσιών στο αμνιακό υγρό και τα ούρα, γεγονός που πιθανώς να οφείλεται στα φτωχά αποτελέσματα από το αμνιακό υγρό. Σε συμφωνία με την παρούσα έρευνα έρχονται τα ευρήματα από τις έρευνες των Silva et al., (2004) και Wittassek et al., (2009) οι οποίοι είτε δεν βρήκαν τους mEHHP και mEOHP σε κανένα δείγμα (Silva et al., 2004) είτε ανιχνεύτηκαν σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (Wittassek et al., 2009).

Η στατιστική ανάλυση έγινε μόνο για τον mEHP ο οποίος προσδιορίστηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό θετικών δειγμάτων (21,0%), ωστόσο, δεν βρέθηκε κάποια σημαντική συσχέτιση με την έκθεση της μητέρας εκτός από την ασθενή τάση για υψηλότερες συγκεντρώσεις όταν η χρήση πλαστικών σκευών ήταν συχνότερη ($p=0,093$). Επίσης, δεν βρέθηκαν συσχετίσεις με παραμέτρους υγείας των νεογνών, πιθανώς επειδή τα αποτελέσματα από τη βιοπαρακολούθηση είναι φτωχά. Παρόλα αυτά, στην βιβλιογραφία αναφέρεται σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ του mnBP με την πρωκτογεννητική απόσταση προσαρμοσμένο με βάση το σωματικό βάρος ($r=-0,32$, $p<0,05$) (Huang et al., 2009) το οποίο δείχνει ότι η ενδομήτρια έκθεση στα φθαλικά

έχει αντι-ανδρογονικές επιδράσεις στα νεογνά χωρίς ωστόσο να βρεθεί συσχέτιση με παράγοντες ανάπτυξης (βάρος και ύψος) κατά την γέννηση ή την ηλικία της κύησης. Όσο αναφορά στις δυσμορφίες, η προγεννητική έκθεση στον DEHP δεν φαίνεται να σχετίζεται με περιπτώσεις κρυψορχίας και υποσπαδίας, ωστόσο υψηλές συγκεντρώσεις του μεταβολίτη 5cx-MePP στο αμνιακό υγρό έχει συνδεθεί με 18% υψηλότερα επίπεδα τεστοστερόνης και 41% χαμηλότερη συγκέντρωση της ορμόνης INSL3 (insulin-like factor 3) (Jensen et al., 2015). Η ηλικία της κύησης κατά την αμνιοπαρακέντηση έχει συσχετιστεί θετικά με τα φθαλικά DEHP και DiNP (Jensen et al., 2012) το οποίο υποδεικνύει ότι όσο εξελίσσεται η εγκυμοσύνη, τα επίπεδα των μεταβολιτών των πιο λιπόφιλων φθαλικών εστέρων στο αμνιακό υγρό αυξάνονται.

Πίνακας 19. Σύγκριση των συγκεντρώσεων των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων (μg/L) στο αμνιακό υγρό στην παρούσα έρευνα με μελέτες στην βιβλιογραφία.

Αναφορά	N (Χώρα, Έτος)	Φθαλικές ενώσεις	Μέση συγκέντρωση	Διάμεσος	Εύρος ή Μέγιστη συγκέντρωση	% Θετικά δείγματα
Παρούσα έρευνα	100 (Ελλάδα, 2018)	mEP	ND	ND	ND	ND
		miBP	39,3± 55,1	10,0	5,1-102,9	3
		mnBP	12,0± 9,8	10,7	2,4-24,5	5
		mBzP	ND	ND	11,6-20,2	2
		mEHP	2,7 ± 1,3	2,3	1,4-7,0	21
		mEHHP	ND	ND	ND	0
		mEOHP	ND	ND	0,9	1
Huang et al., 2009	64 θηλυκά; αρσενικά βρέφη (Taiwan, 2005-2006)	mMP	-	-	<LOD-2,92;<LOD	-
		mEP	-	-	<LOD-6,5;<LOD-7,7	-
		mnBP	-	85,5;81,3	39,3-192,0;28,4-145,0	100
		mBzP	-	-	<LOD-233,0;<LOD-	-

		mEHP	-	24,0;22,1	104,0 <LOD-148,0;<LOD-110,0	>90
Wittassek et al., 2009	11 (Germany)	mnBP	9,1	7,8	18,7	100
		miBP	10,0	4,2	35,7	100
		mBzP	2,1	1,9	2,8	100
		mEHP	2,4	1,6	8,4	100
		mEHHP	<LOQ	<LOQ	0,31	72,7
		mEOHP	<LOD	<LOD	<LOQ	18,2
		mECPP	0,90	0,53	2,7	100
		mCMHP	0,60	0,64	0,92	100
		mHiNP	<LOD	<LOD	<LOQ	9,1
		mOiNP	<LOD	<LOD	<LOD	0
		mCiOP	0,51	<LOD	4,9	9,1
Silva et al., 2004	54 (USA)	mEP	-	<LOD	<LOD-9,0	92,6
		mnBP	-	5,8	<LOD-263,9	39
		mEHP	-	<LOD	<LOD-2,8	24

Τα αποτελέσματα από μελέτες σε πειραματόζωα βοηθούν στην κατανόηση των διεργασιών που συμβαίνουν στο αμνιακό υγρό. Οι μεταβολίτες στα ούρα βρίσκονταν κυρίως σε γλυκουρονιδιωμένη μορφή ενώ στο αμνιακό σαν ελεύθεροι μονοεστέρες. Τα επίπεδα των mEHP και mnBP προσδιορίστηκαν σε ούρα και αμνιακό υγρό από εγκύους αρουραίους μετά από από-του-στόματος χορήγηση των μητρικών ενώσεων (Calafat et al., 2006). Σημαντικές συσχετίσεις προέκυψαν μεταξύ των δόσεων που χορηγήθηκαν και των συγκεντρώσεων που βρέθηκαν στα βιολογικά υποστρώματα, με υψηλότερα επίπεδα αυτά που προσδιορίστηκαν στα ούρα. Σε μια παρόμοια έρευνα των Clewell et al., (2009) μελετήθηκε ο μεταβολισμός και η κατανομή του DnBP στο μητρικό αίμα, εμβρυϊκό πλάσμα, πλακούντα και αμνιακό υγρό. Οι μεταβολίτες εμφανίστηκαν αμέσως στο μητρικό αίμα και τον πλακούντα, ενώ η παρουσία τους στο εμβρυϊκό πλάσμα και το αμνιακό υγρό καθυστέρησε. Δεν βρέθηκε καμία ένδειξη συσσώρευσης των ουσιών στο μητρικό ή εμβρυϊκό πλάσμα. Το ενδιαφέρον εύρημα της συγκεκριμένης μελέτης είναι ότι στο αμνιακό υγρό εμφανίστηκε διαφορετική τάση μεταξύ της χορηγούμενης δόσης και της μετρούμενης συγκέντρωσης από την αναμενόμενη, το οποίο υποδεικνύει ότι οι διεργασίες που λαμβάνουν χώρα είναι πιο περίπλοκες από απλή μεταφορά ουσιών από το μητρικό αίμα προς το έμβρυο.

Τα οξειδωτικά προϊόντα μεταβολισμού του DEHP (mEHHP, mEOHP, mECPP, mCMHP) δεν μπορούν να σχηματιστούν με άλλη διαδικασία εκτός από τα μεταβολικά μονοπάτια και για το λόγο αυτό θεωρούνται πιο αξιόπιστοι βιοδείκτες έκθεσης (Wittassek et al., 2009). Συνεπώς, η παρουσία τους στο αμνιακό υγρό αποτελεί ισχυρή ένδειξη ότι το έμβρυο έχει εκτεθεί στις ουσίες. Υπάρχει η άποψη ότι το ήπαρ του εμβρύου έχει τη δυνατότητα να μεταβολίσει τον DEHP προς οξειδωτικά προϊόντα όταν ο οργανισμός βρίσκεται στο τελευταίο στάδιο της ανάπτυξής του (Koch et al., 2006). Έτσι, οι μετρούμενες συγκεντρώσεις των μεταβολιτών, ενδέχεται να προέρχονται από το ίδιο το έμβρυο χωρίς ωστόσο αυτό να έχει επιβεβαιωθεί ούτε είναι γνωστό ποια χρονική στιγμή της κύησης μπορεί να συμβεί. Στην παρούσα έρευνα, από τους δευτερογενείς μεταβολίτες του DEHP ανιχνεύτηκε μόνο ο mEOHP σε ένα δείγμα.

4.1.3 Ούρα

Οι έρευνες για τον προσδιορισμό των φθαλικών μεταβολιτών στα ούρα είναι πολυάριθμες διότι προτιμώνται ως βιολογικό υπόστρωμα καθώς οι ουσίες ανιχνεύονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις και δεν υπάρχει κίνδυνος επιμόλυνσης λόγω του ενζύμου λιπάση, το οποίο μετατρέπει τις μητρικές ουσίες σε μεταβολίτες (Kim et al., 2015, Main et al., 2006). Στον Πίνακας 20 γίνεται σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας με πρόσφατες μελέτες σε έγκυες γυναίκες. Ο πληθυσμός της παρούσας έρευνας φαίνεται να είναι λιγότερο επιβαρυμένος σε σχέση με τη βιβλιογραφία. Οι μεταβολίτες που προσδιορίστηκαν πιο συχνά είναι οι miBP, mEOHP, mEHHP και mnBP σε ποσοστά 54,0%, 52,0%, 50,0% και 44,0%, αντίστοιχα, ενώ στη βιβλιογραφία τα ποσοστά είναι μεγαλύτερα από 80,0%. Όσο αναφορά στις συγκεντρώσεις, η παρούσα έρευνα είναι πολύ κοντά με άλλες μελέτες. Από τη σύγκριση με αντίστοιχη έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε Ελληνίδες μητέρες (Myridakis et al., 2015), διαπιστώθηκε ότι οι διάμεσες συγκεντρώσεις είναι παρόμοιες (παρούσα έρευνα-2018/Myridakis et al., 2015: miBP: 41,5/39,2 μg/L, mnBP:

28,1/36,1 μg/L, mBzP: 46,7/6,0 μg/L, mEHP: 6,1/7,6 μg/L, mEHHP: 17,9/25,7 μg/L, mEOHP: 4,9/17,6 μg/L), ωστόσο οι μέγιστες συγκεντρώσεις και τα ποσοστά θετικότητας είναι χαμηλότερα. Να σημειωθεί ότι η διαφορά στα ποσοστά θετικών δειγμάτων πιθανώς να οφείλεται στα χαμηλότερα όρια ανίχνευσης που αναφέρονται στις βιβλιογραφικές αναφορές σε σχέση με την παρούσα μελέτη. Πιο αναλυτικά, στην παρούσα μελέτη τα όρια ανίχνευσης των ουσιών κυμάνθηκαν από 0,3 έως 4,5 μg/L, ενώ σε αντίστοιχες μελέτες αναφέρονται εύρη από 0,2 έως 0,8 μg/L (Machtinger et al., 2018) και μικρότερα ή ίσα με 0,5 μg/L (Wallner et al., 2016).

Οι συγκεντρώσεις των μεταβολιτών όσο και η παρουσία τους στα ούρα δεν συσχετίστηκαν με δείκτες ανάπτυξης και υγείας των νεογνών. Παρατηρήθηκε μόνο τάση η οποία δείχνει ότι η υψηλή έκθεση στον mEHP πιθανώς να σχετίζεται με χαμηλό ύψος των νεογνών το οποίο συμπίπτει με παρόμοια έρευνα στην Κίνα (Zhang et al., 2009). Έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε έγκυες γυναίκες στην Γαλλία αναφέρει πιθανή συσχέτιση του μεταβολίτη mCNP με το ύψος των νεογνών (Philippat et al., 2012), ενώ σε έρευνα στην Ιαπωνία δε βρέθηκε καμία συσχέτιση (Suzuki et al., 2010).

Πίνακας 20. Σύγκριση των συγκεντρώσεων των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων (μg/L) στα ούρα στην παρούσα έρευνα με μελέτες σε έγκυες γυναίκες στην βιβλιογραφία.

Αναφορά	**N (Χώρα, Έτος)**	**Φθαλικά**	**Μέση συγκέντρωση**	**Διάμεσος**	**Εύρος ή Μέγιστη συγκέντρωση**	**% Θετικά δείγματα**
Παρούσα έρευνα	100 (Ελλάδα, 2018)	miBP	251,6	41,5	4,7-2255,6	54,0
		mnBP	103,6	28,1	4,6-847,6	44,0
		mBzP	80,6	46,7	4,3-455,4	31,0
		mEHP	17,4	6,1	1,3-263,4	27,0
		mEHHP	40,7	17,9	2,4-563,7	50,0
		mEOHP	10,7	4,9	0,6-139,1	52,0

Hiesh et al., 2019	256 (Ταϊβάν, 2012-2015)	mMP	5,3	-	-	95,0
		mEP	16,1	-	-	92,4
		mnBP	18,4	-	-	99,7
		miBP	10,3	-	-	99,1
		mBzP	0,5	-	-	56,7
		miNP	-	-	-	0,9
		mEHP	3,3	-	-	83,9
		mEHHP	10,4	-	-	99,4
		mEOHP	8,9	-	-	99,2
		mECPP	15,2	-	-	97,6
Machtinger et al., 2018	50 (2015-2016, Ισραήλ)	mEP	-	56,7	-	100,0
		mnBP	-	11,1	-	98,0
		mHBP	-	0,6	-	66,0
		miBP	-	12,5	-	100,0
		mHiBP	-	3,1	-	98,0
		mBzP	-	0,8	-	84,0
		mCPP	-	0,6	-	52,0
		mEHP	-	1,5	-	72,0
		mEHHP	-	6,2	-	100,0
		mEOHP	-	5,7	-	100,0
		mECPP	-	9,9	-	100,0
Ait Bamai et al., 2015	125 (Ιαπωνία, 2009-2010)	mnBP	-	<LOD	<LOD-37	33,9
		miBP	-	47,3	<LOD-6946	95,3
		mBzP	-	11,6	<LOD-445	74,0
		mEHP	-	28,6	<LOD-416	85,8
		mEOHP	-	47,3	<LOD-199	98,4
		mECPP	-	7,5	<LOD-182	56,7
Myridakis et al., 2015	239 (Ελλάδα, 2009-2011)	mEP	141,9	133,9	2,6-4103,7	100,0
		mnBP	32,1	36,1	<LOD-94670,7	95,9
		miBP	36,7	39,2	<LOD-616,1	98,0

		mBzP	6,9	6,0	<LOD-199,4	91,6
		mEHP	7,0	7,6	<LOD-3401,3	72,7
		mEHHP	22,1	25,7	<LOD-6267,3	96,4
		mEOHP	15,5	17,6	<LOD-3610,6	93,6
Cantonwine et al., 2014	139 (Πουέρτο Ρίκο, 2010-2012)	mEP	102,2	-	12700	100,0
		mnBP	19,2	-	413	98,7
		miBP	10,9	-	964	100,0
		mBzP	3,9	-	305	98,4
		mEHP	3,3	-	141	92,9
		mEOHP	8,9	-	281	100,0
		mEHHP	10,7	-	361	100,0
		mECPP	19,6	-	749	100,0
		mCPP	2,3	-	109	98,9
		mCNP	2,3	-	59,8	99,7
		mCiOP	16,4	-	1230	100,0

Σχετικά με τη συχνότητα χρήσης πλαστικών σκευών και προϊόντων, προέκυψε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της χρήσης πλαστικών δοχείων για τη φύλαξη των τροφίμων και του mEHP. Η ίδια συσχέτιση βρέθηκε για την τρίχα και το αμνιακό υγρό. Το εύρημα αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με την βιβλιογραφία, σύμφωνα με την οποία έχει βρεθεί συσχέτιση μεταξύ της χρήσης πλαστικών δοχείων για τα τρόφιμα και υψηλές συγκεντρώσεις των μεταβολιτών του DEHP (mEHP, mEHHP) στα ούρα (Tranfo et al., 2013).

