Okolišni biomarkeri kao rano upozorenje bolesti

Brljak, Mario

Master's thesis / Diplomski rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:687769

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Mario Brljak

Okolišni biomarkeri kao rano upozorenje bolesti – poznati endokrini disruptori

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2014.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za zdravstvenu ekologiju i medicinu rada Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom doc.dr.sc. Iskre Alexandre Nole i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2013/2014.

Popis kratica

ADHD – *Attention Deficit and Hyperactivity Disorder* (Poremećaj hiperaktivnosti i deficita pažnje)

AG – anogenitalna

BBzP – *Benzylbutylphthalate* (benzilbutil ftalat)

BPA – *Bisphenol A* (Bisfenol A)

DALY – *Disability-adjusted Life Year* (godina života izgubljena zbog bolesti, invaliditeta ili smrti)

DBP – *Dibutyl Phthalate* (dibutil ftalat)

DDT – *Dichlorodiphenyltrichloroethane* (diklordifeniltrikloretan)

DEHP – *Diethylhexyl Phthalate* (dietilheksil ftalat)

DEP – *Diethyl Phthalate* (dietil ftalat)

DES – *Diehtylstilbestrol* (dietilstilbestrol)

DNA – *Deoxyribonucleic acid* (deoksiribonukleinska kiselina)

ER α – estrogenski receptor alfa

EU – Europska Unija

FSH – folikostimulirajući hormon

HIV – *Human Imunodeficiency Virus* (Humani virus imunodeficijencije)

LH – luteinizirajući hormon

MBP – *Monobutyl Phthalate* (monobutil ftalat)

MBzP – *Monobenzyl Phthalate* (monobenzil ftalat)

MEHP – M*onoethylhexyl Phthalate* (monoetilheksil ftalat)

MEP – *Mono-ethyl* phthalate (monoetil ftalat)

PFC - *Perfluorinated Compounds* (perfluorirani spojevi)

PVC – *Polyvinyl chloride* (polivinil klorid)

SHBG – *Sex Hormone Binding Globulin* (globulin koji veže spolne hormone)

SZO – Svjetska zdravstvena organizacija

UN – Ujedinjeni narodi

Sadržaj

1. Sažetak

2. Summary

3. Biomarkeri……..…….1

3.1. Podjela biomarkera……..……2

3.2. Biomarkeri i primjena……...…….5

4. Endokrini disruptori…….8

4.1. Poznati endokrini disruptori i učinci na zdravlje…….10

4.1.1. Ftalati……..…..11

4.1.2. Bisfenol A……...……..16

4.1.3. Dietilstilbestrol……...…….17

4.2. Ostale tvari koje mogu djelovati kao endokrini disruptori…….….19

5. Okolišni biomarkeri i rano upozorenje bolesti…….21

6. Zaključak……...……..25

7. Literatura…….…….26

8. Životopis……...……29

1. Sažetak

Okolišni biomarkeri kao rano upozorenje bolesti – poznati endokrini disruptori

Mario Brljak

Biomarker je bilo koja mjera koja reflektira interakciju između biološkog sustava i potencijalnog kemijskog, biološkog ili fizikalnog štetnog čimbenika.

Postoji više vrsta biomarkera koje mogu davati razne informacije vezane uz izloženost štetnim čimbenicima i njihov utjecaj, dijagnostiku i terapiju. Koriste se kao zamjene za kliničke simptome prije nego oni uopće postanu vidljivi. Korištenjem suvremene tehnologije i biomarkera moguće je u okolišu, životinjama i ljudima detektirati niske koncentracije okolišnih zagađivača koji u organizmima djeluju kao endokrini disruptori što znači da ometaju normalno funkcioniranje hormonalnog sustava. Većina strukturnih i funkcionalnih poremećaja vezana je uz reproduktivni sustav gdje se vidi njihov antiandrogeni učinak.

U daljnjem tekstu opisan je utjecaj endokrinih disruptora - ftalata, bisfenola A, dietilstilbestrola i drugih spojeva kojima su ljudi svakodnevno izloženi. Za prevenciju njihovog utjecaja potrebno je prvo shvatiti utjecaj na okoliš i životinje, a preko njih i na čovjeka.

Ključne riječi: biomarkeri, endokrini disruptori, okolišni čimbenici

2. Summary

Environmental biomarkers as early warning of disease – known endocrine disruptors

Mario Brljak

A biomarker is a measurement reflecting an interaction between a biological system and a potential chemical, biological or physical kind of hazard. There are many types of biomarkers which provide different kinds of information related to exposure and influence of hazardous chemicals, diagnostic procedures and therapy. They are used as surrogates for clinical endpoints long before the endpoints become apparent. By combining biomarkers with modern technology, it is possible to detect very low concentrations of environmental pollutants in the environment, animals and humans. These pollutants act as endocrine disruptors which means they disrupt normal functioning of the body's hormonal system. Most of the structural and functional abnormalities are related to the reproductive system where their antiandrogenic effect is most visible.

Influence of many endocrine disruptors to which humans are daily exposed to has been described. These include phthalates, bisphenol A, diethylstilbestrol and many more. To prevent their hazardous influence, it is necessary to understand their effect on the environment and animals and then on humans.

Key words: biomarkers, endocrine disruptors, environmental factors

3. Biomarkeri

Do sada je dano više definicija biomarkera, ali sve se one uglavnom preklapaju. Radna grupa za definiciju biomarkera ih je 1998. godine prozvala karakteristikom koja se objektivno mjeri i procjenjuje kao indikator normalnih bioloških ili patoloških procesa ili farmakoloških odgovora na terapijsku intervenciju. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) u suradnji s Ujedinjenim narodima (UN) ih je definirala kao bilo koju tvar, strukturu ili proces koja se može mjeriti u tijelu i može utjecati na ili predvidjeti ishod neke bolesti. Kasnije je SZO objavila novu, širu definiciju koja glasi: Biomarker je bilo koja mjera koja reflektira interakciju između biološkog sustava i potencijalnog kemijskog, biološkog ili fizikalnog štetnog čimbenika. Izmjereni odgovor organizma može biti funkcionalni i fiziološki, biokemijski na staničnom nivou ili molekulska interakcija. Ova definicija uzima u obzir učinke intervencija i liječenja, ali i nenamjerno izlaganje okolišnim čimbenicima, bila to hrana ili štetni kemijski spojevi (Strimbu & Tavel 2010).