Στη βιομηχανία των τροφίμων τα φθαλικά χρησιμοποιούνται ως ομογενοποιητές. Εταιρίες τροφίμων στην Ταϊβάν πρόσθεταν υψηλές συγκεντρώσεις φθαλικών στα προϊόντα τους με αποτέλεσμα την παρουσία των ενώσεων σε ροφήματα για αθλητές, αναψυκτικά, τσάι, μαρμελάδες και συμπληρώματα διατροφής (Wu et al., 2012, 2014) και προκάλεσε την άμεση επέμβαση της κυβέρνησης. Σε έρευνες που ακολούθησαν διαπιστώθηκε η παρουσία των ενώσεων και σε άλλα τρόφιμα όπως παγωτά και κατεψυγμένα τρόφιμα. Σε άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε έγκυες γυναίκες από το Puerto Rico, βρέθηκε ότι οι μεταβολίτες mCPP, mCNP και mCOP ήταν υψηλότεροι στα ούρα των γυναικών με αυξημένη κατανάλωση παγωτού και κοτόπουλου, ενώ μεγαλύτερη ήταν η επιβάρυνση σε mEP στον πληθυσμό που κατανάλωνε εμφιαλωμένο νερό αντί για νερό από το δημόσιο δίκτυο

(Cantonwine et al., 2014), ενώ στη μελέτη των Tranfo et al., (2013), βρέθηκαν στα ούρα πληθυσμού με συχνή κατανάλωση αλκοόλ, κατανάλωση ψαριού και συσκευασμένου φαγητού, υψηλές συγκεντρώσεις μεταβολιτών του DEHP, mnBP και mBzP. Παρόλ' αυτά, στην παρούσα έρευνα δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση με διατροφικές συνήθειες.

Λόγω της γνώσης που υπάρχει στον πληθυσμό σχετικά με τους ρυπαντές που υπάρχουν στα καλλυντικά και τις αρνητικές επιπτώσεις στην εξέλιξη της κύησης και την υγεία του βρέφους, οι συμμετέχουσες δήλωσαν περιορισμένη χρήση συγκεκριμένων προϊόντων προσωπικής φροντίδας κατά την εγκυμοσύνη. Οι συμμετέχουσες που δήλωσαν καθημερινή ή πολύ συχνή χρήση αποσμητικού πριν την εγκυμοσύνη βρέθηκαν με σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις miBP (p=0,050) και mnBP (p=0,028) στα ούρα. Στην βιβλιογραφία, αναφέρεται ότι η χρήση καλλυντικών τα οποία μένουν στο δέρμα και δεν ξεπλένονται (leave-on), συσχετίζονται με υψηλές συγκεντρώσεις των μεταβολιτών mBzP και mEP στα ούρα εγκύων γυναικών (Hsieh et al., 2019), ασθενέστερη τάση βρέθηκε για τους μεταβολίτες του DEHP, ενώ δεν βρέθηκαν συσχετίσεις με τους miBP και mnBP. Η αρνητική συσχέτιση που βρέθηκε στην παρούσα έρευνα μεταξύ της χρήσης καλλυντικών πρϊόντων και του mBzP αναφέρεται και σε άλλες παρόμοιες μελέτες (Duty et al., 2005; Larsson et al., 2014). Έρευνα που πραγματοποιήθηκε στις ΗΠΑ προσδιόρισε το περιεχόμενο τέτοιων προϊόντων σε φθαλικά και το 13% βρέθηκε θετικό για τον BBzP και το 66% για τον DEHP (Guo and Kannan, 2013). Ωστόσο, τα αποτελέσματα βιοπαρακολούθησης δεν συμφωνούν απόλυτα με την παρουσία των ενώσεων στα καλλυντικά ίσως επειδή η επιβάρυνση στα βιολογικά υποστρώματα επηρεάζεται από πολλές διαφορετικές πηγές έκθεσης.

Σε αντίθεση με τα μέχρι τώρα αναφερθέντα, μια πρόσφατη έρευνα (Valvi et al., 2015) η οποία μελέτησε την παρουσία δέκα μεταβολιτών φθαλικών σε έγκυες γυναίκες από την Ισπανία (N=391), υπέδειξε ότι κοινωνικοί δημογραφικοί παράγοντες, καθημερινές συνήθειες και η χρήση καθαριστικών στο σπίτι καθορίζουν σε μεγαλύτερο βαθμό την έκθεση στα φθαλικά σε σχέση με τη χρήση πλαστικών συσκευασιών και προϊόντων προσωπικής φροντίδας. Το υψηλό σωματικό βάρος (mBzP), το χαμηλό μορφωτικό επίπεδο (DEHP

metabolites), η κοινωνική τάξη (mEP) και η χαμηλή κατανάλωση βιολογικών τροφίμων (mBzP) συσχετίστηκαν με υψηλές συγκεντρώσεις ορισμένων μεταβολιτών στα ούρα. Η χρήση καθαριστικών προϊόντων (λευκαντικά, αμμωνία, καθαριστικά τζαμιών και φούρνου) τουλάχιστον μία φορά την εβδομάδα κατά την εγκυμοσύνη συσχετίστηκε με 10%-44% υψηλότερες συγκεντρώσεις των μεταβολιτών του DEHP, mBzP, miBP, mEP και mnBP στα ούρα. Η χρήση αποσμητικών χώρου συσχετίστηκε αντίστροφα με τον mBzP. Ωστόσο, η πόση εμφιαλωμένου νερού, η κατανάλωση τροφίμων συσκευασμένων σε κονσέρβα ή πλαστικές συσκευασίες και η χρήση προϊόντων μακιγιάζ, δεν συσχετίστηκαν με υψηλότερες συγκεντρώσεις των μεταβολιτών.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει μια έρευνα η οποία μελέτησε τη μεταβολή στις συγκεντρώσεις των φθαλικών στα ούρα των μελών μιας Αυστριακής οικογένειας, μετά από την πλήρη απομάκρυνση των πλαστικών ειδών στην κουζίνα, πλαστικά παιχνίδια και είδη μπάνιου και μείωση στην κατανάλωση τροφών συσκευασμένων με πλαστικό (Hutter et al., 2016). Δύο μήνες μετά την εφαρμογή της δοκιμασίας, στα περισσότερα μέλη της οικογένειας οι συγκεντρώσεις ορισμένων φθαλικών είχαν μειωθεί, με εξαίρεση τα δείγματα από την μητέρα (44,0 μg/g creatinine στο πρώτο δείγμα και 122 μg/g creatinine στο δεύτερο), για την οποία όλοι οι μεταβολίτες ανιχνεύτηκαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. Λόγω της πολλαπλής έκθεσης στα φθαλικά και της παρουσίας τους στο περιβάλλον, είναι πολύ δύσκολο να αποφευχθεί πλήρως η ανθρώπινη έκθεση.

4.2 Εκτίμηση της ημερήσιας πρόσληψης φθαλικών

Τα αποτελέσματα από την βιοπαρακολούθηση στα ούρα μπορούν να αξιοποιηθούν για την εκτίμηση της ημερήσιας πρόσληψης (Estimated Daily Intake, EDI) της αντίστοιχης μητρικής ουσίας και από την τιμή αυτή προκύπτει ο κίνδυνος που συνεπάγεται για την υγεία μέσω του δείκτη επικινδυνότητας (Hazard Quotient και Hazard Index). Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε η

μαθηματική εξίσωση (2) η οποία μετατρέπει τη συγκέντρωση του φθαλικού μεταβολίτη στα ούρα σε ημερήσια πρόσληψη της αντίστοιχης μητρικής ανά κιλό σωματικού βάρους (Katsikantami et al., 2016; Koch et al., 2007; Koch and Calafat, 2009; Wittassek et al., 2007):

$$EDI\left(\frac{\frac{\mu g}{kg\ bw}}{d}\right) = \frac{C_U\left(\frac{\mu g}{L}\right) \times V_U\left(\frac{L}{day}\right) \times MW_P\left(\frac{g}{mol}\right)}{F_{UE} \times BW\,(kg) \times MW_{PM}\left(\frac{g}{mol}\right)} \qquad \textit{Εξίσωση (2)}$$

Όπου C_U (μg/L) η συγκέντρωση του μεταβολίτη στα ούρα, V_U (L) ο όγκος των ούρων που αποβάλλει ένας ενήλικας ημερησίως και ορίζεται η τιμή 1,5 L (Dirtu et al., 2013), F_{UE} ο συντελεστής απέκκρισης της ουσίας μέσω των ούρων σε 24 ώρες (Πίνακας 2), BW (kg) το σωματικό βάρος ενός ενήλικα και ορίζεται 70 kg, MW_P και MW_{PM} τα μοριακά βάρη των φθαλικών διεστέρων και μονοεστέρων αντίστοιχα.

Μόνο για την περίπτωση έκθεσης στον DEHP χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση (3) καθώς ο διεστέρας αυτός έχει πέντε μεταβολίτες, τρεις από τους οποίους μελετήθηκαν και προσδιορίστηκαν στην παρούσα μελέτη. Στην εξίσωση αυτή προστίθενται οι επιμέρους συγκεντρώσεις των μεταβολιτών για να υπολογιστεί η έκθεση στην μητρική ουσία και η παράμετρος που αλλάζει σε σχέση με την εξίσωση (2) είναι η συνολική συγκέντρωση C_U των μεταβολιτών mEHP, mEOHP, mEHHP η οποία εκφράζεται ως μmol/L (Katsikantami et al., 2019):

$$EDI\left(\frac{\frac{\mu g}{kg\ bw}}{d}\right) = \frac{C_U\left(\frac{\mu mol}{L}\right) \times V_U\,(L) \times MW_P\left(\frac{g}{mol}\right)}{F_{UE} \times BW\,(kg)} \qquad \textit{Εξίσωση (3)}$$

Από τη σύγκριση του EDI με τα επιτρεπτά όρια όπως πχ τιμές RfD (Reference Dose) από την US EPA, προκύπτει ο παράγοντας επικινδυνότητας λόγω της έκθεσης σε μια ουσία (HQ) ή σε μίγμα ουσιών με ίδια επίδραση στην υγεία (HI):

$$HQ = \frac{EDI}{RfD} \quad \kappa\alpha\iota \quad HI = \sum HQ_i \qquad \textit{Εξίσωση (4)}$$

Από την εκτίμηση του κινδύνου (Πίνακας 21) προέκυψε ότι ο πληθυσμός που εξετάστηκε εκτέθηκε συνολικά σε 145,2 μg/L φθαλικών ουσιών (διάμεση συγκέντρωση) και η ημερήσια έκθεση σε κάθε φθαλικό είναι 1,6 μg/kg DiBP, 0,9 μg/kg DnBP, 1,7 μg/kg BBzP, 1,2 μg/kg DEHP και συνολική πρόσληψη 5,4 μg/kg/day φθαλικών η οποία αντιστοιχεί σε βαθμό επικινδυνότητας 0,10 ή 10%. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η ημερήσια πρόσληψη DEHP κυμαίνεται από 3-30 μg/kg (Hannon and Flaws, 2015). Η τιμή που βρέθηκε στην παρούσα έρευνα για τις έγκυες γυναίκες είναι χαμηλότερη από το εύρος αυτό.

Πίνακας 21. Υπολογισμός εκτιμώμενης ημερήσιας πρόσληψης και εκτίμηση του κινδύνου.

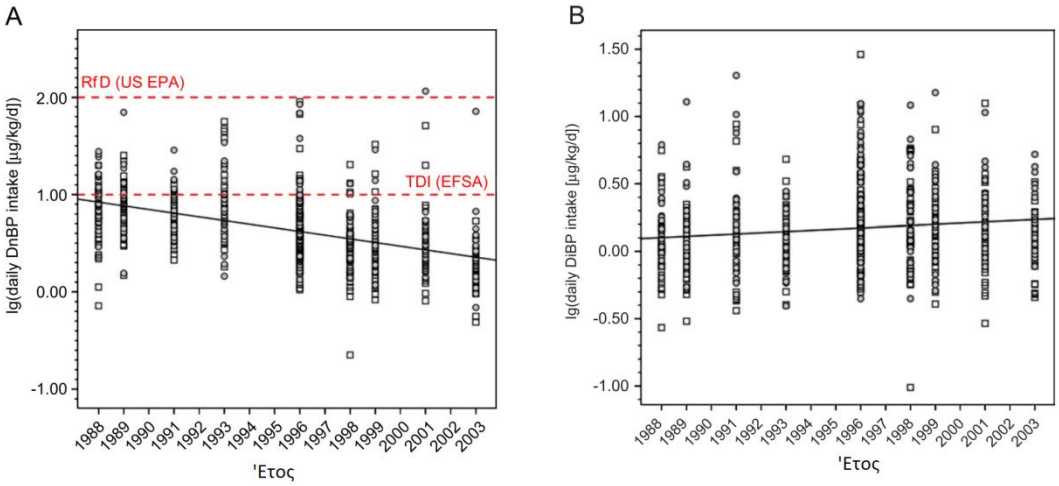
Ουσίες	Διάμεση συγκέντρωση στα ούρα (μg/L)	MW μητρικής ουσίας (g/mol)	MW μεταβολίτη (g/mol)	EDI (μg/kg/day)	RfD (μg/kg/day)	HQ
miBP	41,5	278,3	222,2	1,6	100	0,016
mnBP	28,1	278,3	222,2	0,9	100	0,009
mBzP	46,7	312,4	256,3	1,7	200	0,008
mEHP	6,1 (0,022 μmol/L)		278,4			
mEHHP	17,9 (0,061 μmol/L)	390,6	294,4	1,2	20	0,062
mEOHP	4,9 (0,017 μmol/L)		292,3			
			TDI	5,4	**HI**	0,10

Οι συσχετίσεις μεταξύ των μεταβολιτών όπως έχουν περιγραφεί, δείχνουν ότι τα άτομα που εκτίθενται στον DEHP είναι επίσης πιθανό ότι εκτίθενται και στους DnBP και DiBP. Παρόμοια ευρήματα έχουν αναφερθεί σε μελέτες βιοπαρακολούθησης στα ούρα και τον ορό αίματος, σύμφωνα με τα οποία οι

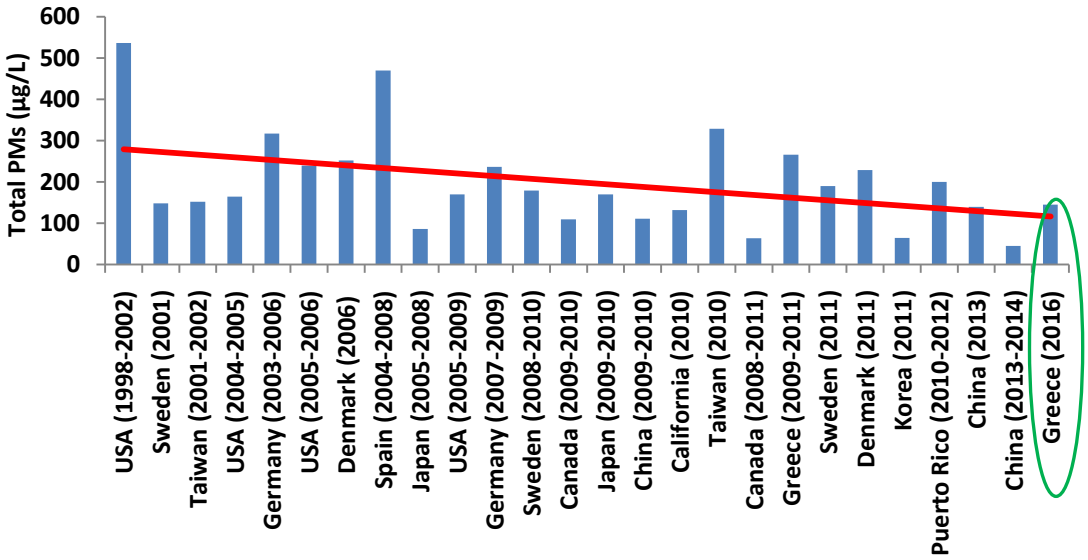
μεταβολίτες του DEHP συσχετίστηκαν στατιστικά σημαντικά (p<0,001) με τους μεταβολίτες του DiNP (Frederiksen et al., 2010).

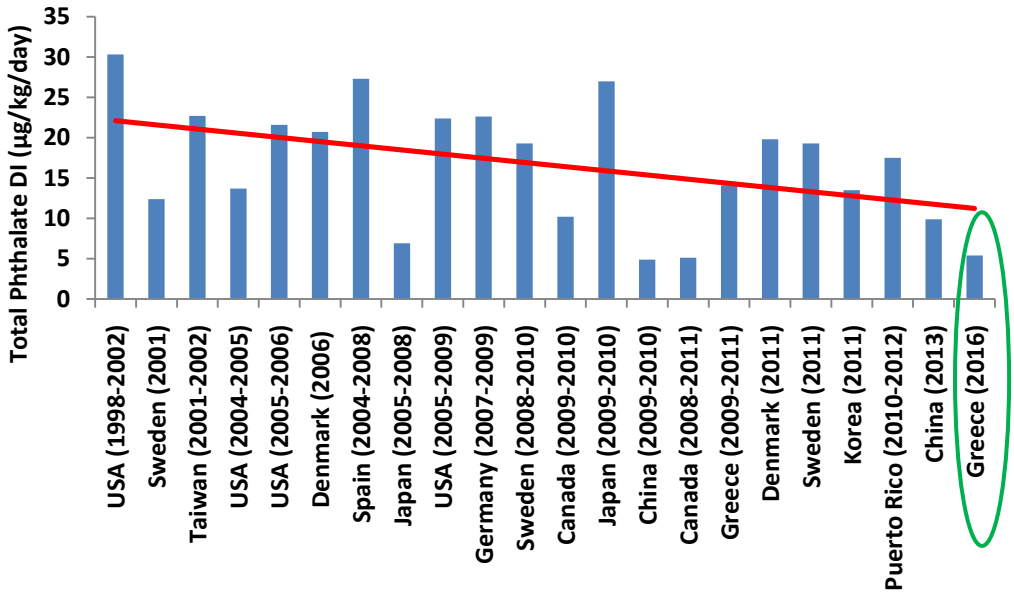
Ενδιαφέρον παρουσιάζει η μεγαλύτερη έκθεση των εγκύων σε DiBP (1,6 μg/kg/day) σε σχέση με τον DnBP (0,9 μg/kg/day). Τα τοξικολογικά δεδομένα σχετικά με τις δυσμενείς επιδράσεις του DnBP στην ανθρώπινη υγεία συντέλεσαν στην εφαρμογή αυστηρής νομοθεσίας από την Ευρωπαϊκή Ένωση και την απαγόρευση της χρήσης του σε συγκεκριμένα προϊόντα (199/815/EG, 2004/718/EG). Η σταδιακή αντικατάσταση του DnBP από τον «ασφαλέστερο» DiBP συνείσφερε στην μικρή αύξηση της ανθρώπινης έκθεσης στον DiBP και αντίστοιχη μείωση για τον DnBP (Εικόνα 33) όπως προκύπτει από δεδομένα βιοπαρακολούθησης στα ούρα για τα χρόνια από το 1988 έως το 2003 (Wittassek et al., 2007). Για τον DiBP δεν υπάρχουν προς το παρόν νομοθετικά όρια και οι κοινές ιδιότητες με τον DnBP τον κατέστησαν υποκατάστατό του, χωρίς ωστόσο να γνωρίζουμε πλήρως την τοξικότητά του για τον άνθρωπο. Η μελέτη ανασκόπισης των Yost et al., (2019) η οποία διερεύνησε την τοξικότητα του DiBP συλλέγοντας αποτελέσματα από 19 έρευνες σε πειραματόζωα, αναφέρει ότι η έκθεση αρουραίων και ποντικιών στον DiBP κατά την εγκυμοσύνη, μείωσε τα επίπεδα της τεστοστερόνης, επηρέασε αρνητικά το σπέρμα και την ιστολογία των όρχεων, επέφερε προβλήματα στο αναπαραγωγικό σύστημα των θηλυκών και αρσενικών, τοξικότητα στην ανάπτυξη και ενδείξεις για τοξικότητα σε νεφρούς και ήπαρ, όμοιες δηλαδή επιδράσεις με όσες έχουν ήδη αναφερθεί για τις υπόλοιπες φθαλικές ενώσεις.

Τα αποτελέσματα ημερήσιας πρόσληψης και για τις δύο ουσίες βρίσκονται σε συμφωνία με την τάση που παρατηρείται τα τελευταία τριάντα χρόνια και απεικονίζεται στην Εικόνα 33 Α και Β. Οι αντίστοιχες τιμές στην παρούσα έρευνα για τον DnBP είναι -0,045 και για τον DiBP 0,20. Σε σχέση με την πιο πρόσφατη μελέτη για τα έτη 1998 έως 2013 (Katsikantami et al., 2016), τα αποτελέσματα της παρούσα έρευνας ακολουθούν την πτωτική τάση που παρατηρήθηκε τόσο για τον DEHP μεμονωμένα όσο και για το σύνολο των φθαλικών (Εικόνα 34).



Εικόνα 33. Λογαριθμημένη ημερήσια πρόσληψη (μg/kg/day) των DnBP (A. r = -0,48, p<0,001) και DiBP (B. r = 0,13, p=0,001) σε 632 παιδιά (συγκεντρώσεις στα ούρα) στην Γερμανία (1988-2003) (Wittassek et al., 2007).





Εικόνα 34. Συγκέντρωση φθαλικών στα ούρα (πάνω) και ημερήσια πρόσληψη (κάτω) από μελέτες βιοπαρακολούθησης στα ούρα από ενήλικες από το 1998 μέχρι το 2013 (Katsikantami et al., 2016) και την παρούσα μελέτη.

4.3 Σύγκριση αποτελεσμάτων για τις δισφαινόλες με τη βιβλιογραφία

4.3.1 Τρίχα

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα της βιοπαρακολούθησης των δισφαινολών BPA και BPS στα δείγματα τρίχας, η BPA ανιχνεύτηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό δειγμάτων και διάμεση συγκέντρωση (37,0%, 69,9 pg/mg) σε σχέση με την BPS (34,0%, 3,5 pg/mg). Για την BPS στην τρίχα δεν υπάρχουν αντίστοιχες έρευνες στην βιβλιογραφία ενώ για την BPA οι αναφορές είναι περισσότερες (Πίνακας 22), χωρίς ωστόσο να συσχετίζονται τα δεδομένα βιοπαρακολούθησης με πληροφορίες από ερωτηματολόγια. Οι διάμεσες συγκεντρώσεις της BPA σε προηγούμενες μελέτες σε ενήλικες είναι 45,6 pg/mg (Tzatzarakis et al., 2015), 45,0 pg/mg (Martin et al., 2016) και 13,8 pg/mg (Karzi et al., 2018) (Εικόνα 35).

Πίνακας 22. Συγκεντρώσεις της BPA (pg/mg) σε δείγματα τρίχας σύμφωνα με μελέτες της βιβλιογραφίας.

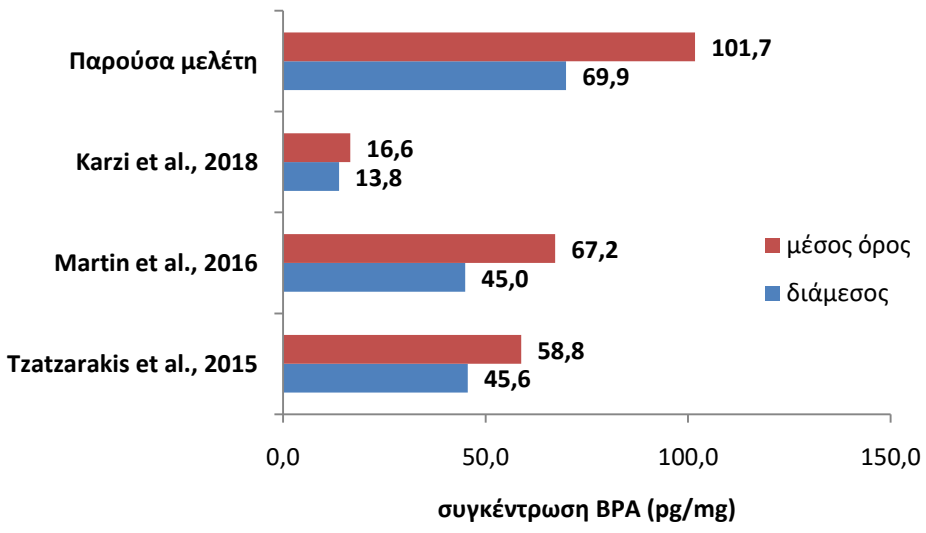
Αναφορά	Πληθυσμός	Χώρα	Μέσος όρος ± SD	Διάμεσος	Εύρος	Συχνότητα
Παρούσα μελέτη	100 Γυναίκες	Ελλάδα	101,7 ± 131,2	69,9	9,6-650,3	37,0%
Martín et al., 2019	42 Εθελοντές	Ισπανία	333,8	195,1	24,4-1427,5	83,0%
Karzi et al., 2018	50 Ενήλικες	Ελλάδα	16,6 ± 12,1	13,8	4,6-53,8	42,0%
Lee et al., 2017	10 Γυναίκες	Δημοκρατία της Κορέας	19,5 ± 2,0	-	17,0-22,9	100,0%
Martin et al., 2016	6 Ενήλικες	Ισπανία	67,2 ± 52,8	45,0	24,0-158,0	83,3%
Tzatzarakis et al., 2015	61 Ενήλικες	Ελλάδα	58,8 ± 18,4	45,6	13,1-192,8	29,5%

Οι μελέτες που ερευνούν την έκθεση στην BPS επικεντρώνονται στην ανάλυση ούρων και στις περισσότερες περιπτώσεις η BPS ανιχνεύεται σε χαμηλότερη συχνότητα σε σχέση με την BPA. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Ινδία (Xue et al., 2015), προσδιορίστηκε η BPA και έξι άλλες δισφαινόλες συμπεριλαμβανομένου και της BPS, σε ούρα από 76 παιδιά. Η BPA ήταν η πιο συχνά ανιχνευόμενη δισφαινόλη στα δείγματα (99,0%, 0,07-41,4 ng/ml) ακολουθούμενη από την BPS (70,0%) η οποία όμως προσδιορίστηκε σε πολύ χαμηλότερο εύρος συγκεντρώσεων (0,01-12,2 ng/ml). Μια άλλη έρευνα (Rocha et al., 2016), παρακολούθησε την BPA και τα υποκατάστατά της σε 50 δείγματα ούρων γενικού πληθυσμού στην Βραζιλία. Η BPA ανιχνεύτηκε στο 92,0% των δειγμάτων (<LOQ-10,4 ng/ml) ενώ η BPS μόλις στο 10,0%. Υψηλά ποσοστά θετικών δειγμάτων για την BPS έχουν βρεθεί κυρίως σε Ασιατικές χώρες (Liao and Kannan, 2012). Πιο συγκεκριμένα, 82,0% στην Κίνα, 76,0% στην Ινδία, 100% στην Ιαπωνία και το Βιετνάμ, 42,0% στην Κορέα, 70,0% στο Κουβέιτ, 76,0% στη Μαλαισία και 97,0% στις ΗΠΑ.

Οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις που βρέθηκαν στην παρούσα μελέτη, αφορούν στα επίπεδα της BPS με αυξημένο σωματικό βάρος (p=0,028) και ΔΜΣ (p=0,036) των εγκύων και η BPA η οποία ήταν υψηλότερη στα δείγματα των γυναικών με αρσενικά βρέφη (p=0,051). Σε μια μελέτη σε γυναικείο πληθυσμό της Κορέας, βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της BPA στα ούρα και αυξημένο ΔΜΣ (r=0,174, p=0,002) (Jo et al., 2016).

Παρόλο που η έκθεση στην BPA γίνεται κυρίως μέσω της διατροφής, οι διατροφικές συνήθειες δεν βρέθηκε να συνδέονται με τις δισφαινόλες στην τρίχα, το οποίο είναι σύμφωνο με μελέτη στην τρίχα από παιδιά και ενήλικες (Karzi et al., 2018) και μια άλλη μελέτη στα ούρα (Yang et al., 2003). Όλες οι συμμετέχουσες ανέφεραν υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών και λιγότερο τυποποιημένες τροφές, σνακς και αναψυκτικά και έχει βρεθεί ότι η πρόσληψη BPA μέσω των φρούτων και λαχανικών δεν είναι σημαντική (Martínez et al., 2017) σε αντίθεση με τα αναψυκτικά τα οποία αυξάνουν την έκθεση (Jo et al., 2016). Όπως και στην περίπτωση των φθαλικών, δεν παρατηρήθηκε αυξημένη έκθεση λόγω του επαγγέλματος, το οποίο είναι σε συμφωνία με παρόμοια μελέτη στα ούρα (Myridakis et al., 2015).

Στην παρούσα μελέτη δεν προέκυψαν συσχετίσεις με παραμέτρους ανάπτυξης των νεογνών, ωστόοσο στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η προγεννητική έκθεση στην BPA είτε μέσω της βιοπαρακολούθησης στο αμνιακό υγρό (Pinney et al., 2017) είτε μέσω των ούρων και τον ορό του αίματος της μητέρας (Chou et al., 2011; Miao et al., 2011; Philippat et al., 2012), συσχετίζεται με χαμηλό βάρος κατά τη γέννηση. Και εδώ δεν απουσιάζουν μελέτες οι οποίες δίνουν αντίθετα αποτελέσματα, ότι δηλαδή η ενδομήτρια έκθεση στην ουσία σχετίζεται με αυξημένο βάρος γέννησης τόσο για τους ανθρώπους (Lee et al., 2014) όσο και για πειραματόζωα (Howdeshell et al., 1999; Rubin et al., 2001).



Εικόνα 35. Γραφική αναπαράσταση των συγκεντρώσεων της BPA στην τρίχα στην παρούσα έρευνα σε σύγκριση με αντίστοιχες μελέτες στην βιβλιογραφία.

4.3.2 Αμνιακό υγρό

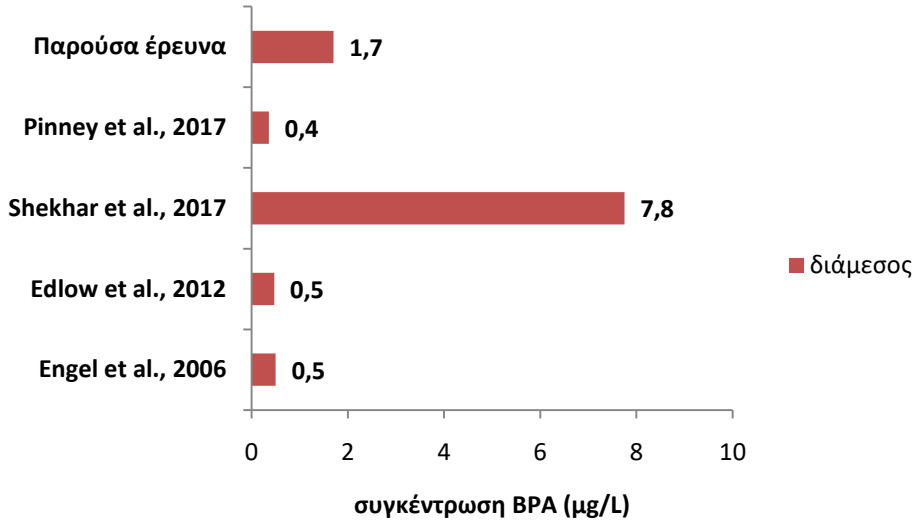
Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχει άλλη έρευνα για τις δισφαινόλες A, F και S στο αμνιακό υγρό και μάλιστα να εξετάζει συσχετίσεις με πληροφορίες από ερωτηματολόγια. Από την παρούσα μελέτη προέκυψε ότι η συχνή χρήση σπρέι μαλλιών πριν την εγκυμοσύνη συσχετίζεται ασθενώς με αυξημένη

συγκέντρωση της BPA στο αμνιακό υγρό (p=0,068), ενώ σημαντική είναι η συσχέτιση μεταξύ της BPA και της χρήσης μακιγιάζ επίσης πριν την εγκυμοσύνη (p=0,032).

Οι συγκεντρώσεις που προσδιορίστηκαν για την BPA βρίσκονται ανάμεσα στις τιμές που αναφέρονται σε παρόμοιες έρευνες (Πίνακας 23), το εύρος είναι μικρότερο από αυτό που βρέθηκε στις έρευνες των Pinney et al., (2017) και Shekhar et al., (2017), αλλά μεγαλύτερο από τη μελέτη των Edlow et al., (2012) και Engel et al., (2006) (Εικόνα 36). Στη μελέτη των Pinney et al., (2017), οι συγκεντρώσεις κυμαίνονται από 0,40 έως 2,0 μg/L και η έκθεση συσχετίστηκε σημαντικά με χαμηλό σωματικό βάρος των νεογνών κατά την γέννηση (p=0,049). Οι Philippat et al., (2013) αναφέρουν σχεδόν μηδενικές συγκεντρώσεις.

Πίνακας 23. Συγκεντρώσεις της BPA (μg/L) σε δείγματα αμνιακού υγρού σύμφωνα με μελέτες της βιβλιογραφίας.