Prednosti biomarkera:

- Potvrđuju apsorpciju u organizam.
- Mjere integriranu izloženost iz svih izvora
- Zbog vrlo osjetljivih analitičkih metoda mogu se detektirati u jako niskim koncentracijama
- Služe za validaciju modela izloženosti kad predviđene doze odgovaraju izmjerenima
- Pomažu u praćenju izloženosti kad se pojedinac ili grupa ispitanika prate tijekom vremena
- Pomažu u procjeni javnozdravstvenih intervencija gdje se može pratiti je li se smanjila izloženost ako se zagađivači ograniče ili povuku iz upotrebe

Nedostaci biomarkera:

- Ne mogu definirati izvor – prikazuju samo trenutno stanje bez informacija o podrijetlu ili načinu apsorpcije

- Ne mogu definirati toksičnu dozu – sama prisutnost tvari u organizmu ne govori puno, treba provesti toksikološke i epidemiološke studije koje bi odredile krivulju doze i učinka

- Osjetljivi su na lošu laboratorijsku analizu – spojevi koje se detektiraju su ubikvitarni - nalaze svuda u okolišu i svakodnevno se koriste, pa su, zbog prisutnosti i u laboratorijskoj opremi, moguće kontaminacije tijekom skupljanja i skladištenja uzoraka

- Nedostatak referentnih vrijednosti – za neke od njih još se ne zna je li izmjerena doza štetna ili ne

- Nedostatak toksikoloških i epidemioloških informacija o većini kemijskih spojeva – u upotrebi je preko 90000 umjetnih spojeva, a manje od polovice ih je testirano na bilo kakvu toksičnost. Zbog toga je nemoguće znati jesu li izmjerene razine markera sigurne ili opasne (WHO 2011).

3.1. Podjela biomarkera

S obzirom na traženu informaciju vezanu uz dijagnostiku i terapiju, biomarkeri se dijele na (Walton 2011):

1) Prognostički biomarkeri
   – pokazuju budući klinički tijek pacijenta u odnosu na neki klinički ishod bez terapijske intervencije osim one standardne. Ako se primjenjuje neka nova terapija, mogla bi se promijeniti valjanost markera i veza između njega i kliničkog ishoda.

2) Prediktivni biomarkeri
   – mjere se prije intervencije i ukazuju na pacijente koji imaju veću vjerojatnost oboljeti od bolesti ili profitirati od neke terapije. Ne moraju nužno imati prognostičku vrijednost vezanu za stanje nakon terapije jer se nakon toga mogu promijeniti.

3) Farmakodinamski biomarkeri

– koriste se kao mjera odgovora na terapiju i otkrivaju je li bilo reakcije organizma i kakva je ona bila. Može se mjeriti samo nakon primjene terapije ili se uspoređuje sa vrijednošću izmjerenom prije primjene.

4) Biomarkeri efikasnosti

– skupina farmakodinamskih biomarkera koji služe kao zamjena (surogat) kliničkog ishoda ili predviđaju neki ishod pacijenta u daljoj budućnosti. Mogu služiti i kao alternativna mjera trenutnog stanja.

Kod procjene izloženosti i rizika od utjecaja okolišnih čimbenika biomarkeri se dijele na tri velike grupe (EPA 2014):

1) Biomarkeri izloženosti

Koriste se kod procjene količine kemijske tvari u tijelu. Mnogi od njih se mogu izmjeriti u urinu, krvi, slini i, ako su liposolubilni, u masti ili majčinom mlijeku. Pružaju informacije o izloženosti kemikalijama u pojedinaca, promjenama njihovih razina u vremenu i varijabilnosti među različitim populacijama. Mogu pružati i informacije o različitim načinima izloženosti i njima pridruženom riziku. Ipak, važno je primjetiti da ako su nađene kemikalije u nečijem organizmu, to ne znači odmah da je učinjena šteta. Biomarkeri izloženosti se dijele na tri kategorije:

a) Kemijski spoj - direktni i najspecifičniji marker izloženosti nekom spoju je mjerenje tog samog spoja u dostupnim biološkim uzorcima (krv, urin).
b) Metaboliti – mnogi kemijski spojevi se brzo metaboliziraju i teško mjere. U tom slučaju, mjeri se stabilniji i trajniji metabolit da bi se procijenila izloženost. Ako je pronađeni metabolit moguće povezati s više ishodišnih spojeva, treba učiniti dodatne testove i utvrditi o kojem se spoju radi.
c) Surogat – u nekim slučajevima kemijski spoj u organizmu izaziva odgovor koji je patognomoničan za taj spoj, pa mjerenje tog odgovora služi kao zamjena (surogat) umjesto mjerenja samog spoja ili njegovog metabolita. Ovo je najmanje siguran i točan marker jer postoji mnogo čimbenika koji mogu utjecati na odgovor organizma.

Biomarkeri se kod procjene izloženosti okolišnim čimbenicima dijele na (Galloway 2006):

1. unutarnju dozu bez učinka
2. biološki efektivnu dozu
3. dozu koja ima subkliničke učinke
4. vjerojatnost

2) Biomarkeri učinka

Indikatori su promjene u biološkoj funkciji kao odgovora na izloženost nekom kemijskom spoju. Prema tome, daju precizniji i izravniji podatak o učinku na zdravlje od biomarkera izloženosti. Dijele se na tri kategorije:

a) Bioindikator – idealni biomarker učinka ima isključivo poznat mehanizam koji povezuje marker s ishodom. U većini slučajeva to je postignuto dovoljnim razumijevanjem patofiziološkog mehanizma djelovanja kemijskog spoja i vezom bioloških događanja između markera i ishoda.