Αναφορά	Αριθμός δειγμάτων	Χώρα	Μέσος όρος ± SD	Διάμεσος	Εύρος	Συχνότητα
Παρούσα μελέτη	100	Ελλάδα	2,1 ± 1,2	1,7	1,2-5,8	17%
		*BPF	1,9 ± 1,6	1,3	0,7-3,7	3%
Pinney et al., 2017	130 (2004-2006)	USA	-	0,36	0,25–23,74	40%
Shekhar et al., 2017	53 (2015)	Ινδία	5,87	7,75	0,78-25,60	70%
Philippat et al., 2013	69 (2005-2008)	USA	-	-	<LOD	3%
Edlow et al., 2012	20 (2010)	USA	-	0,47	ND-0,75	80%
Engel et al., 2006	21 (2004)	USA		LOD (0,5)	<LOD (0,5)-1,96	10%



Εικόνα 36. Γραφική αναπαράσταση των συγκεντρώσεων της BPA στο αμνιακό υγρό στην παρούσα έρευνα σε σύγκριση με αντίστοιχες μελέτες στην βιβλιογραφία.

Οι συγκεντρώσεις τόσο των φθαλικών όσο και των δισφαινολών καθώς και τα ποσοστά θετικών δειγμάτων είναι χαμηλά, το οποίο είναι αναμενόμενο καθώς ο πλακούντας αποτελεί φραγμό για τις ουσίες. Το γεγονός ότι η ουσία δεν μεταφέρεται εύκολα στον αμνιακό σάκο έχει αναφερθεί και στο παρελθόν (Yamada et al., 2002), ωστόσο από τότε μέχρι σήμερα έχουν προσδιοριστεί πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις, το οποίο υποδεικνύει ότι έχει αυξηθεί η έκθεση των γυναικών στην ουσία.

Παρόλο που στα ούρα η κύρια μορφή είναι η συζευγμένη, στο αμνιακό υγρό η ελεύθερη μορφή μπορεί να είναι από 83% έως και 91% της ολικής (Edlow et al., 2012). Η γλυκουρονιδάση που υπάρχει στον πλακούντα είναι πιθανό ότι ελευθερώνει τη συζευγμένη BPA με αποτέλεσμα το έμβρυο να εκτίθεται στην τοξική μορφή της ουσίας. Από τη σύγκριση δειγμάτων δευτέρου και τρίτου τριμήνου από διαφορετικές έρευνες, φαίνεται ότι η ελεύθερη BPA μπορεί να είναι έως και 8 φορές υψηλότερη κατά το δεύτερο τρίμηνο (Edlow et al., 2012; Ikezuki et al., 2002). Αν και οι δύο αυτές μελέτες αναφέρονται σε διαφορετικό πληθυσμό και η σύγκριση δεν είναι απόλυτα σωστή, η μείωση

της ελεύθερης ουσίας κατά το τρίτο τρίμηνο θα μπορούσε να αποδοθεί στην μετατροπή της σε συζευγμένη μορφή καθώς το ήπαρ του εμβρύου κατά το τρίτο τρίμηνο έχει την δυνατότητα να μεταβολίζει (Edlow et al., 2012). Στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκε η ολική BPA (ελεύθερη και συζευγμένη).

4.4 Βιβλιογραφία

Ait Bamai, Y., Araki, A., Kawai, T., Tsuboi, T., Yoshioka, E., Kanazawa, A., Cong, S., Kishi, R., (2015). Comparisons of urinary phthalate metabolites and daily phthalate intakes among Japanese families. Int. J. Hyg. Environ. Health 218 (5), 461–470. http://dx. doi.org/10.1016/j.ijheh.2015.03.013

Calafat, A. M., Brock, J. W., Silva, M. J., Gray, L. E., Reidy, J. a., Barr, D. B., & Needham, L. L. (2006). Urinary and amniotic fluid levels of phthalate monoesters in rats after the oral administration of di(2-ethylhexyl) phthalate and di-n-butyl phthalate. Toxicol., 217(1), 22–30. https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.08.013

Cantonwine, D. E., Cordero, J. F., Rivera-González, L. O., Anzalota Del Toro, L. V., Ferguson, K. K., Mukherjee, B., … Meeker, J. D. (2014). Urinary phthalate metabolite concentrations among pregnant women in Northern Puerto Rico: Distribution, temporal variability, and predictors. Environ. Int., 62, 1–11. https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.09.014

Chang, Y.-J., Lin, K.-L., & Chang, Y.-Z. (2013). Determination of Di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human hair using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Clin. Chim. Acta, 420, 155–159. http://doi.org/10.1016/j.cca.2012.10.009

Chou WC, Chen JL, Lin CF, Chen YC, Shih FC, Chuang CY. (2011). Biomonitoring of bisphenol A concentrations in maternal and umbilical cord blood in regard to birth outcomes and adipokine expression: a birth cohort study in Taiwan. Environ Health 10:94.

Duty SM, Ackerman RM, Calafat AM., Hauser R. (2005). Personal care product use predicts urinary concentrations of some phthalate monoesters. Environ Health Perspect 113: 1530–5.

Edlow, A. G., Chen, M., Smith, N. A., Lu, C., & McElrath, T. F. (2012). Fetal bisphenol A exposure: Concentration of conjugated and unconjugated

bisphenol A in amniotic fluid in the second and third trimesters. Reprod Toxicol, 34(1), 1–7. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2012.03.009

Engel, S. M., Levy, B., Liu, Z., Kaplan, D., & Wolff, M. S. (2006). Xenobiotic phenols in early pregnancy amniotic fluid. Reprod Toxicol, 21(1), 110–112. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2005.07.007

Fierens T, Servaes K, Van Holderbeke M, Geerts L, De Henauw S, Sioen I, Vanermen G. (2012). Analysis of phthalates in food products and packaging materials sold on the Belgian market. Food Chem Toxicol 50 2575–2583.

Frederiksen, H., Jørgensen, N., & Andersson, A.-M. (2010). Correlations between phthalate metabolites in urine, serum, and seminal plasma from young Danish men determined by isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry. J. Anal Toxicol, 34(7), 400–410. https://doi.org/10.1038/jes.2010.6

Guo Y and Kannan K. (2012). Challenges encountered in the analysis of phthalate esters in foodstuffs and other biological matri- ces. Anal Bioanal Chem 404(9):2539–2554.

Hannon PR and Flaws JA. (2015). The effects of phthalates on the ovary. Front Endocrinol (Lausanne). 6:8.

Hauser R. and Calafat A M. (2005). Phthalates and human health. Occup Environ Med 62:806–818.

He, M. J., Lu, J. F., Ma, J. Y., Wang, H., & Du, X. F. (2018). Organophosphate esters and phthalate esters in human hair from rural and urban areas, Chongqing, China: Concentrations, composition profiles and sources in comparison to street dust. Environ Pollution, 237, 143–153. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.040

Howdeshell K.L., Hotchkiss A.K., Thayer K.A., Vandenbergh J.G., vom Saal F.S. (1999). Exposure to bisphenol A advances puberty, Nature 401;763–764.

Hsieh, C. J., Chang, Y. H., Hu, A., Chen, M. L., Sun, C. W., Situmorang, R. F., … Wang, S. L. (2019). Personal care products use and phthalate exposure levels among pregnant women. Sci Tot Environ, 648, 135–143. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.149

Hsu, J.-Y., Ho, H.-H., & Liao, P.-C. (2015). The potential use of diisononyl phthalate metabolites hair as biomarkers to assess long-term exposure demonstrated by a rat model. Chemosphere, 118, 219–228. http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.09.025

Huang, P. C., Kuo, P. L., Chou, Y. Y., Lin, S. J., & Lee, C. C. (2009). Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns. Environ Int, 35(1), 14–20. https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.05.012

Huang, P. C., Kuo, P. L., Guo, Y. L., Liao, P. C., & Lee, C. C. (2007). Associations between urinary phthalate monoesters and thyroid hormones in pregnant women. Hum Reprod, 22(10), 2715–2722. https://doi.org/10.1093/humrep/dem205

Huang, Y., Li, J., Garcia, J. M., Lin, H., Wang, Y., Yan, P., … Shu, W. (2014). Phthalate levels in cord blood are associated with preterm delivery and fetal growth parameters in Chinese women. PloS One, 9(2), e87430. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087430

Hutter, H.-P., Kundi, M., Hohenblum, P., Scharf, S., Shelton, J. F., Piegler, K., & Wallner, P. (2016). Life without plastic: A family experiment and biomonitoring study. Environ Res, 1–6. https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.05.028

Ikezuki Y, Tsutsumi O, Takai Y, Kamei Y, Taketani Y. (2002). Determination of bisphenol A concentrations in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure. Hum Reprod 17:2839–41.

Jensen, M. S., Anand-Ivell, R., Nørgaard-Pedersen, B., Jönsson, B. A. G., Bonde, J. P., Hougaard, D. M., … Toft, G. (2015). Amniotic fluid phthalate levels and male fetal gonad function. Epidemiol (Cambridge, Mass.), 26(1), 91–9. http://doi.org/10.1097/EDE.0000000000000198

Jensen, M. S., Norgaard-Pedersen, B., Toft, G., Hougaard, D. M., Bonde, J. P., Cohen, A., … Jönsson, B. a G. (2012). Phthalates and perfluorooctanesulfonic acid in human amniotic fluid: Temporal trends and timing of amniocentesis in pregnancy. Environ Health Perspect, 120(6), 897–903. https://doi.org/10.1289/ehp.1104522

Jo, A., Kim, H., Chung, H., & Chang, N. (2016). Associations between Dietary Intake and Urinary Bisphenol A and Phthalates Levels in Korean Women of Reproductive Age. Int J Environ Res Public Health, 13(7), 680. https://doi.org/10.3390/ijerph13070680

Karzi, V., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Alegakis, T., Katsikantami, I., Sifakis, S., Rizos, A., Tsatsakis, A. M. (2018). Biomonitoring of bisphenol A, triclosan and perfluorooctanoic acid in hair samples of children and adults. J Appl Toxicol, 38(8), 1144–1152. https://doi.org/10.1002/jat.3627

Katsikantami, I., Colosio, C., Alegakis, A., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Rizos, A. K., Sarigiannis, D. A., Tsatsakis, A. M. (2019). Estimation of daily intake and

risk assessment of organophosphorus pesticides based on biomonitoring data – The internal exposure approach. Food Chem Toxicol, 123, 57–71. https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.10.047

Katsikantami, I., Sifakis, S., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Kalantzi, O. I., Tsatsakis, A. M., & Rizos, A. K. (2016). A global assessment of phthalates burden and related links to health effects. Environ Int, 97, 212–236. https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.013

Kim, S., Lee, J., Park, J., Kim, H.-J., Cho, G., Kim, G.-H., … Choi, K. (2015). Concentrations of phthalate metabolites in breast milk in Korea: Estimating exposure to phthalates and potential risks among breast-fed infants. Sci Tot Environ, 508, 13–19. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.019

Koch, H. M., and Angerer, J. (2007). Di-iso-nonylphthalate (DINP) metabolites in human urine after a single oral dose of deuterium-labelled DINP. Int J Hyg Environ Health, 210(1), 9–19. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2006.11.008

Koch, H. M., and Calafat, A. M. (2009). Human body burdens of chemicals used in plastic manufacture. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 364(1526), 2063–2078. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0208

Koch, H. M., Becker, K., Wittassek, M., Seiwert, M., Angerer, J., & Kolossa-Gehring, M. (2007). Di-n-butylphthalate and butylbenzylphthalate - urinary metabolite levels and estimated daily intakes: pilot study for the German Environmental Survey on children. J Exp Sci Environ Epidemiol, 17(4), 378–387. https://doi.org/10.1038/sj.jes.7500526

Koch, H. M., Bolt, H. M., & Angerer, J. (2004). Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human urine and serum after a single oral dose of deuterium-labelled DEHP. Arch Toxicol, 78(3), 123–30. https://doi.org/10.1007/s00204-003-0522-3

Koch, H. M., Bolt, H. M., Preuss, R., & Angerer, J. (2005). New metabolites of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in human urine and serum after single oral doses of deuterium-labelled DEHP. Arch Toxicol, 79(7), 367–76. https://doi.org/10.1007/s00204-004-0642-4

Koch, H. M., Christensen, K. L. Y., Harth, V., Lorber, M., & Brüning, T. (2012). Di-n-butyl phthalate (DnBP) and diisobutyl phthalate (DiBP) metabolism in a human volunteer after single oral doses. Arch Toxicol, 86, 1829–1839. https://doi.org/10.1007/s00204-012-0908-1

Koch, H. M., Preuss, R., Angerer, J., Foster, P., Sharpe, R., & Toppari, J. (2006). Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): Human metabolism and internal exposure - An update and latest results. Int J Androl, 29(1), 155–165. https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2005.00607.x

Koniecki, D., Wang, R., Moody, R. P., & Zhu, J. (2011). Phthalates in cosmetic and personal care products: Concentrations and possible dermal exposure. Environ Res, 111(3), 329–336. https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.01.013

Larsson, K., LjungBjörklund, K., Palm, B., Wennberg, M., Kaj, L., Lindh, C.H., Jönsson, Bo, A.G., Berglund, M. (2014). Exposure determinants of phthalates, parabens, bisphenol a and triclosan in Swedish mothers and their children. Environ. Int. 73, 323–333. http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2014.08.014.

Lee SH, Kang SM, Choi MH, et al. (2014). Changes in steroid metabolism among girls with precocious puberty may not be associated with urinary levels of bisphenol A. Reprod Toxicol. 44:1–6.

Liao C and Kannan K. (2012). Determination of free and conjugated forms of bisphenol A in human urine and serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Environ Sci Technol. 46:5003–5009.

Lyche, J. L., Gutleb, A. C., Bergman, A., Eriksen, G. S., Murk, A. J., Ropstad, E., … Skaare, J. U. (2009). Reproductive and developmental toxicity of phthalates. J Toxicol Environ Health. Part B, Critical Reviews, 12(4), 225–249. https://doi.org/10.1080/10937400903094091

Machtinger, R., Berman, T., Adir, M., Mansur, A., Baccarelli, A. A., Racowsky, C., … Nahum, R. (2018). Urinary concentrations of phthalate metabolites, bisphenols and personal care product chemical biomarkers in pregnant women in Israel. Environ Int, 116(May), 319–325. https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.04.022

Main, K.M., Mortensen, G.K., Kaleva, M.M., Boisen, K.a., Damgaard, I.N., Chellakooty, M., Schmidt, I.M., Suomi, A.M., Virtanen, H.E., Petersen, J.H., Andersson, A.M., Toppari, J., Skakkebæk, N.E. (2006). Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months of age. Environ. Health Perspect. 114 (2), 270–276. http://dx.doi.org/10.1289/ehp.8075.

Martín, J., Santos, J. L., Aparicio, I., & Alonso, E. (2019). Exposure assessment to parabens, bisphenol A and perfluoroalkyl compounds in children, women and men by hair analysis. Sci Tot Environ, 695, 133864. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133864

Martín, J., Santos, J. L., Aparicio, I., & Alonso, E. (2016). Analytical method for biomonitoring of endocrine-disrupting compounds (bisphenol A, parabens, perfluoroalkyl compounds and a brominated flame retardant) in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Anal Chim Act, 945,95–101. https://doi.org/10.1016/j. aca.2016.10.004

Martínez, M. A., Rovira, J., Sharma, R. P., Nadal, M., Schuhmacher, M., & Kumar, V. (2017). Prenatal exposure estimation of BPA and DEHP using integrated external and internal dosimetry: A case study. Environ Res, 158(January), 566–575. https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.07.016

Martínez, M. A., Rovira, J., Prasad Sharma, R., Nadal, M., Schuhmacher, M., & Kumar, V. (2018). Comparing dietary and non-dietary source contribution of BPA and DEHP to prenatal exposure: A Catalonia (Spain) case study. Environ Res, 166(May), 25–34. https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.05.008

Miao M, Yuan W, He Y, Zhou Z, Wang J, Gao E, et al. (2011). In utero exposure to bisphenol-A and anogenital distance of male offspring. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol 91:867–72.