   Bioindikatori pružaju visoku razinu pouzdanosti u predviđanju potencijalnih negativnih učinaka kod jedinke ili populacije na temelju izmjerene razine markera. Razumijevanje patofiziologije ishoda je važno jer podupire razvoj različitih bioindikatora kod različitih događanja ili ishoda. (npr. markeri rane detekcije i prevenciju za presimptomatska stanja koja vode do neke kliničke dijagnoze). Trebali bi se razvijati kao metode brzog probira (screeninga) ciljnih populacija na određene ishode kad se nađu prikladne molekularne i stanične promjene koje bi bile bitni koraci u patofiziološkom mehanizmu tog ishoda.

b) Neodređena posljedica – ova vrsta biomarkera ne pruža toliko sigurne informacije o potencijalnim štetnim učincima jer su pojedini patofiziološki procesi ili veze između njih manje poznate. Mogu se koristiti paralelno s drugim markerima iz ove ili neke druge podgrupe da bi se povećala osjetljivost i specifičnost cijelog postupka procjene rizika.

c) Egzogeni surogat – neki spojevi imaju dobro poznate štetne učinke koje pak prate sekundarni učinci koji se onda koriste kao zamjenski pokazatelji. Suboptimalni su kao markeri učinka jer ne zahvaćaju direktno dodatni utjecaj intrinzičkih i ekstrinzičkih faktora koji bi mogli utjecati na incidenciju ili težinu ishoda. Zbog tih ograničenja,

upotreba vanjskih surogata kao markera je ograničena na one učinke koji su direktno povezani sa spojem od interesa da bi se smanjio broj čimbenika zabune i nesigurnost izmjerenog surogatnog markera.

3) Biomarkeri vjerojatnosti

Čimbenici su koji neke jedinke čine osjetljivijima na izloženost kemijskim spojevima. Oni uključuju genetske faktore koji bi mogli utjecati na interakciju organizma i kemijskog spoja, starost, zdravlje, nutritivni status, stil života itd.

Kategorije biomarkera se mogu preklapati kako se kemijski spoj metabolizira u organizmu i tako se dobivaju odgovori na različita pitanja vezana za pojedine kategorije. Kroz ove kategorije vidi se napredak od same izloženosti do bolesti, s tim da postoji značajno preklapanje između svake od njih (uzorak krvi ili tkiva se može koristiti za procjenu izloženosti, promijenjene aktivnosti enzima mogu ukazivati na biološki aktivne doze ili pretkliničke efekte, a patološke lezije mogu biti dokazi štetnih posljedica) (WHO 2011).

3.2. Biomarkeri i primjena

Razvojem tehnologije u upotrebi su tisuće kemijskih spojeva za koje ne znamo kako djeluju na ljudski organizam. Metodama poput plinske kromatografije ili masene spektroskopije mogu se otkriti vrlo male rezidue organskih i anorganskih zagađivača u zraku, zemlji, vodi i živim bićima. Otkrićem tih zagađivača raste i svjesnost o širokoj kontaminaciji okoliša zbog ljudske aktivnosti. Važno je odrediti i odnos doze i učinka za spojeve, odnosno u kolikoj mjeri određena doza spoja štetno utječe na organizam (Walker 1998).

Pojam „biološki marker“ ili skraćeno „biomarker“ je vrlo široka subkategorija medicinskih znakova, objektivnih pokazatelja zdravstvenog stanja koji se promatraju izvana i mogu se mjeriti točno i reproducibilno. Oni su suprotnost simptomima, koji su subjektivni pacijentovi doživljaji bolesti. Biomarkeri mogu biti jednostavni poput pulsa ili krvnog tlaka, preko osnovnih kemijskih testova, pa sve do laboratorijskih analiza tkiva. Bilo koja mjerljiva

karakteristika koja se javlja prije klinički vidljivih znakova bolesti. Oni mogu, ali i ne moraju korelirati s pacijentovim iskustvom i osjećajem zdravlja. Klinički simptomi nisu u potpunosti objektivni jer su pod utjecajem subjektivnih pacijentovih doživljaja i liječnikove procjene. Varijable koje karakteriziraju kako se pacijent osjeća, funkcionira ili, na kraju krajeva, preživljava. Drugim riječima, varijable koje predstavljaju pacijentovo zdravlje iz njegove vlastite perspektive. One su jednoznačni, očiti pokazatelji učinkovitosti i sigurnosti terapijskih postupaka. Kao primjer može se navesti preživljenje kod infarkta miokarda ili infekcije HIV-om. Prema tradicionalnim uvjerenjima, cilj kliničke prakse je smanjiti morbiditet i mortalitet, a ne mijenjati mjerljive osobine pacijentovih biokemijskih procesa koji često niti nemaju klinički efekt. Pacijenti traže lijek za svoju bolest, a ne za brojeve koji ne moraju striktno odgovarati njihovom osjećaju zdravlja.

Biomarkeri se koriste kao surogati (zamjene) za klinički značajne znakove (nalaze). Da bi ih mogli koristiti u tom kontekstu, za svaki biomarker moraju postojati čvrsti znanstveni dokazi (patofiziološki, terapeutski ili epidemiološki) da konzistentno i točno predviđa klinički ishod, bio on dobar ili loš. Dugoročni rezultati liječenja (ozdravljenje) ili smrtni ishodi bolesti pojavljuju se nakon više godina, pa je korištenje tih podataka u kliničkim eksperimentima nepraktično, dok biomarkeri pružaju informacije ranije nego što se uopće pojave klinički znakovi bolesti. Isto tako, dopuštaju provođenje manjih učinkovitijih studija koje bi kraće trajale i gdje bi se manje ljudi izlagalo eksperimentalnim lijekovima (Rosenkrantz 2013).

Da bi se biomarkeri priznali kao zamjena za klinički ishod, oni moraju pružiti relevantne podatke koji odgovaraju na klinička ili javna pitanja. Za početak, može li se njegova razina mjeriti objektivno i po potrebi reproducibilno. Rezultati moraju biti precizni i moraju odgovarati kliničkom ishodu ne samo u promatranoj skupini, nego i u drugim populacijama. Trebali bi služiti kao prediktori i u sličnim bolestima ili sličnim terapijskim metodama. Ipak, budući da nisu uvijek poznati svi patofiziološki procesi, biomarkeri trebaju stalnu reevaluaciju i retrospektivne studije koje bi opravdale njihovo korištenje (Strimbu & Tavel 2010).

Biomarkeri su korisni kad se pomoću njih može otkriti izloženost nekom čimbeniku, ali se za to mora koristiti pouzdana, točna i reproducibilna analitička tehnologija. Moraju se mjeriti u primjerenim tkivima što zahtijeva razumijevanje apsorpcije i metabolizma tvari. Najčešće se rabe krv, urin, majčino mlijeko i izdahnuti zrak. Standardizirano skupljanje, skladištenje, obrada i analiza ključni su za dobivanje točnih rezultata. Neki uzorci poput kose

ili noktiju se lako kontaminiraju i teško ih je standardizirano skupiti i obraditi, pa treba cijeli proces pažljivo nadzirati. Mnogi biomarkeri nisu korisni niti iskoristivi u kliničke svrhe na nivou pojedinog pacijenta jer za mnoge spojeve iz okoliša nema standardnih ili sigurnih raspona vrijednosti.

Upotreba biomarkera u istraživanjima vezanima za procjenu izloženosti je dosta nova i još uvijek se razvijaju najbolje metode za njihovo korištenje. Glavni izazov je određivanje povezanosti između izmjerene razine markera i relevantnih kliničkih nalaza.

4. Endokrini disruptori

Hormon je molekula koju izlučuje endokrina žlijezda, koja putuje krvotokom i djeluje na udaljena tkiva preko signalnih puteva koji uglavnom uključuju hormonske receptore. U tijelu postoji preko 50 različitih hormona i sličnih molekula (citokini i neurotransmiteri) koji integriraju i kontroliraju tjelesne funkcije između različitih tkiva i organa. Takvi mehanizmi postoje u svakom organizmu i ključni su za normalan život. Hormonalni sustav je odgovoran za kontrolu velikog broja procesa u tijelu, počevši od diferencijacije stanica i formiranja organa, do funkcije većine tkiva i organa. Endokrini disruptori su kemijski spojevi za koje se smatra da mogu ometati endokrini sustav tijela i proizvesti negativne razvojne, reproduktivne, neurološke i imunološke učinke kod ljudi i životinja, a djeluju umjesto pravih hormona (WHO 2012).

Endokrini disruptori se dijele na prirodne i umjetne, a mogu se naći u mnogim materijalima i proizvodima. Često nastaju u proizvodnji ili kao produkti razgradnje nekih spojeva (npr. pesticida). Činjenice koje povećavaju zabrinutost oko endokrinih disruptora su sve viša incidencija hormonskih poremećaja u ljudi i životinja i otkriće kemijskih spojeva sa svojstvima disruptora koji se mogu povezati s tim poremećajima.

Endokrini poremećaji koji su u porastu su (Toppari et al. 1996):

- Čak do 40% mladih muškaraca ima smanjenu kvalitetu sperme
- Povećanje incidencije genitalnih malformacija kao što su kriptorhizam i hipospadija
- Porast nepovoljnih ishoda trudnoće (rođenje prije termina i mala porođajna težina)
- Povećanje incidencije disrupcije metabolizma tiroidnih hormona
- Sve raniji nastup telarhe (razvoj grudi koji se javlja prije osme godine života) koja je čimbenik rizika za rak dojke
- Povećanje incidencije tumora pod utjecajem hormona – tumora dojke, endometrija, jajnika, prostate, testisa, štitnjače
- Dramatično povećanje prevalencije dijabetesa tipa 2 povezanog s prekomjernom tjelesnom masom

Do danas je nađeno preko 800 kemijskih spojeva za koje se zna ili sumnja da mogu interferirati sa sintezom hormona, njihovom konverzijom ili hormonskim receptorima.

Problem je u tome što je samo mali dio tih spojeva testiran, a za ostatak nema podataka kako djeluju što predstavlja potencijalno veliki rizik.

Kemijski spojevi pridonose endokrinim poremećajima u ljudi i životinja. Najosjetljivija razdoblja su fetalni razvoj i pubertet. Promjene se ne moraju vidjeti odmah pri rođenju, nego mogu kasnije u životu utjecati na razvoj bolesti. Testiranja na životinjama omogućuju uvid u moguće promjene na endokrinom sustavu ljudi za vrijeme fetalnog razvoja, perinatalnog života, djetinjstva i puberteta.

Cijeli živi svijet je izložen endokrinim disruptorima. Razine tih spojeva su dosta male, ali smo im stalno izloženi preko hrane, vode i predmeta u općoj upotrebi. Ugroženija su djeca zbog bržeg metabolizma, ali i zbog toga što u usta stavljaju sve do čega dođu. Zbog aditivnog djelovanja više štetnih spojeva i duljeg trajanja izloženosti, javlja se kumulativni učinak. Brzina kojom se posljednjih desetljeća povećava incidencija bolesti vezanih za endokrini sustav isključuje genetske čimbenike kao jedini uzrok. Sumnja se na okolišne i druge negenetske čimbenike, uključujući prehranu, majčinu dob, virusne bolesti i kemijske spojeve (Rujnić Sokele 2012).