Myridakis, A., Chalkiadaki, G., Fotou, M., Kogevinas, M., Chatzi, L., & Stephanou, E. G. (2016). Exposure of Preschool-Age Greek Children (RHEA Cohort) to Bisphenol A, Parabens, Phthalates, and Organophosphates. Environ Sci Technol, 50(2), 932–941. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03736

Myridakis, A., Fthenou, E., Balaska, E., Vakinti, M., Kogevinas, M., Stephanou, E.G. (2015). Phthalate esters, parabens and bisphenol-a exposure among mothers and their children in Greece (Rhea cohort). Environ. Int. 83, 1–10. http://dx.doi.org/10.1016/j. envint.2015.05.014

Philippat, C., Mortamais, M., Chevrier, C., Petit, C., Calafat, A. M., Ye, X., … Slama, R. (2012). Exposure to phthalates and phenols during pregnancy and offspring size at birth. Environ Health Perspect, 120(3), 464–470. https://doi.org/10.1289/ehp.1103634

Philippat, C., Wolff, M. S., Calafat, A. M., Ye, X., Bausell, R., Meadows, M., … Engel, S. M. (2013). Prenatal exposure to environmental phenols: Concentrations in amniotic fluid and variability in urinary concentrations during pregnancy. Environ Health Perspect, 121(10), 1225–1231. https://doi.org/10.1289/ehp.1206335

Pinney, S. E., Mesaros, C. A., Snyder, N. W., Busch, C. M., Xiao, R., Aijaz, S., … Manson, J. M. (2017). Second trimester amniotic fluid bisphenol A

concentration is associated with decreased birth weight in term infants. Reprod Toxicol, 67, 1–9. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.11.007

Rocha, B. A., Da Costa, B. R. B., De Albuquerque, N. C. P., De Oliveira, A. R. M., Souza, J. M. O., Al-Tameemi, M., … Barbosa, F. (2016). A fast method for bisphenol A and six analogues (S, F, Z, P, AF, AP) determination in urine samples based on dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Talanta, 154, 511–519. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.098

Rubin BS, Murray MK, Damassa DA, King JC, Soto AM. (2001). Perinatal exposure to low doses of bisphenol A affects body weight, patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels. Environ Health Perspect 109:675–80.

Schlumpf, M., Kypke, K., Wittassek, M., Angerer, J., Mascher, H., Mascher, D., Vökt, C., Birchler, M., Lichtensteiger, W. (2010). Exposure patterns of UV filters, fragrances, parabens, phthalates, organochlor pesticides, PBDEs, and PCBs in human milk: corre- lation of UV filters with use of cosmetics. Chemosphere 81 (10), 1171–1183. http:// dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.079

Schmid, P. and Schlatter, Ch. (1985). Excretion and metabolism of di(2-ethylhexyl)-phthalate in man, Xenobiotica, 15:3, 251-256, DOI: 10.3109/00498258509045356

Shekhar, S., Sood, S., Showkat, S., Lite, C., Chandrasekhar, A., Vairamani, M., … Santosh, W. (2017). Detection of phenolic endocrine disrupting chemicals (EDCs) from maternal blood plasma and amniotic fluid in Indian population. General and Comparative Endocrinology, 241, 100–107. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.05.025

Silva, M.J., Reidy, J.A., Herbert, A.R., Preau, J.L., Needham, L.L., Calafat, A.M. (2004). Detection of phthalate metabolites in human amniotic fluid. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 72 (6), 1226–1231. http://dx.doi.org/10.1007/s00128-004-0374-4.

Suzuki, Y., Niwa, M., Yoshinaga, J., Mizumoto, Y., Serizawa, S., & Shiraishi, H. (2010). Prenatal exposure to phthalate esters and PAHs and birth outcomes. Environ Int, 36(7), 699–704. https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.05.003

Tienpont, B., David, F., Dewulf, E., & Sandra, P. (2005). Pitfalls and Solutions for the Trace Determination of Phthalates in Water Samples. Chromatographia, 61(7–8), 365–370. https://doi.org/10.1365/s10337-005-0516-9

Tranfo, G., Papaleo, B., Caporossi, L., Capanna, S., De Rosa, M., Pigini, D., … Paci, E. (2013). Urinary metabolite concentrations of phthalate metabolites in Central

Italy healthy volunteers determined by a validated HPLC/MS/MS analytical method. Int J Hyg Environ Health, 216(4), 481–485. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2012.11.003

Tsatsakis, A. M., Tzatzarakis, M. N., & Tutudaki, M. (2008). Pesticide levels in head hair samples of Cretan population as an indicator of present and past exposure. Forensic Science International, 176(1), 67–71. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2007.07.017

Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Kavvalakis, M. P., Barmpas, M., Kokkinakis, E. N., Xenos, K., & Tsatsakis, A. M. (2015). Biomonitoring of bisphenol A in hair of Greek population. Chemosphere, 118(1), 336–341. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.044

Valvi, D., Monfort, N., Ventura, R., Casas, M., Casas, L., Sunyer, J., & Vrijheid, M. (2015). Variability and predictors of urinary phthalate metabolites in Spanish pregnant women. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 218(2), 220–231. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2014.11.003

Wallner, P., Kundi, M., Hohenblum, P., Scharf, S., & Hutter, H. P. (2016). Phthalate metabolites, consumer habits and health effects. International Journal of Environ Res Public Health, 13(7). https://doi.org/10.3390/ijerph13070717

Wittassek, M., Wiesmüller, G. A., Koch, H. M., Eckard, R., Dobler, L., Müller, J., … Schlüter, C. (2007). Internal phthalate exposure over the last two decades – A retrospective human biomonitoring study. Int J Hyg Environ Health, 210(3–4), 319–333. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2007.01.037

Wu CF, Chang-Chien GP, Su SW, Chen BH, Wu MT. (2014). Findings of 2731 suspected phthalate-tainted foodstuffs during the 2011 phthalates incident in Taiwan. J Formos Med Assoc. 113:600–605.

Wu MT, Wu CF, Wu JR, et al. (2012). The public health threat of phthalate-tainted foodstuffs in Taiwan: the policies the government implemented and the lessons we learned. Environ Int 44:75–79.

Xue, J., Wu, Q., Sakthivel, S., Pavithran, P. V., Vasukutty, J. R., & Kannan, K. (2015). Urinary levels of endocrine-disrupting chemicals, including bisphenols, bisphenol A diglycidyl ethers, benzophenones, parabens, and triclosan in obese and non-obese Indian children. Environ Res, 137, 120–128. https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.12.007

Yamada, H., Furuta, I., Kato, E. H., Kataoka, S., Usuki, Y., Kobashi, G., … Fujimoto, S. (2002). Maternal serum and amniotic fluid bisphenol A concentrations in the

early second trimester. Reprod Toxicol, 16(6), 735–739. https://doi.org/10.1016/S0890-6238(02)00051-5

Yang, M., Kim, S. Y., Lee, S. M., Chang, S. S., Kawamoto, T., Jang, J. Y., & Ahn, Y. O. (2003). Biological monitoring of bisphenol A in a Korean population. Arch Environ Contam Toxicol, 44(4), 546–551. https://doi.org/10.1007/s00244-002-2124-0

Yost, E. E., Euling, S. Y., Weaver, J. A., Beverly, B. E. J., Keshava, N., Mudipalli, A., Arzuagab, X., Blessingerb, T., Dishawa, L., Hotchkiss, A., Makris, S. L. (2019). Hazards of diisobutyl phthalate (DIBP) exposure: A systematic review of animal toxicology studies. Environ Int, 125(December 2018), 579–594. https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.09.038

Zhang, Y., Lin, L., Cao, Y., Chen, B., Zheng, L., Ge, R.S. (2009). Phthalate levels and low birth weight: a nested case-control study of Chinese newborns. J. Pediatr. 155 (4), 500–504. http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.04.007.

Zhao, R., Wu, Y., Zhao, F., Lv, Y., Huang, D., Wei, J., … Qiu, X. (2017). The risk of missed abortion associated with the levels of tobacco, heavy metals and phthalate in hair of pregnant woman. Medicine (United States), 96(51). https://doi.org/10.1097/MD.0000000000009388

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. Συμπεράσματα

Σκοπός της έρευνας αυτής ήταν ο προσδιορισμός των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων, της δισφαινόλης Α και υποκατάστατα αυτής (BPF, BPS) σε βιολογικά δείγματα (ούρα, τρίχα, αμνιακό υγρό) από έγκυες γυναίκες.

Η καινοτομία της έρευνας έγκειται στα εξής σημεία:

1) Για πρώτη φορά προσδιορίστηκαν επτά μεταβολίτες φθαλικών εστέρων σε δείγματα τρίχας, και μάλιστα σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων από ευαίσθητη πληθυσμιακή ομάδα.
2) Τα φθαλικά αποθηκεύονται στον οργανισμό και προσδιορίζονται στην τρίχα η οποία είναι κατάλληλο υπόστρωμα για τον προσδιορισμό της βραχυπρόθεσμης και μακροχρόνιας έκθεσης.
3) Για πρώτη φορά προσδιορίστηκαν υποκατάστατα της BPA, BPF και BPS σε μη συμβατικά υποστρώματα, τρίχα και αμνιακό υγρό.
4) Τα αποτελέσματα από τη βιοπαρακολούθηση στην τρίχα συσχετίστηκαν με πληροφορίες από τα ερωτηματολόγια και τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν παρόμοια με αντίστοιχες μελέτες στα ούρα.
5) Μετά από πολλά χρόνια (πιο πρόσφατη δημοσίευση των Jensen et al., 2015 με περίοδο δειγματοληψίας 1980-1996), προσδιορίστηκαν οι μεταβολίτες των φθαλικών εστέρων στο αμνιακό υγρό.
6) Οι συσχετίσεις επιβεβαιώνουν ότι η χρήση συγκεκριμένων προϊόντων είτε πριν είτε κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης επιβαρύνει τον οργανισμό με τις ουσίες.

Τα ερωτήματα που είχαν τεθεί εξ αρχής απαντήθηκαν από τα αποτελέσματα της έρευνας τα οποία συνοψίζονται ως εξής:

1) Στην **τρίχα** προσδιορίστηκαν επτά μεταβολίτες φθαλικών εστέρων (mEHP, mEHHP, mEOHP, mnBP, miBP, mBzP και mEP) και οι δισφαινόλες Α και S.

a. Ο μεταβολίτης **mEHP** βρέθηκε σε περισσότερα δείγματα **(68%)** σε σχέση με τους **miBP (40%)** και **mnBP (28%)**.
b. Τη **μεγαλύτερη συνεισφορά** στην ολική συγκέντρωση των φθαλικών, **έχουν οι miBP και mBzP** σε ποσοστά 28% και 20%, αντίστοιχα.
c. Η **BPA** ανιχνεύτηκε στο **37%** των δειγμάτων και η **BPS** στο **34%**.

2) Στο **αμνιακό υγρό** προσδιορίστηκαν επτά μεταβολίτες φθαλικών εστέρων (mEHP, mEHHP, mEOHP, mnBP, miBP, mBzP και mEP) και οι δισφαινόλες A, F και S.
   a. Μόνο ο **mEHP** βρέθηκε στο **21%** των δειγμάτων, ενώ οι **miBP, mnBP, mBzP και mEOHP σε ποσοστό μικρότερο από 5%** και οι mEP, mEHHP δεν βρέθηκαν σε κανένα δείγμα.
   b. Σε σχέση με την ολική συγκέντρωση των φθαλικών, τη **μεγαλύτερη συνεισφορά έχουν οι mnBP και miBP** σε ποσοστά 47% και 43%, αντίστοιχα.
   c. Η **BPA** βρέθηκε σε περισσότερα δείγματα **(17%)** σε σχέση με την BPF (3%) ενώ η BPS δεν βρέθηκε σε κανένα.

3) Στα **ούρα** προσδιορίστηκαν μόνο οι επτά μεταβολίτες των φθαλικών εστέρων (mEHP, mEHHP, mEOHP, mnBP, miBP, mBzP και mEP).
   a. Οι μεταβολίτες που βρέθηκαν πιο συχνά είναι οι **miBP, mEOHP, mEHHP και mnBP** σε ποσοστά **54%, 52%, 50% και 44%**, αντίστοιχα.
   b. Σε σχέση με την ολική συγκέντρωση των φθαλικών, **τη μεγαλύτερη συνεισφορά έχουν οι mBzP και miBP** σε ποσοστά 32% και 29%, αντίστοιχα.
   c. Το **75% των δειγμάτων προσδιορίστηκε με τουλάχιστον ένα φθαλικό μεταβολίτη.**
   d. Σχετικά με τους **mnBP και miBP**, το **41%** των δειγμάτων ήταν **θετικό και για τις δύο ενώσεις** ενώ στο **43%** των δειγμάτων δεν προσδιορίστηκε **κανένας από τους δύο** μεταβολίτες.

e. Υψηλότερες συγκεντρώσεις και ποσοστό θετικών δειγμάτων προσδιορίστηκαν στα δείγματα ούρων σε σχέση με την τρίχα και το αμνιακό υγρό.

4) **Δεν προέκυψαν συσχετίσεις** ανάμεσα στις συγκεντρώσεις των ουσιών στην τρίχα και τον πρόωρο τοκετό, προβλήματα υγείας των εγκύων ή των νεογνών και επιπλοκές κατά την εγκυμοσύνη.

5) Η εργασιακή απασχόληση των γυναικών **δεν συσχετίστηκε** με αυξημένη έκθεση σε καμία από τις ουσίες.

6) Η πόση εμφιαλωμένου νερού, η παρουσία πλαστικών δεξαμενών και σωληνώσεων στο δίκτυο ύδρευσης, η κατανάλωση αναψυκτικών, συσκευασμένων τροφών και σνακς και η χρήση μεμβράνης περιτύλιξης τροφίμων **δεν συσχετίστηκαν** με την έκθεση σε καμία ουσία.

7) Από τη στατιστική ανάλυση στην **τρίχα** προέκυψαν τα εξής:
   a. Σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των μεταβολιτών των φθαλικών οι οποίες δείχνουν κοινή πηγή έκθεσης.
   b. Η **BPS** στην τρίχα συσχετίστηκε σημαντικά με **αυξημένο σωματικό βάρος** και **ΔΜΣ** των εγκύων γυναικών.
   c. Η συχνή χρήση **σπρέι μαλλιών πριν την εγκυμοσύνη** συσχετίστηκε με αυξημένη έκθεση στους **mBzP και miBP** και η χρήση προϊόντων **μακιγιάζ κατά το πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης** συσχετίστηκε έκθεση στον **miBP.**
   d. Ο **mEHP**, συσχετίστηκε σημαντικά με την συχνή **χρήση πλαστικών** για την αποθήκευση των τροφίμων και με **χαμηλότερο σωματικό βάρος των νεογνών**.

8) Από τη στατιστική ανάλυση για το **αμνιακό υγρό** προέκυψε μόνο μία **σημαντική θετική συσχέτιση** μεταξύ της έκθεσης στην BPA και τη **χρήση μακιγιάζ** πριν την εγκυμοσύνη.

9) Η στατιστική ανάλυση στα **ούρα** είχε παρόμοια αποτελέσματα με την τρίχα εκ των οποίων τα πιο σημαντικά είναι:
   a. Οι **μεταβολίτες στα ούρα συσχετίστηκαν σημαντικά μεταξύ τους** υποδεικνύοντας ότι έχουν κοινή πηγή έκθεσης και χρησιμοποιούνται ως μείγματα.

b. Προέκυψε σημαντική μεταξύ της έκθεσης στους **miBP** και **mnBP** και της συχνής **χρήσης αποσμητικού πριν** την εγκυμοσύνη και αντίστροφη συσχέτιση του mBzP με τη χρήση καλλυντικών η οποία είναι σύμφωνη με τη βιβλιογραφία.

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν είναι τα εξής:

1) Στην παρούσα μελέτη ο πληθυσμός που εξετάστηκε εκτέθηκε συνολικά σε 145,2 μg/L φθαλικών (διάμεση συγκέντρωση) το οποίο αντιστοιχεί σε βαθμό επικινδυνότητας 0,10 ή 10%.
2) Τα αποτελέσματα ακολουθούν την πτωτική τάση που παρατηρείται τόσο για τον DEHP όσο και για το σύνολο των φθαλικών από το 1988 μέχρι σήμερα.
3) Η συνολική συγκέντρωση των φθαλικών στα τρία υποστρώματα (ppb) έχουν κατανομή τρίχα > ούρα > αμνιακό υγρό.
4) Στα ούρα την υψηλότερη διάμεση συγκέντρωση έχει ο mBzP, στο αμνιακό υγρό ο mnBP και στην τρίχα ο miBP.
5) Οι συγκεντρώσεις των φθαλικών σε όλα τα δείγματα είναι παρόμοιες με τη βιβλιογραφία, ωστόσο για το αμνιακό υγρό και τα ούρα τα ποσοστά θετικότητας είναι χαμηλότερα.
6) Το αποτελέσματα για τους miBP και mnBP στα ούρα, βρίσκονται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία και υποδεικνύουν την μεγαλύτερη επιβάρυνση του πληθυσμού στον «ασφαλέστερο» DiBP.
7) Η συχνή χρήση πλαστικών συσχετίστηκε σημαντικά με τον mEHP στην τρίχα και πιο ασθενής τάση στο αμνιακό υγρό.
8) Η χρήση καλλυντικών συσχετίστηκε με υψηλά επίπεδα mBzP, miBP και mnBP στην τρίχα και τα ούρα και την BPA στο αμνιακό.
9) Η συχνή χρήση αποσμητικού πριν την εγκυμοσύνη συσχετίστηκε με υψηλή έκθεση στους miBP και mnBP (ούρα).
10) Η υψηλή έκθεση στον mEHP (τρίχα) συσχετίστηκε σημαντικά με χαμηλότερο βάρος γέννησης.