Životinje su također zahvaćene endokrinim disrupcijama, s negativnim posljedicama na rast i reprodukciju zbog stalne izloženosti organskim zagađivačima. Zabrana tih spojeva (olovo, poliklorirani bifenili) dovela je do oporavka nekih životinjskih populacija. Zato je moguće da endokrini disruptori koji su nedavno otkriveni i čije se koncentracije stalno povećavaju doprinose smanjenju broja životinja.

Dosad upotrebljavane metode identifikacije endokrinih disruptora su ograničene i obuhvaćaju samo neke učinke, pa se štetni učinci mogu previdjeti. Za mnoge disruptore i njihove učinke još uvijek nema standardiziranih testova iako postoje laboratorijske metode. Nema laboratorijskih modela ni za veliki broj utjecaja na ljude, uključujući reproduktivne poremećaje i hormonski uvjetovane tumore kod žena, što ozbiljno ograničava razumijevanje rizika, odnosno podcjenjuje ga. Dosadašnje studije su se bavile samo izoliranim spojevima, dok su organizmi istovremeno izloženi mnogim spojevima i takav pristup ozbiljno podcjenjuje utjecaj okoliša na organizam jer postoji aditivni učinak (WHO 2012).

4.1. Poznati endokrini disprutori i učinci na zdravlje

Endokrini disruptori mogu djelovati na sve hormonske sustave, od onih koji kontroliraju razvoj i funkciju reproduktivnih organa do onih koji reguliraju sitost ili metabolizam, pa mogu dovesti do pretilosti, smanjene plodnosti ili neplodnosti, poteškoća s učenjem i pamćenjem, pojave dijabetesa tipa II, kardiovaskularnih bolesti itd.

Ometanje hormonskih putova može se zbivati na razini kompleksa hormon – receptor ili na razini nekog proteina uključenom u transport hormona na njegovo odredišno mjesto. Disruptori imaju ista svojstva kao hormoni i često se upliću u njihove procese, ali ne moraju imati isti afinitet za receptor ili potentnost. Problem je u tome što mogu biti aktivni i pri niskim koncentracijama iz okoliša kojima smo stalno izloženi. Nemaju samo estrogena, androgena i tiroidna svojstva, neki istovremeno reagiraju s više receptora, pa mogu imati aditivne i sinergističke učinke koji se ne viđaju kod normalnih hormona. Često ne slijede linearnu krivulju doza – učinak. Vremenski učinak je posebice bitan jer djelovanje disruptora tijekom razvoja može dovesti do nepovratne štete dok kod odraslih na zrelom organizmu nema takve štete i nakon uklanjanja nokse često nema štete. Kritična razdoblja razvoja u kojima su organski sustavi osjetljivi na endokrinu disrupciju prikazana su u Tablici 1.

Tablica 1. Kritična razdoblja razvoja osjetljivosti organskih sustava na endokrinu disrupciju

Organski sustav	**Razdoblje od začeća**
Središnji živčani sustav	3. tjedan do 20 godina
Uho	4. – 20. tjedan
Bubreg	4. – 40. tjedan
Srce	3. – 5. tjedan
Udovi	4. - 8. tjedan
Imunosni sustav	4. – 40. tjedan
Kosti	1. – 12. tjedan
Pluća	3. – 40. tjedan
Reproduktivni sustav	7. – 40. tjedan (sazrijeva u pubertetu)

Izvor: Prilagođeno iz Endocrine Disrupting Chemicals, WHO (2012)

Značajan porast bolesti vezanih uz endokrini sustav bilježi se posljednjih desetljeća u čitavom svijetu što sugerira da u etiologiji postoje još neidentificirani okolišni čimbenici. U

posljednje vrijeme pozornost je usmjerena na istraživanje utjecaja endokrinih disruptora za vrijeme intrauterinog razvoja i posljedice tih utjecaja kasnije u životu. Zbog inteferencije s tiroidnim hormonima koji su važni za razvoj središnjeg živčanog sustava intrauterino i nakon rođenja, povećana je incidencija neurobihevioralnih poremećaja, disleksije, mentalne retardacije i ADHD-a (WHO 2012). U nekim zemljama ti poremećaju zahvaćaju čak 5-10% rođene djece, a incidencija autizma i sličnih poremećaja dostiže 1%. Incidencija endokrinih karcinoma je isto tako u porastu (rak dojke i testisa), a bilježi se pad kvalitete sjemene tekućine (smanjena koncentracija spermija i lošija pokretljivost) uz porast korištenja medicinski potpomognute oplodnje (Richiardi et al. 2004).

Prevalencija astme u pedijatrijskoj dobi se udvostručila u posljednjih 20 godina i sad je vodeći uzrok hospitalizacije djece i odsustva iz škole. U porastu je i nespuštanje testisa u skrotum (kriptorhidizam), rak testisa, mozga i leukemije u pedijatrijskoj dobi. Sve te bolesti imaju genetsku i okolišnu podlogu. Budući da je nemoguće da su samo geni odgovorni za porast incidencije u tako kratkom razdoblju, potrebno je u tome shvatiti ulogu okolišnih čimbenika. Sve ove činjenice, zajedno sa spoznajom da je u velikom broju slučajeva zahvaćen endokrini sustav, upućuju da bi se moglo raditi o endokrinim disruptorima (WHO 2012).

4.1.1. Ftalati

Ftalati su esteri ftalatne kiseline i alifatskih alkohola, hlapljive tekućine koje se dodaju plastici polimera za povećanje njihove mobilnosti. Djeluju tako da olakšavaju unutarnje kretanje molekula polimera i čine plastiku fleksibilnom i elastičnom. Ftalati velike molekulske mase kao što su 2-etilheksil ftalat (DEHP) koriste se u izradi fleksibilne plastike koja svoju primjenu ima u izradi potrošačke robe, podova, zidova, proizvoda za skladištenje hrane i pića i medicinskih proizvoda. Ftalati niske molekulske mase kao što su dietil ftalat (DEP) ili dibutil ftalat (DBP) koriste se kao otapala u proizvodima za osobnu njegu (parfemi, losioni, kozmetika) i u lakovima, bojama itd. Napretkom kemijsko tehnoloških znanosti u posljednjim desetljećima, uporaba plastike je u stalnom porastu. Jeftina je, lakša, sigurnija i trajnija i tako pruža veću kvalitetu života gdje god se koristi. Ipak, postoje sumnje da je čovjekovo zdravlje ugroženo kroz svakodnevnu izloženost plastici i preko nje kemijskim spojevima koji djeluju kao endokrini disruptori. Oni imaju negativne učinke na reproduktivnu

sposobnost muškaraca i povećan rizik za rak testisa ili prostate. Kod žena, sumnja se da imaju utjecaj na pojavu endometrioze i karcinoma povezanih s hormonima, funkciju jajnika i menstrualnog ciklusa. Utjecaj tih spojeva na endokrinu aktivnost organizma može biti kroz više razina na osovini hipotalamus – hipofiza – ciljne žlijezde, od receptora do utjecaja na sintezu, sekreciju ili metabolizam hormona

U istraživanjima na životinjama je utvrđeno da ftalati imaju štetne posljedice na razvoj i reprodukciju. Kod ljudi, istraživanja su ograničena uglavnom na muški spol gdje ukazuju na antiandrogeni učinak ftalata – smanjenu razinu slobodnog testosterona i luteinizirajućeg hormona i njihovog omjera koji služi kao mjera aktivnosti Leydigovih stanica koje izlučuju testosteron.

Najopasniji je utjecaj za vrijeme fetalnog razvoja jer može imati dugoročne posljedice kasnije u životu. Kod muškaraca koji su *in utero* izloženi endokrinim disruptorima, javlja se sindrom testikularne disgeneze – nekoliko reproduktivnih poremećaja različite težine koji su povezani s nepravilnim razvojem gonada što uključuje kriptorhidizam, hipospadiju ili manje reproduktivne organe. Sve se to kasnije može manifestirati kao smanjena kvaliteta sperme ili neplodnost ili kao povećani rizik za rak testisa (Wohlfahrt-Veje 2009)

Kod djevojčica sumnja se da uzrokuju preuranjenu telarhu bez drugih znakova puberteta. Drugi nađeni učinci obuhvaćaju dišni sustav gdje se javljaju alergije, rinitisi, astma i izravna toksičnost. U Švedskoj je provedeno istraživanje gdje je dokazano da je u domovima djece koja imaju alergijske i astmatske simptome puno veća koncentracija butil benzil ftalata (BBzP) u kućnoj prašini nego kod kontrola dok je jačina simptoma povezana s visinom doze.

Kod prerano rođene djece gdje su korišteni respiratorni tubusi od polivinil klorida (PVC) klinički i radiološki je potvrđena bolest hijalinih membrana za koju se pretpostavlja da je dietil heksil ftalat (DEHP) mogao uzrokovati, a on je nađen i u plućnom tkivu jednog djeteta koje je umrlo od pneumotoraksa.

Kao rezultat ubikvitarne uporabe ftalata, izloženost čovjeka kroz ingestiju, inhalaciju ili kroz kožu je raširena. Dojenčad i mala djeca mogu biti izložena većim koncentracijama jer često stavljaju predmete u usta (plastične igračke), moguća je prisutnost ftalata u majčinom mlijeku, dohrani za dijete, kravljem mlijeku ili pakiranjima hrane. Nakon apsorpcije, ftalati se brzo metaboliziraju i izlučuju putem urina i fecesa. S obzirom na

sveprisutnu izloženost, najčešći način provjeravanja ftalata u organizmu je preko koncentracije njihovih metabolita u urinu što zapravo predstavlja biomarkere izloženosti

Ftalati imaju kratko vrijeme poluraspada (od nekoliko sati do nekoliko dana) i brzo se izlučuju iz tijela. Iako njihove koncentracije u tim razdobljima variraju zbog različite prehrane ili uporabe proizvoda koji ih sadržavaju, istraživanja su dokazala da u duljim razdobljima u organizmu ipak postoji pseudo-stabilna koncentracija i da je dovoljno jedno mjerenje koncentracije u urinu koje može služiti kao prediktor za razdoblje od sljedeća tri mjeseca, pogotovo za monoestere. Ti rezultati su dobiveni iz devet ponovljenih mjerenja. Prema nekim istraživanjima zaključeno je da je potrebno više mjerenja zbog velikih varijacija između pojedinih dana dok druga pokazuju da postoji velika povezanost među mjerenjima dobivenim na dva uzastopna dana. Izgleda da je jedno mjerenje dovoljno za procjenu kratkotrajnih izloženosti – čim je manji vremenski razmak između uzoraka, veća je povezanost. Prema istraživanju koje je mjerilo prenatalnu (28. tjedan gestacije) i postnatalnu (12. mjeseci nakon poroda) koncentraciju flalata, zaključeno je da tako kasna mjerenja nisu dobar pokazatelj izloženosti flalatima tijekom trudnoće. S tim da su postnatalne koncentracije bile više od prenatalnih za većinu metabolita. Pretpostavlja se da se radi o većoj izloženosti, ali još je nepoznato kako je do nje došlo.

Procjena izloženosti ftalatima je često slaba točka epidemioloških studija zbog tehnoloških, logističkih i financijskih ograničenja, a in utero izloženosti su među najvećim brigama. Često su i rezultati nekih mjerenja nejasni, kao smanjenje kvalitete sperme i subkliničke promjene razina cirkulirajućih hormona, ali raste broj dokaza da su te posljedice povezane s izloženošću aditivima u plastici i drugim mogućim endokrinim disruptorima. Kvaliteta sperme i razine hormona u krvi bi mogli služiti kao intermedijarni pokazatelji da je promijenjena funkcija endokrinog sustava veza između izloženosti iz okoliša i kliničkih promjena u smislu razvojnih i reproduktivnih anomalija (Meeker et al. 2009).