11) Οι μεταβολίτες στα ούρα και την τρίχα συσχετίστηκαν μεταξύ τους σημαντικά και δείχνουν την προσθήκη των φθαλικών σαν μίγματα και όχι σαν μεμονωμένες ουσίες.
12) Οι διάμεσες συγκεντρώσεις της BPA στην τρίχα και το αμνιακό υγρό είναι υψηλότερες από τα υποκατάστατά της.
13) Η BPS συσχετίστηκε σημαντικά με αυξημένο σωματικό βάρος και ΔΜΣ των εγκύων.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Ι. Δημοσιευμένα αποτελέσματα της διατριβής σε άρθρα και συνέδρια

Katsikantami, I., Tzatzarakis, M. N., Karzi, V., Stavroulaki, A., Xezonaki, P., Vakonaki, E., Alegakis, A. K., Sifakis, S., Rizos, A. K., Tsatsakis, A. M. (2019). Biomonitoring of bisphenols A and S and phthalate metabolites in hair from pregnant women in Crete. *Science of The Total Environment*, IN PRESS 135651. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135651

Katsikantami, I., Karzi, V., Tzatzarakis, M., Sifakis, S., Xezonaki, P., Rizos, A., Tsatsakis, A. (2019). Biomonitoring of phthalate metabolites in urine from pregnant women in Crete, Greece. Toxicology Letters 314S1 (2019) S1–S309. 55th Congresss of EUROTOX in Finland, Helsinki. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.09.002

Katsikantami, I., Karzi, V., Tzatzarakis, M. N., Sifakis, S., Xezonaki, P., Vakonaki, E. K., Rizos, A., Izotov, B., Burykina, T., Tsatsakis, A. M. (2018). Biomonitoring of phthalate metabolites and bisphenols in amniotic fluid from pregnant women in Greece. *Toxicology Letters*, *295*, S138. 54th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2018), 2-5 September, Brussels. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.06.714

Katsikantami, I., Karzi, V., Tzatzarakis, M., Stavroulaki, A., Xezonaki, P., Sifakis, S., Tsatsakis, A. M., Rizos, A. (2017). Phenolic endocrine disruptors' concentration levels in hair of Greek pregnant women. *Toxicology Letters*, *280*, S248. 53rd Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2017), 10-13 September, Bratislava, Slovak. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.07.687

Katsikantami, I., Sifakis, S., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Kalantzi, O. I., Tsatsakis, A. M., & Rizos, A. K. (2016). A global assessment of phthalates burden and related links to health effects. *Environment International*, *97*, 212–236. https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.013

ΙΙ. Έγγραφα δειγματοληψίας

Ερωτηματολόγιο Α Κωδικός:…….....

<u>Στοιχεία Μητέρας</u>

Ονοματεπώνυμο:……

Τηλέφωνο επικοινωνίας: κινητό…… σταθερό……

Όνομα υπεύθυνου γυναικολόγου:……

Τόπος κατοικίας : Αγροτική περιοχή [ ] Αστική περιοχή [ ]

Ηλικία:…… ετών

Ύψος:…….… cm

Σωματικό βάρος πριν την εγκυμοσύνη…… κιλά και κατά την εγκυμοσύνη…… κιλά

Επίπεδο Μόρφωσης: Α/Βάθμια Εκπαίδευση [ ] Β/Βάθμια Εκπαίδευση [ ] Γ/Βάθμια Εκπαίδευση [ ]

Επάγγελμα: Δημόσιος Τομέας [ ] Ιδιωτικός Τομέας [ ]

Θέση εργασίας:……

<u>Γενικές Ερωτήσεις</u>

1. Περιβάλλον

Ύπαρξη πλαστικής ταπετσαρίας τοίχου ή δαπέδου:

ναι, στο σπίτι [ ] ναι, στο χώρο εργασίας [ ] όχι [ ]

Χρήση αποσμητικού χώρου:

ναι, στο σπίτι [ ] ναι, στο χώρο εργασίας [ ] όχι [ ]

2. Χρήση νερού

Πηγή πόσιμου νερού στο σπίτι:

νερό δικτύου [ ] εμφιαλωμένο νερό [ ]

Παρουσία πλαστικών στο δίκτυο ύδρευσης του σπιτιού:

πλαστική δεξαμενή αποθήκευσης του νερού [ ]

πλαστικοί σωλήνες μεταφοράς του νερού [ ]

όχι [ ]

3. Χρήση προϊόντων καθαριότητας και προσωπικής φροντίδας

- Χρήση καθαριστικών τις τελευταίες 24 ώρες:

[ ] Υγρό σαπούνι

[ ] Υγρό απορρυπαντικό πιάτων

[ ] Μαλακτικό ρούχων

[ ] Απολυμαντικά

[ ] Υφάσματα με αντιμικροβιακή προστασία (επαγγελματικές στολές, μαξιλαροθήκες, σεντόνια)

[ ] Είδη καθαρισμού (σφουγγάρια κουζίνας, σκούπα, σφουγγαρίστρα, κτλ)

- Συχνότητα χρήσης καλλυντικών και προϊόντων περιποίησης πριν την εγκυμοσύνη:

	Καθημερινά	Εβδομαδιαία	Μηνιαία	Ποτέ
Αποσμητικό σώματος	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Αφρόλουτρο	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Σαμπουάν	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Άρωμα	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Προϊόντα μακιγιάζ	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Βερνίκι νυχιών	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Σπρέι/γέλη μαλλιών	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Κρέμα/λοσιόν σώματος	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Αντηλιακό	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Βαφές μαλλιών	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]

- Συχνότητα χρήσης καλλυντικών και προϊόντων περιποίησης μετά την εγκυμοσύνη:

	Καθημερινά	Εβδομαδιαία	Μηνιαία	Ποτέ
Αποσμητικό σώματος	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Αφρόλουτρο	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Σαμπουάν	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Άρωμα	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Προϊόντα μακιγιάζ	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Βερνίκι νυχιών	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Σπρέι/γέλη μαλλιών	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Κρέμα/λοσιόν σώματος	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Αντηλιακό	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]
Βαφές μαλλιών	[ ]	[ ]	[ ]	[ ]

4. Διατροφικές συνήθειες

- Αποθήκευση τροφίμων σε πλαστικά σκεύη:

Καθημερινά [ ] συχνά [ ] σπάνια [ ] ποτέ [ ]

- Χρήση πλαστικής μεμβράνης περιτύλιξης τροφίμων:

καθημερινά [ ] συχνά [ ] σπάνια [ ] ποτέ [ ]

- Χρήση αλουμινόχαρτου:

καθημερινά [ ] συχνά [ ] σπάνια [ ] ποτέ [ ]

- Κατανάλωση συσκευασμένων τροφίμων:

καθημερινά [ ] συχνά [ ] σπάνια [ ] ποτέ [ ]

Συσκευασία: πλαστικό [ ] αλουμίνιο [ ] χαρτί [ ] άλλο……..

- Κατανάλωση αναψυκτικών:

καθημερινά [ ] συχνά [ ] σπάνια [ ] ποτέ [ ]

Συσκευασία: πλαστικό [ ] αλουμίνιο [ ] χαρτί [ ] άλλο…….

- Κατανάλωση συσκευασμένων χυμών:

καθημερινά [ ] συχνά [ ] σπάνια [ ] ποτέ [ ]

Συσκευασία: πλαστικό [ ] αλουμίνιο [ ] χαρτί [ ] άλλο…….

- Κατανάλωση σνακ (πατατάκια, γαριδάκια, κτλ):

καθημερινά [ ] συχνά [ ] σπάνια [ ] ποτέ [ ]

- Χρήση αντικολλητικών μαγειρικών σκευών: ναι [ ] όχι [ ]

- Συχνότητα κατανάλωσης:

Κόκκινου κρέατος…… φορές ανά εβδομάδα (βοδινό, χοιρινό, αρνί, κατσίκι)

Λαχανικών…… φορές ανά εβδομάδα

Πουλερικών…… φορές ανά εβδομάδα

Γαλακτοκομικών προϊόντων…… φορές ανά εβδομάδα

Ψάρι…… φορές ανά εβδομάδα

- Κάπνισμα πριν την κύηση: ποτέ [ ] σπάνια [ ] συστηματικά [ ] Έτη καπνίσματος:……
- Κάπνισμα κατά την κύηση: ποτέ [ ] σπάνια [ ] συστηματικά [ ]
- Κατανάλωση οινοπνεύματος κατά την κύηση: ποτέ [ ] σπάνια [ ] συστηματικά [ ]
- Λήψη φαρμάκων τις τελευταίες 24 ώρες:

  με τη μορφή κάψουλας: ναι [ ] όχι [ ] με τη μορφή δισκίων: ναι [ ] όχι [ ]

Ερωτηματολόγιο Β

1. Κωδικός:……
2. Ημερομηνία Δειγματοληψίας: …./…./…….

<u>Ιατρικό Ιστορικό Μητέρας</u>

Χρόνιες ασθένειες: ναι [ ] όχι [ ] Αν ναι, ποιες;…….…….....

Αναπνευστικά προβλήματα: ναι [ ] όχι [ ] Αν ναι, ποια;…….....

Αλλεργικά συμπτώματα: ναι [ ] όχι [ ] Αν ναι, ποια;…….....

Λήψη φαρμάκων προ της κύησης: ναι [ ] όχι [ ] Αν ναι, ποια;…….……...

Γυναικολογικό πρόβλημα: ναι [ ] όχι [ ] Αν ναι τι πρόβλημα;……

Γυναικολογική επέμβαση: ναι [ ] όχι [ ] Αν ναι, για ποιο λόγο……

<u>Μαιευτικό Ιστορικό</u>

Αριθμός φυσιολογικών τοκετών:……..

Καισαρική τομή: ναι [ ] όχι [ ] Αν ναι, αιτία καισαρικής:……..……...…

Προβλήματα σε προηγούμενη κύηση: ναι [ ] όχι [ ] Αν ναι, ποια;……..……....

Αποβολές: ναι [ ] όχι [ ]

Αν ναι, σε ποια εβδομάδα κύησης…....και ποια η αιτία της αποβολής: ……...……...

Γέννηση νεκρού παιδιού: ναι [ ] όχι [ ]

Προβλήματα υγείας προηγούμενων παιδιών: ναι [ ] όχι [ ] Αν ναι, ποια;…….

<u>Παρούσα Κύηση</u>

Αιτία αμνιοπαρακέντησης:…….…….…

Αποτέλεσμα αμνιοπαρακέντησης:……..……...……....

Εβδομάδα κύησης:……

Δίδυμος κύηση: ναι [ ] όχι [ ]

Εξωσωματική γονιμοποίηση: ναι [ ] όχι [ ]

Προβλήματα στην παρούσα κύηση: ναι [ ] όχι [ ] Αν ναι, ποια;……

Νοσηλεία κατά τη διάρκεια της κύησης: ναι [ ] όχι [ ]

Φάρμακα κατά τη διάρκεια της κύησης: ναι [ ] όχι [ ] Αν ναι, ποια;……..…

Δείγματα που ελήφθησαν: Ούρα [ ] Αμνιακό υγρό [ ] Τρίχες [ ] Αίμα [ ]

Ερωτηματολόγιο Γ

1. Κωδικός Δείγματος:……

2. Ημερομηνία Δειγματοληψίας: …/…/……

Μετέπειτα Εξέλιξη Κύησης- Τοκετός

Προβλήματα από την αμνιοπαρακέντηση έως το τέλος της κύησης: ναι [ ] όχι [ ]

Αν ναι, ποια;…….....

Ημερομηνία τοκετού: …/…./……..

Πρόωρος τοκετός: ναι [ ] όχι [ ] Εβδομάδα κύησης: [ ]

Είδος τοκετού: Φυσιολογικός Τοκετός [ ] Καισαρική τομή [ ]

Στοιχεία νεογνού

Φύλο: άρρεν [ ] θήλυ [ ]

Βάρος: [ ]

Ύψος: [ ]

Περίμετρος κεφαλής: [ ]

Δυσμορφίες γεννητικών οργάνων: ναι [ ] όχι [ ]

Αναπνευστικά προβλήματα: ναι [ ] όχι [ ]

Αν ναι, ποια;…….....

Αλλεργικά συμπτώματα: ναι [ ] όχι [ ]

Αν ναι, ποια;…….....

Άλλα προβλήματα υγείας:……...……

……
….....

ΕΝΗΜΕΡΩΤΙΚΟ ΦΥΛΛΑΔΙΟ

Αγαπητή συμμετέχουσα,

Σκοπός του παρακάτω κειμένου είναι η ενημέρωσή σας σχετικά με την ανώνυμη έρευνα που πραγματοποιείται από το Εργαστήριο Τοξικολογίας και Εγκληματολογικής Χημείας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης σε συνεργασία με την Μαιευτική/Γυναικολογική Κλινική «Μητέρα», στην οποία ευελπιστούμε να συμμετάσχετε.

Αντικείμενο της έρευνας είναι η μελέτη της επιβάρυνσης τόσο της εγκύου όσο και του εμβρύου σε τοξικές ουσίες που βρίσκονται σε είδη καθημερινής χρήσης και έχουν χαρακτηριστεί ως ενδοκρινικοί διαταράκτες. Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες είναι εξωγενείς ουσίες των οποίων η χημική δομή μοιάζει με εκείνη των φυσικών ορμονών του οργανισμού, με αποτέλεσμα να μπορούν να τις «μιμηθούν», εμποδίζοντας τη φυσιολογική λειτουργία τους. Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες που διερευνώνται στη παρούσα εργασία είναι οι φθαλικοί εστέρες, οι δισφαινόλες, το υπερφθοροκτανοϊκό οξύ, η τρικλοζάνη και τα παραβένια.

Οι παραπάνω ουσίες χρησιμοποιούνται είτε ως πλαστικοποιητές είτε ως συντηρητικά λόγω της αντιμυκητιασικής και αντιβακτηριδιακής τους δράσης, σε πληθώρα προϊόντων όπως πλαστικές συσκευασίες νερού και τροφίμων, καλλυντικά, είδη προσωπικής φροντίδας, μαγειρικά σκεύη, συνθετικές ίνες και υφάσματα, υγρά σαπούνια και απορρυπαντικά πιάτων, οδοντόκρεμες, αποσμητικά και είδη καθαρισμού. Η παρουσία τους στον ανθρώπινο οργανισμό έχει συνδεθεί με ασθένειες όπως η παχυσαρκία, το άσθμα, το οξειδωτικό στρες, ενώ προκαλούν ορμονικές διαταραχές, βλάβες στο αναπαραγωγικό σύστημα, το θυροειδή αδένα, εμφάνιση αλλεργιών, αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του στήθους, την ευαισθησία του δέρματος στη ακτινοβολία του ήλιου και επιφέρουν βλάβες στον κερατοειδή χιτώνα του ματιού.

Μετά το πέρας των αναλύσεων των δειγμάτων θα είμαστε σε θέση να προσδιορίσουμε την πιθανή έκθεσή σας στις ουσίες αυτές αλλά και την επιβάρυνση του παιδιού σας. Τα βιολογικά δείγματα που θα συλλεχθούν θα χρησιμοποιηθούν για το σκοπό αυτό και μόνο. Η έρευνα πραγματοποιείται καθαρά για επιστημονικούς σκοπούς. Τα βιολογικά δείγματα που θα ληφθούν θα κωδικοποιηθούν η δε ανάλυση και η διακίνηση τους στο εργαστηριακό χώρο θα γίνεται μόνο με την χρήση του μοναδιαίου κωδικού που τα συνοδεύει. Τα δείγματα θα αποθηκευτούν μέχρι την ολοκλήρωση της στατιστικής και εργαστηριακής ανάλυσης και θα καταστραφούν εφόσον δεν έχουν αναλωθεί με το πέρας της υποστήριξης της διδακτορικής διατριβής.

Δεσμευόμαστε ότι τα αποτελέσματα και η συλλογή των στοιχείων της έρευνας θα χρησιμοποιηθούν αποκλειστικά και μόνο για το σκοπό της μελέτης αυτής. Τα αποτελέσματα της έρευνας θα δημοσιοποιηθούν συλλογικά και ανώνυμα σε επιστημονικά συνέδρια, περιοδικά και ημερίδες.

Θα μπορείτε να ενημερώνεστε για την εκάστοτε πορεία της έρευνας και θα κληθείτε να απαντήσετε τηλεφωνικά στο τρίτο μέρος του ερωτηματολογίου το οποίο περιλαμβάνει πληροφορίες σχετικά την έκβαση του τοκετού και την πορεία της υγείας του βρέφους κατά τον πρώτο χρόνο ζωής του. Αν για οποιοδήποτε λόγο θελήσετε να αρνηθείτε τη συγκατάθεσή σας ή να αποσύρετε τη συμμετοχή σας, αυτό είναι εφικτό εφόσον δεν έχει πραγματοποιηθεί δημοσίευση των αποτελεσμάτων της μελέτης σε επιστημονικά περιοδικά. Μπορείτε να ασκήσετε ανά πάση στιγμή το δικαίωμά σας για πρόσβαση, διαγραφή ή διόρθωση των προσωπικών σας δεδομένων καθώς και το δικαίωμα καταγγελίας στην Αρχή Προστασίας Δεδομένων Προσωπικού Χαρακτήρα.

Σας ευχαριστούμε θερμά για τη συμμετοχή σας.

Επικεφαλείς έρευνας:

κ. Τσατσάκης Αριστείδης, Καθηγητής του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης

κ. Ρίζος Απόστολος, Καθηγητής του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης

κ. Σηφάκης Σταύρος, Μαιευτήρας/Γυναικολόγος

Για οποιαδήποτε διευκρίνιση παρακαλώ επικοινωνήστε στα τηλέφωνα:

Tel +30 2810 394870, 2810 545048, 2810 394777, 2810 394638, Fax +30 2810 542098

e-mail: tox.secr@med.uoc.gr, rizos@uoc.gr, tsatsaka@uoc.gr, stavros.sifakis@yahoo.com

Πανεπιστήμιο Κρήτης: https://www.uoc.gr/

Τμήμα Χημείας: http://eilotas.chemistry.uoc.gr/uocchem/

Εργαστήριο Τοξικολογίας: http://ctoxres.med.uoc.gr/

Για παράπονα ή ενστάσεις μπορείτε να απευθυνθείτε στον Υπεύθυνο Προστασίας Προσωπικών Δεδομένων του Πανεπιστημίου Κρήτης: dpo@uoc.gr

III. Ενδεικτικοί πίνακες στατιστικής ανάλυσης

1. Συσχέτιση κατά Spearman των επιπέδων των ενδοκρινικών διαταρακτών στα δείγματα **τρίχας, αμνιακού υγρού και ούρων** με τα **σωματομετρικά χαρακτηριστικά** των εγκύων γυναικών πριν και κατά την εγκυμοσύνη.

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες		Ύψος (cm)	Βάρος (kg)			Δείκτης μάζας σώματος (BMI)		
				Πριν	Κατά	Διαφορά	Πριν	Κατά	Διαφορά
ΤΡΙΧΑ	mEP	Rs	-1,000	-0,308	0,100	-0,400	0,800	0,600	0,000
		P	-	0,614	0,873	0,505	0,104	0,285	1,000
	mEHHP	Rs	0,500	0,500	0,500	-0,500	0,500	-0,500	-0,500
		P	0,667	0,667	0,667	0,667	0,667	0,667	0,667
	miBP	Rs	0,072	-0,022	-0,092	-0,234	-0,065	-0,143	-0,253
		P	0,660	0,895	0,571	0,147	0,690	0,379	0,115
	mnBP	Rs	-0,200	-0,082	-0,026	0,239	-0,016	0,090	0,254
		P	0,307	0,677	0,896	0,220	0,935	0,649	0,191
	mBzP	Rs	-0,500	-1,00	-1,000	-0,500	-1,000	-1,000	-0,500
		P	0,667	-	-	0,667	-	-	0,667
	mEHP	Rs	-0,061	0,021	0,013	0,030	0,003	0,051	0,047
		p	0,623	0,866	0,920	0,808	0,982	0,682	0,704
	BPS	rs	0,037	-0,092	-0,030	0,384	-0,094	0,000	0,367
		p	0,836	0,603	0,866	0,028	0,598	0,998	0,036
	BPA	rs	0,237	0,026	0,079	0,037	-0,044	-0,074	-0,004
		p	0,159	0,879	0,646	0,831	0,798	0,669	0,983
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	rs	0,049	0,106	0,107	-0,035	0,072	0,065	-0,023
		p	0,834	0,646	0,645	0,881	0,755	0,780	0,922
	BPA	rs	0,000	-0,285	-0,209	0,226	-0,303	-0,217	0,162
		P	1,000	0,268	0,421	0,384	0,237	0,403	0,534
ΟΥΡΑ	mEHHP	rs	0,132	0,020	0,018	-0,095	-0,010	-0,054	-0,128
		P	0,359	0,891	0,901	0,518	0,944	0,711	0,379

mEOHP	rs	0,036	0,063	0,021	-0,059	0,040	-0,009	-0,076
	P	0,801	0,655	0,882	0,682	0,780	0,951	0,594
miBP	rs	0,061	0,197	0,152	-0,195	0,121	0,071	-0,219
	P	0,660	0,153	0,278	0,163	0,383	0,611	0,115
mnBP	rs	-0,033	0,257	0,207	-0,191	0,247	0,193	-0,214
	P	0,829	0,093	0,183	0,221	0,106	0,214	0,168
mBzP	rs	-0,137	0,181	0,235	0,084	0,270	0,233	0,081
	P	0,462	0,329	0,211	0,659	0,142	0,215	0,671
mEHP	rs	-0,332	-0,193	-0,205	-0,024	-0,044	-0,050	0,020
	P	0,090	0,334	0,315	0,908	0,828	0,807	0,922

2. Διαφορές επιπέδων ενδοκρινικών διαταρακτών στα δείγματα **τρίχας, αμνιακού υγρού** και **ούρων** σε σχέση με **τη χρήση ειδών συσκευασίας**.

		Χρήση πλαστικών σκευών κατά το πρώτο τρίμηνο κύησης						
		Ποτέ/σπάνια			**Εβδομαδιαία/Καθημερινά**			
Βιολογικό υπόστρωμα	**Ουσίες**	**25th**	**50th**	**75th**	**25th**	**50th**	**75th**	**P**
ΤΡΙΧΑ	mEP	37,0	94,7	152,4	13,0	16,6	17,3	0,083
	mEHHP	-	-	-	8,5	25,9	132,2	-
	miBP	17,1	22,5	58,9	32,4	55,6	90,8	0,063
	mnBP	12,6	13,8	19,0	11,9	23,1	35,9	0,170
	mBzP	-	-	-	28,6	31,7	35,7	-
	mEHP	3,2	8,1	24,1	7,5	26,5	68,4	0,013
	BPS	1,6	3,9	24,1	1,6	3,5	6,2	0,678
	BPA	44,2	78,7	191,7	21,9	46,2	95,9	0,194
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	1,5	1,8	2,3	2,1	2,8	3,2	0,093
	BPA	1,7	1,7	2,1	1,3	1,7	2,2	0,461
ΟΥΡΑ	mEHHP	6,6	21,4	42,7	5,8	17,6	29,0	0,573
	mEOHP	4,5	8,1	15,3	1,6	4,2	7,9	0,066
	miBP	11,7	37,7	320,9	23,8	49,0	308,4	0,633
	mnBP	6,5	18,6	119,7	16,2	31,0	94,3	0,496
	mBzP	9,4	34,8	104,2	18,9	58,4	152,4	0,268
	mEHP	1,7	2,9	5,7	5,8	6,8	12,5	0,026

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Χρήση πλαστικής μεμβράνης κατά το πρώτο τρίμηνο κύησης						
		Ποτέ/σπάνια			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	P
ΤΡΙΧΑ	mEP	16,6	37,0	152,4	13,0	15,1	17,3	0,248
	mEHHP	25,9	79,0	132,2	8,5	8,5	8,5	0,221
	miBP	17,8	43,6	90,3	30,3	48,8	69,8	0,876
	mnBP	13,3	21,1	33,8	10,6	15,0	26,8	0,285
	mBzP	28,6	32,2	35,7	-	-	-	-
	mEHP	5,1	17,4	47,9	5,2	22,1	58,8	0,984
	BPS	1,6	3,0	9,7	2,6	3,9	5,3	0,658
	BPA	18,9	46,2	93,1	28,1	84,9	110,6	0,222
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	1,8	2,2	3,2	2,2	3,1	3,2	0,502
	BPA	1,4	2,1	3,7	1,4	1,6	1,9	0,242
ΟΥΡΑ	mEHHP	5,8	20,6	46,8	7,8	15,6	23,0	0,342
	mEOHP	2,0	7,3	13,6	1,5	3,7	6,1	0,068
	miBP	12,7	41,6	320,9	17,2	35,2	338,0	0,835
	mnBP	9,2	35,1	113,0	13,9	24,2	81,3	0,529
	mBzP	9,4	34,8	120,3	23,4	53,8	80,2	0,583
	mEHP	2,9	6,7	13,8	2,1	5,0	6,8	0,143

3. Διαφορές επιπέδων ενδοκρινικών διαταρακτών στα δείγματα **ούρων** σε σχέση με την **κατανάλωση εμφιαλωμένου νερού** και την **παρουσία πλαστικών στο οικιακό δίκτυο ύδρευσης**.

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Κατανάλωση εμφιαλωμένου νερού						
		Όχι			Ναι			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	P
ΟΥΡΑ	mEHHP	11,6	23,8	70,8	5,7	17,1	33,3	0,158
	mEOHP	2,5	6,2	12,7	1,8	4,7	8,4	0,630
	miBP	26,9	65,8	376,1	15,4	41,5	278,7	0,450
	mnBP	13,9	24,2	164,2	10,3	29,0	94,3	0,936
	mBzP	8,5	56,2	145,0	14,9	41,9	115,2	0,920
	mEHP	1,3	2,8	4,2	2,9	6,5	11,2	0,116

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Πλαστικά στο οικιακό δίκτυο ύδρευσης						
		Όχι			Ναι			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	P
ΟΥΡΑ	mEHHP	3,8	13,5	27,9	7,8	19,9	35,5	0,264
	mEOHP	1,1	3,6	7,5	3,2	5,5	10,5	0,149
	miBP	15,4	35,3	239,7	20,2	60,5	329,5	0,595
	mnBP	9,8	32,1	75,7	16,0	26,5	116,3	0,714
	mBzP	32,7	49,1	139,1	9,1	34,8	120,3	0,321
	mEHP	3,1	6,8	14,3	2,4	5,7	9,2	0,490

4. Διαφορές επιπέδων ενδοκρινικών διαταρακτών στα δείγματα **τρίχας, αμνιακού υγρού και ούρων** σε σχέση με **τη χρήση προϊόντων προσωπικής φροντίδας**.

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Μακιγιάζ πριν την εγκυμοσύνη						
		Ποτέ/Μηνιαία			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	P
ΤΡΙΧΑ	mEP	-	-	-	16,6	17,3	37,0	-
	mEHHP	-	-	-	8,5	25,9	132,2	-
	mEOHP	0,2	0,3	0,4	0,3	0,4	0,7	0,149
	miBP	6,4	18,3	64,9	17,1	44,4	75,4	0,189
	mnBP	5,3	17,2	22,1	8,0	13,2	28,3	0,973
	mBzP	6,5	13,4	27,9	9,5	13,5	20,1	0,929
	mEHP	7,7	21,7	67,3	3,9	18,1	34,2	0,250
	BPS	1,4	4,0	8,0	1,5	3,0	4,8	0,709
	BPA	22,8	42,8	84,7	29,9	80,4	108,8	0,176
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	-	-	-	1,3	2,5	3,7	-
	BPA	1,2	1,3	1,4	1,5	1,9	2,2	0,032
ΟΥΡΑ	mEHHP	4,2	16,8	23,8	7,1	18,5	41,9	0,293
	mEOHP	1,7	5,1	9,2	1,8	4,6	9,3	0,827
	miBP	17,2	39,9	320,9	21,9	57,8	278,7	0,716
	mnBP	6,9	22,5	94,3	15,1	33,0	119,7	0,450
	mBzP	17,0	60,9	197,9	11,8	38,3	92,2	0,160
	mEHP	2,4	5,6	9,2	2,9	6,5	11,2	0,581

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Μακιγιάζ κατά το πρώτο τρίμηνο κύησης						
		Ποτέ/Μηνιαία			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	P
ΤΡΙΧΑ	mEP	36,97	36,97	36,97	14,8	16,9	84,8	0,480
	mEHHP	-	-	-	8,5	25,9	132,2	-
	miBP	6,8	17,8	43,6	20,2	52,7	91,4	0,015
	mnBP	3,7	8,0	17,2	11,5	14,1	29,5	0,085
	mBzP	8,5	15,7	30,2	7,3	13,5	17,3	0,346
	mEHP	7,7	25,2	65,8	3,3	12,4	32,2	0,100
	BPS	1,5	4,1	9,7	1,5	2,9	4,4	0,376
	BPA	25,2	43,5	123,9	24,2	78,6	95,9	0,530
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	0,74	2,23	3,72	-	-	-	-
	BPA	1,25	1,465	1,85	1,4	1,9	2,2	0,315
ΟΥΡΑ	mEHHP	5,8	17,6	27,9	6,6	19,4	50,9	0,536
	mEOHP	1,6	4,9	8,3	2,6	5,2	13,5	0,545
	miBP	16,5	37,5	352,3	22,2	60,5	259,2	0,640
	mnBP	8,6	22,5	94,3	15,1	35,1	119,7	0,318
	mBzP	17,0	60,9	197,9	8,9	28,3	77,4	0,053
	mEHP	2,9	5,9	11,2	2,0	6,5	7,2	1,000

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Χρήση αποσμητικού πριν την εγκυμοσύνη						
		Ποτέ/Σπάνια			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	P
ΤΡΙΧΑ	mEP				16,6	17,3	37,0	
	mEHHP				8,5	25,9	132,2	
	mEOHP	0,2	0,3	0,3	0,3	0,4	0,6	0,126
	miBP	4,3	13,3	48,3	15,4	38,8	76,2	0,233
	mnBP	3,3	12,1	20,8	6,6	13,3	28,9	0,513
	mBzP	6,4	6,4	6,4	8,4	14,0	21,2	0,186
	mEHP	4,3	33,4	66,2	5,0	17,3	44,8	0,615
	BPS	1,8	4,8	9,7	1,5	3,1	5,8	0,534
	BPA	79,2	256,7	509,7	24,2	60,1	93,1	0,136
ΟΥΡΑ	mEHHP	5,4	11,2	47,0	6,1	18,8	33,3	0,812
	mEOHP	1,1	1,5	11,9	2,3	5,0	8,2	0,639
	miBP	8,1	17,2	39,9	22,5	63,3	338,0	0,050
	mnBP	5,8	11,9	29,5	16,0	34,1	120,8	0,028
	mBzP	7,4	23,4	120,3	14,5	48,6	130,1	0,479
	mEHP	5,5	5,7	22,4	2,0	6,3	9,2	0,349

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Χρήση αποσμητικού κατά το πρώτο τρίμηνο κύησης						
		Ποτέ/Σπάνια			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	P
ΤΡΙΧΑ	mEP				16,6	17,3	37,0	
	mEHHP				8,5	25,9	132,2	
	mEOHP	0,2	0,3	0,6	0,3	0,4	0,6	0,470
	miBP	6,4	20,2	76,4	14,5	38,1	74,3	0,578
	mnBP	3,3	20,8	35,9	5,3	13,2	28,3	0,829
	mBzP	6,4	8,9	11,3	7,3	14,5	22,3	0,281
	mEHP	24,7	62,5	109,9	4,3	14,3	32,7	0,021
	BPS	2,9	5,1	11,2	1,4	2,7	4,8	0,150
	BPA	22,8	93,1	369,1	24,2	65,0	95,9	0,383
ΟΥΡΑ	mEHHP	5,9	15,9	74,7	6,1	18,8	29,0	0,666
	mEOHP	1,1	3,2	28,4	2,3	5,0	8,1	0,991
	miBP	8,6	35,5	338,0	22,5	57,8	278,7	0,307
	mnBP	6,5	22,1	155,9	15,8	29,0	81,3	0,542
	mBzP	17,0	51,6	120,3	14,1	44,3	115,2	0,965
	mEHP	5,5	14,8	41,0	1,9	5,8	7,0	0,041

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Χρήση σπρέι μαλλιών πριν την εγκυμοσύνη						
		Ποτέ/Μηνιαία			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	P
ΤΡΙΧΑ	mEP	-	-	-	15,1	27,1	94,7	-
	mEHHP	-	-	-	8,5	25,9	132,2	-
	mEOHP	0,3	0,4	0,7	0,3	0,4	0,5	0,817
	miBP	6,4	27,1	65,3	17,8	48,9	92,1	0,066
	mnBP	5,1	13,2	29,9	5,3	13,5	28,3	1,000
	mBzP	6,4	9,5	17,3	10,4	17,8	28,6	0,041
	Mehp	4,3	18,5	47,9	5,2	16,3	50,3	0,824
	BPS	1,5	3,1	6,2	1,5	3,2	5,9	0,830
	BPA	27,5	60,1	103,5	23,5	71,3	103,3	0,974
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	0,7	0,7	0,7	1,3	2,5	3,7	0,221
	BPA	1,4	1,4	1,7	1,7	2,1	2,8	0,068
ΟΥΡΑ	mEHHP	6,1	19,4	29,0	7,6	17,1	35,5	0,959
	mEOHP	2,0	5,0	8,7	1,5	4,7	11,9	0,902
	miBP	12,7	39,9	320,9	25,1	67,4	278,7	0,651
	mnBP	8,6	25,0	81,3	15,1	34,1	119,7	0,633
	mBzP	9,2	22,7	109,7	34,8	50,5	145,0	0,364

	mEHP	2,0	5,9	7,2	2,9	6,9	13,8	0,572

		Χρήση σπρέι μαλλιών κατά το πρώτο τρίμηνο κύησης						
		Ποτέ/Μηνιαία			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
Βιολογικό υπόστρωμα	**Ουσίες**	**25th**	**50th**	**75th**	**25th**	**50th**	**75th**	**P**
ΟΥΡΑ	mEHHP	5,8	18,2	29,0	7,6	17,1	37,4	0,808
	mEOHP	1,9	4,7	8,2	1,6	6,4	15,3	0,486
	miBP	14,9	40,6	367,5	25,1	61,9	278,7	0,869
	mnBP	9,2	25,8	81,3	15,1	35,1	119,7	0,738
	mBzP	9,4	23,4	104,2	34,8	48,6	145,0	0,473
	mEHP	2,4	5,7	7,2	2,9	9,0	13,8	0,484

5. Συσχέτιση επιπέδων ενδοκρινικών διαταρακτών σε δείγματα **ούρων** με την **κατανάλωση συσκευασμένων τροφίμων κατά το πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης**.