Anogenitalna udaljenost je udaljenost od anusa do genitalija i neinvazivna je i dovoljno osjetljiva mjera koja služi kao biomarker za nedostatak androgena ili antiandrogenu aktivnost tijekom fetalnog razvoja. Kod životinja se redovito koristi u toksikološkim studijama i najosjetljiviji je klinički nalaz izloženosti antiandrogenima tijekom razvoja. Pokazuje kojoj količini androgena je muški fetus izložen in utero – veće razine rezultiraju duljom anogenitalnom udaljenošću i normalnim razvojem. Smatra se da takav utjecaj imaju ftalati, i to najviše dietil heksil ftalat (DEHP) i dibutil ftalat (DBP) čiji su učinci već dokazani

na glodavcima (Mendiola et al. 2011). Dok se glodavci okote, nijedan spol nema razvijene vanjske spolne organe, već oba spola imaju genitalni tuberkul, a udaljenost od anusa do tog tuberkula je kod muškog spola dvostruko dulja nego kod ženskog spola. Zajedno s hipospadijama, kriptorhidizmom, malformacijama epididimisa, vas deferensa, seminalnih vezikula i prostate, smanjena anogenitalna udaljenost čini „ftalatni sindrom“. U istraživanju (Swan et al. 2005) u kojem se pokušalo saznati kakav je utjecaj ftalata na mušku novorođenčad tijekom njihovog razvoja, uključene su 134 majke sa svojim sinovima gdje je preko 90% njih izmjerena koncentracija ftalata iznad minimalne detektabilne doze. Njihovim sinovima je mjerena anogenitalna udaljenost u dobi od 2 do 36 mjeseci starosti (srednja dob 16 mjeseci) i to na dva načina – od anusa do prednje baze penisa i skrotalna udaljenost od anusa do stražnje površine skrotuma. Nakon 18 mjeseci teže ju je izmjeriti i koristiti kao pouzdani pokazatelj. Da bi se izbjegao utjecaj tjelesne mase na AG udaljenost, u mjerenjima se koristi anogenitalni indeks koji je omjer anogenitalne udaljenosti i težine (mm/kg). Prema rezultatima, sve žene su bile izložene ftalatima, a anogenitalna udaljenost se smanjivala i širina penisa je bila manja kako su koncentracije ftalata rasle što je u skladu s prije dobivenim rezultatima istraživanja na glodavcima. Treba još napomenuti da je kod ljudi potrebna manja doza da bi se postigao isti učinak. Veća osjetljivost čovjeka se objašnjava sporijim metabolizmom i time sporijom inaktivacijom spojeva.

Kod odraslih postoje studije (Hauser et al. 2006) koje su istraživale kvalitetu sperme, pa je tako u američkoj studiji gdje su uzimali uzorke sjemene tekućine i urina od 168 muškaraca pokazano da postoji povezanost između povišenih koncentracija monobutil ftalata (MBP) i smanjenih koncentracija sperme. Tri godine kasnije, dodatnih 295 muškaraca je uključeno u studiju i mjerene su i razine mono benzil ftalata (MBzP), te su potvrđeni rezultati prijašnje studije.

U švedskom istraživanju (Jonsson et al. 2005) u koje su bila uključena 234 mladića, mjerene su koncentracije specifičnih markera - monoetil ftalata (MEP), mono-2-etil heksil ftalata (MEHP), mono benzil ftalata (MBzP), monbutil ftalata (MBP) i ftalatne kiseline kao nespecifičnog markera izloženosti ftalatima, a stvara se kao produkt njihovog metabolizma. Švedani nisu dokazali povezanost između MBP i MBzP i smanjenog motiliteta spermija kao Amerikanci; on je bio smanjen samo u najvišoj kvartili za MEP. Čak je kod nekih ispitanika ftalatna kiselina bila povezana s poboljšanom funkcijom što se tiče motiliteta spermija, što je u suprotnosti s hipotezom.

Postoji više objašnjenja zašto bi se rezultati toliko razlikovali: u američkoj studiji su sudjelovali muškarci čija je srednja dob bila 35,5 godina i svi su uzeti iz klinike za neplodnost dok su Šveđani bili prosječne starosti 21 godinu i uzeti su iz opće populacije. Nije jasno jesu li muškarci koji su bili u klinici podložniji toksinima (i ftalatima) nego muškarci iz opće populacije i jesu li zbog svoje dobi osjetljiviji na njih.

Prema američkim istraživanjima (Swan et al. 2005), kod glodavaca je skraćena anogenitalna udaljenost povezana s hipospadijom i kriptorhidizmom, ona perzistira u odraslu dob i služi kao prediktor ugrožene reproduktivne funkcije kod odraslih mužjaka. Kod ljudi je skraćena anogenitalna udaljenost povezana s hipospadijama.

Istraživanje (Mendiola et al. 2011) je dokazalo da se anogenitalna udaljenost može koristiti kao indirektni biomarker hormonalnog mikrookoliša u fetalnom razvoju i kao pokazatelj spolne funkcije u odrasloj dobi. Uzeto je 126 muškaraca u dobi od 18-22 godine i premda su svi na očigled bili zdravi, četvrtina ih je imala broj spermija ispod dvadeset milijuna po mililitru što se smatra granicom za smanjenu plodnost dok su izmjerene anogenitalne udaljenosti bile unutar normalnih vrijednosti (srednja vrijednost 51 mm). Međutim, rizik za subfertilnost je povećan 7.3 puta ako se nalaze ispod srednje vrijednosti u odnosu na to ako se nalaze iznad nje. AG udaljenost je tako povezana s morfologijom spermija, njihovim motilitetom i brojem i može služiti kao biomarker izloženosti antiandrogenima u fetalnom razvoju.

Metabolizam ftalata u tijelu ovisi o veličini i strukturi diestera i može se odvijati preko prve faze u kojoj se događa hidroliza i oksidacija i druge faze u kojoj se događa konjugacija. Budući da je monoester biološki aktivniji oblik, oni koji su predodređeni da ga više stvaraju i zadržavaju, mogu biti osjetljiviji na njegove štetne učinke (ENHS 2003).