		Κατανάλωση αναψυκτικών						
		Ποτέ/Μηνιαία			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
Βιολογικό υπόστρωμα	**Ουσίες**	**25th**	**50th**	**75th**	**25th**	**50th**	**75th**	**P**
ΟΥΡΑ	mEHHP	6,6	17,6	37,4	4,3	19,4	21,9	0,588
	mEOHP	1,6	5,2	10,5	3,4	4,7	7,5	0,853
	miBP	17,2	41,6	239,7	11,2	41,4	493,8	0,854
	mnBP	14,5	31,0	78,6	8,7	24,8	208,7	0,654
	mBzP	14,1	41,9	104,2	16,3	82,9	178,8	0,343
	mEHP	2,4	5,7	12,7	4,0	6,9	9,2	0,946

		Κατανάλωση συσκευασμένων χυμών						
		Ποτέ/Μηνιαία			Εβδομαδιαία/Καθημερινά			
Βιολογικό υπόστρωμα	**Ουσίες**	**25th**	**50th**	**75th**	**25th**	**50th**	**75th**	**P**
ΟΥΡΑ	mEHHP	5,8	15,4	29,0	11,0	21,2	50,9	0,282
	mEOHP	1,5	5,0	8,1	3,6	4,7	16,4	0,332
	miBP	16,5	41,4	399,5	18,5	41,6	198,5	0,735
	mnBP	15,1	29,0	94,3	8,6	27,2	113,0	0,776
	mBzP	17,9	49,1	112,2	8,5	41,9	145,0	0,536
	mEHP	2,2	5,8	7,0	5,5	9,2	13,8	0,268

6. Συσχέτιση επιπέδων ενδοκρινικών διαταρακτών σε δείγματα **αμνιακού υγρού και τρίχας** με το φύλο των βρεφών.

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Φύλο παιδιού						
		Θήλυ			Άρρεν			
		25th	50th	75th	25th	50th	75th	P
ΤΡΙΧΑ	mEP	16,6	17,3	152,4	13,0	25,0	37,0	0,564
	mEHHP	8,5	17,2	25,9	132,2	132,2	132,2	0,221
	miBP	16,4	41,6	78,7	27,1	55,6	76,2	0,469
	mnBP	11,2	21,4	29,9	12,0	15,3	24,1	0,907
	mEHP	5,3	24,5	41,7	4,9	19,5	58,8	0,680
	BPS	1,6	3,1	12,2	1,6	3,5	4,8	0,494
	BPA	19,2	42,8	72,7	45,1	91,7	125,8	0,051
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	2,0	2,5	3,8	2,0	2,2	3,1	0,554
	BPA	1,4	1,7	2,1	1,5	1,8	2,7	0,796

7. Συσχέτιση επιπέδων ενδοκρινικών διαταρακτών σε δείγματα **τρίχας, αμνιακού υγρού και ούρων** με τα **σωματομετρικά χαρακτηριστικά των βρεφών**.

Βιολογικό υπόστρωμα	Ουσίες	Βάρος (g)		Ύψος (cm)		Περίμετρος κεφαλής (cm)	
		rs	p	rs	p	Rs	P
ΤΡΙΧΑ	mEP	-0,500	0,391	-0,632	0,252	0,707	0,182
	mEHHP	0,500	0,667	-	-	-	-
	miBP	-0,127	0,475	-0,121	0,524	-0,097	0,610
	mnBP	-0,217	0,309	-0,004	0,987	-0,218	0,342
	mBzP	0,500	0,667	-	-	-	-
	mEHP	-0,302	0,021	-0,129	0,356	-0,100	0,485
	BPS	-0,281	0,119	-0,191	0,320	0,037	0,850
	BPA	-0,056	0,746	-0,190	0,298	0,292	0,105
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	-0,181	0,459	-0,300	0,226	-0,330	0,195
	BPA	-0,121	0,681	-0,403	0,194	-0,254	0,425
ΟΥΡΑ	mEHHP	-0,087	0,585	-0,216	0,186	-0,117	0,483
	mEOHP	-0,030	0,845	-0,070	0,666	0,010	0,950

	miBP	-0,124	0,406	0,070	0,648	-0,051	0,748
	mnBP	-0,059	0,724	-0,056	0,745	-0,112	0,535
	mBzP	-0,207	0,291	-0,127	0,529	-0,175	0,392
	mEHP	-0,141	0,510	-0,396	0,062	-0,293	0,186

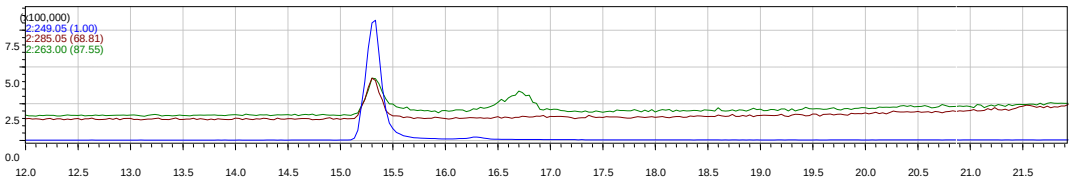
8. Διαφορές επιπέδων ενδοκρινικών διαταρακτών σε σχέση με τα **προβλήματα υγείας στα βρέφη** για τα δείγματα **αμνιακού υγρού και τρίχας**.

		Προβλήματα υγείας βρεφών						
		Όχι			**Ναι**			
Βιολογικό υπόστρωμα	**Ουσίες**	**25th**	**50th**	**75th**	**25th**	**50th**	**75th**	**P**
ΤΡΙΧΑ	mEP	16,6	17,3	37,0	-	-	-	-
	mEHHP	25,9	79,0	132,2	8,5	8,5	8,5	0,221
	miBP	22,5	48,8	78,4	16,8	44,4	74,3	0,557
	mnBP	11,8	21,4	31,6	12,0	14,1	16,6	0,303
	mBzP	-	-	-	28,6	32,2	35,7	-
	mEHP	4,9	19,5	48,7	5,3	27,8	32,6	0,914
	BPS	1,6	3,1	4,8	1,6	6,5	34,9	0,316
	BPA	28,1	78,6	110,6	14,0	24,2	27,5	0,017
ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ	mEHP	2,1	2,5	3,2	1,5	2,2	3,9	0,655
	BPA	1,4	1,7	2,1	1,9	2,1	5,8	0,102

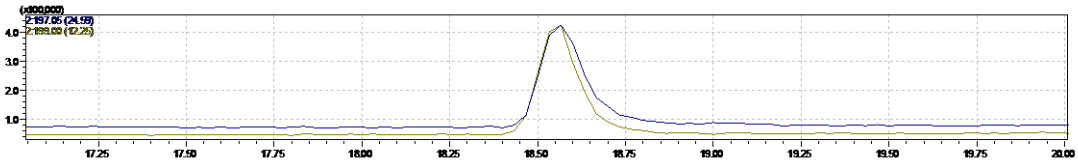
IV. Ενδεικτικά χρωματογραφήματα

Standard mix bisphenols 250 ng/ml

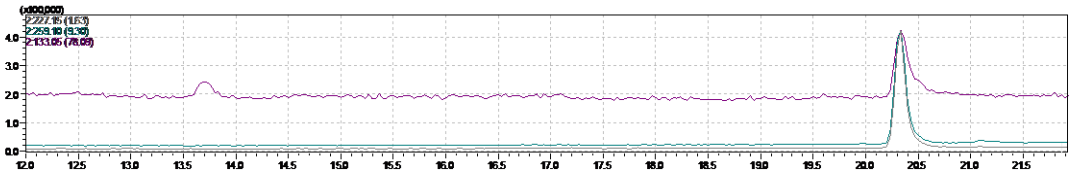
BPS



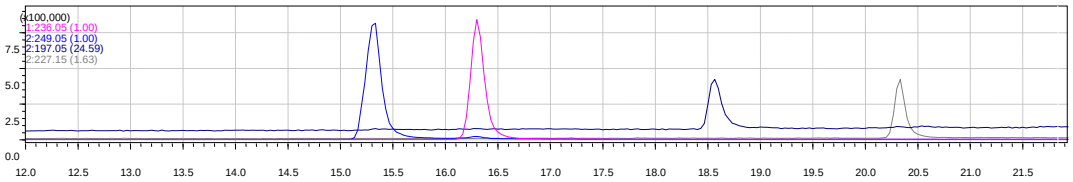
BPF



BPA

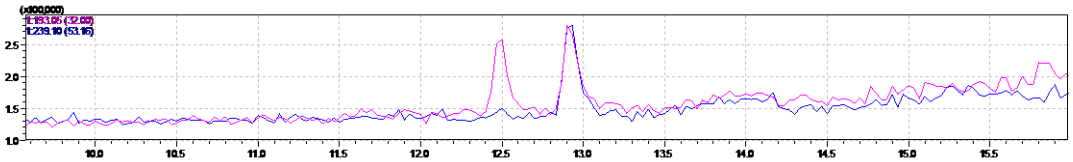


All Bisphenols:

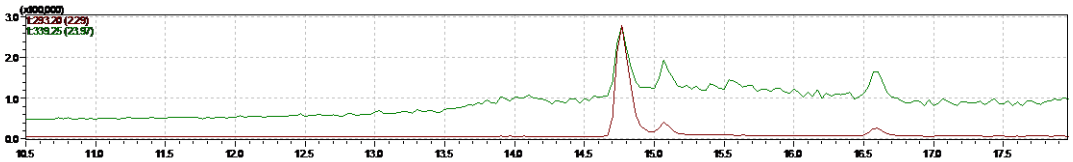


Standard mix phthalates 250 ng/ml

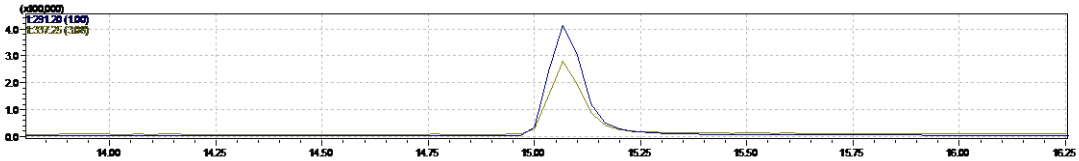
mEP



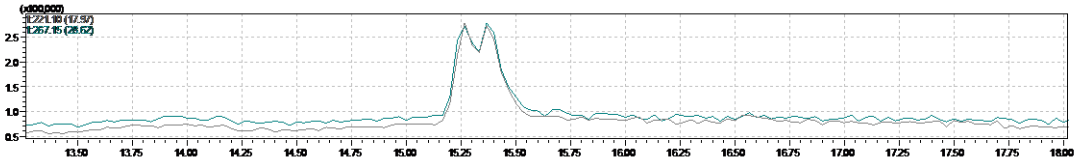
mEHHP



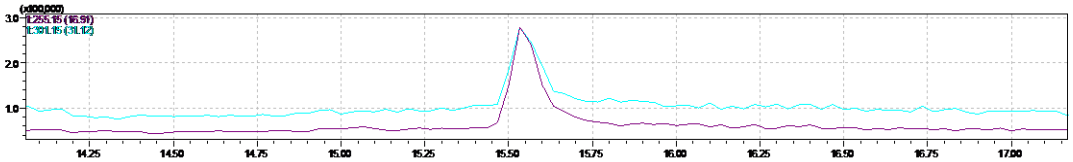
mEOHP



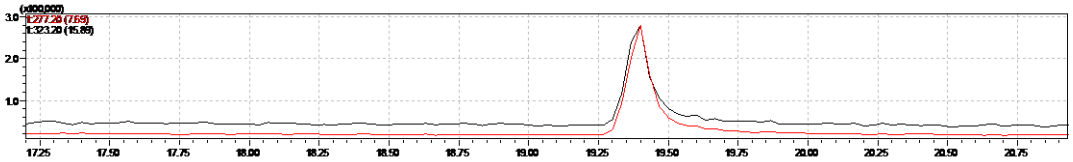
miBP+mnBP



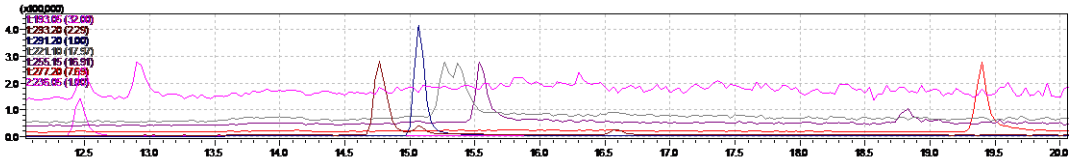
mBzP



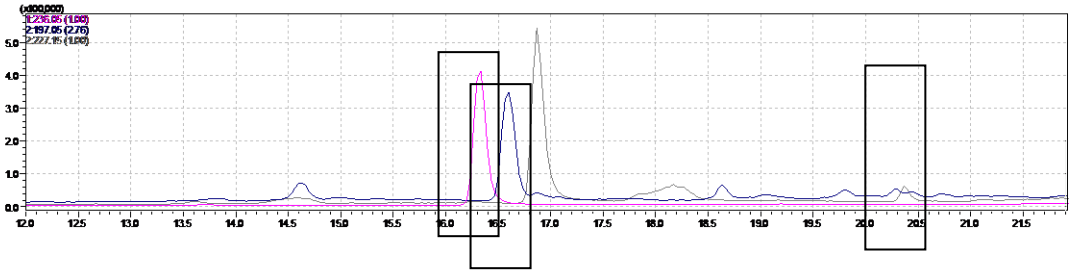
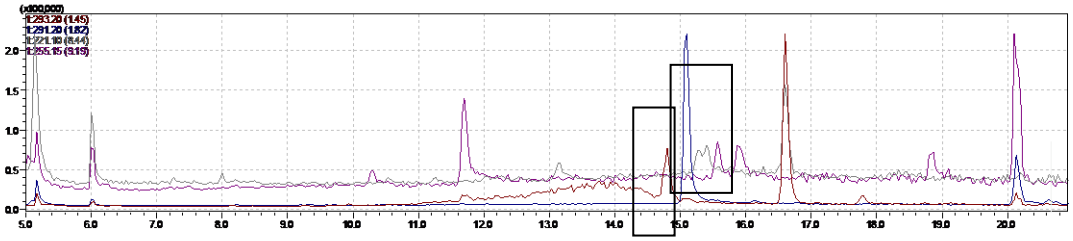
mEHP



All metabolites:



Spiked hair bisphenols 100 ng/ml



Spiked hair phthalates 100 ng/ml