Može se zaključiti kako još uvijek nema sigurnih dokaza o djelovanju ftalata na kvalitetu sperme kod odraslih muškaraca, a rezultati provedenih istraživanja još su uvijek ograničeni i nekonzistentni.

4.1.2. Bisfenol A

Bisfenol A (BPA) se naveliko koristi u industriji polikarbonatne plastike i kao takav se nalazi u predmetima široke uporabe (pakiranja hrane, vodovodni spremnici i cijevi, dječje bočice itd.). To je polimer koji se s vremenom raspada (pogotovo pod utjecajem topline) i njegovi monomeri se otpuštaju u hranu i vodu, pa je tako američka studija pokazala da je kod 93% opće populacije moguće dokazati BPA u organizmu. Odrasli ga metaboliziraju putem glukuronizacije u jetri. Biološki poluživot mu je oko 6 sati, a potpuno se izluči iz tijela u 24 sata i to putem urina što se koristi za procjenu izloženosti u proteklom danu. (Mendiola et at. 2010) Trebalo bi saznati kolika je pouzdanost markera iz urina da se na temelju njih može procijeniti izloženost u duljem vremenskom razdoblju kao što je slučaj sa ftalatima. Prema istraživanju (Mahalingaiah et al. 2008) jedno mjerenje iz urina bi bilo dovoljno da se procjeni kojoj kategoriji izloženosti pripadaju, ali s dva mjerenja, rezultati bi bili sigurniji i točniji. Iz istraživanja na glodavcima (Mendiola et al. 2010) je pokazano da djeluje na smanjenje epididimisa i dnevne proizvodnje spermija, povećanu težinu prostate i smanjenje razine testosterona preko inhibicije testikularne steroidogeneze gdje smanjuje broj receptora za testosteron i ima antagonistički efekt na njih. Kod ljudi se zapaža sekularno smanjenje razine testosterona i broja spermija što bi moglo biti povezano sa stalno rastućim izlaganjima endokrinim disruptorima koji kao i BPA imaju estrogene i antiandrogene učinke.

Studije (Meeker et al. 2009) koje bi potvrdile negativan učinak BPA na ljudima su još uvijek rijetke i nesigurne, ali ukazuju na to da smanjuju razine folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i libido u muškaraca i povećavaju šansu za erektilnu disfunkciju dok kod žena mogu imati ulogu u nastanku sindroma policističnih jajnika. Kod oba spola smanjuju razine slobodnog i ukupnog testosterona

Jedno od rijetkih istraživanja (Mendiola et al. 2010) koje se bavilo reproduktivnom funkcijom u odraslih plodnih muškaraca je provedeno u SAD-u 2011. godine. Uključeno je bilo 375 muškaraca i preko 90% ih je imalo mjerljive razine BPA u urinu. Nisu nađeni negativni učinci na kvalitetu sperme što se tiče volumena, motiliteta i morfologije spermija. Jedini značajniji rezultat je povezanost BPA sa glikoproteinom (Sex hormon binding globulin – SHBG) koji prenosi muški spolni hormon testosteron i ženski spolni hormon estradiol. Normalno testosteron snižava njegove razine u krvi, a estrogen ga povisuje. U ovom istraživanju razine SHBG su bile iznad normalnih vrijednosti što se objašnjava estrogenim

djelovanjem BPA ili smanjenjem proizvodnje androgena. Nema promjena u razinama luteinizirajućeg hormona (LH) niti folikulostimulirajućeg hormona (FSH), vjerojatno jer je podražaj preslab da bi izazvao promjene u mehanizmu povratne sprege.

4.1.3. Dietilstilbestrol

Dietilstilbestrol (Reed & Fenton 2013) (DES) je sintetski estrogen razvijen 1938. godine. Ima slični afinitet za estrogeni receptor, ali je pet puta potentniji od prirodnog hormona estradiola. Liposolubilan je i dobro se apsorbira, pa postiže maksimalnu koncentraciju u krvotoku za 20-40 minuta. Primarni poluvijek mu je 3-6 sati, a zbog enterohepatične cirkulacije sekundarni poluvijek je 3-6 dana. Izlučuje se urinom.

DES je transplacentarni karcinogen, teratogen i endokrini disruptor koji utječe na više ciljnih tkiva reproduktivnog sustava. Potiče stvaranje aneuploidnih stanica, promjene u mitohondrijskoj DNA i onemogućava pravilno stvaranje mikrotubula. Kroz genetske i epigenetske modifikacije mijenja gensku ekspresiju estrogenskog receptora (ER-α) koji mu je glavni receptor u reproduktivnom sustavu. Zbog toga je koncentracija DES-a u reproduktivnom sustavu i do tri puta veća nego u krvotoku.

Kod glodavaca DES potiče promjene na genima koji sudjeluju u diferencijaciji reproduktivnog trakta i u metilaciji DNA na mjestima povezanima s tkivima koja su osjetljiva na estrogen. To dovodi do trajnih promjena na tim tkivima koja za svoju aktivnost više ne trebaju estrogensku stimulaciju što objašnjava povećane šanse za karcinome. Kod miševa izloženih DES-u je potvrđeno da godišnje imaju manje okota i manje mladunaca što je ovisilo o dozi kojoj su bili izloženi, a primijećene su i stanične i strukturalne abnormalnosti reproduktivnog trakta. Povećana im je incidencija uterinih adenokarcinoma, cervikalnih i vaginalnih karcinoma i tumora mliječnih žlijezda. Također, smanjena je sekrecija testosterona, i smanjena osjetljivost seminalnih vezikula na testosteron što je dovelo do njihove involucije i feminizacije.

U ljudi, najviše se davao trudnicama u prvom trimestru trudnoće da bi se spriječili pobačaji zbog nedostatka progesterona i kasnije u trudnoći za zaustavljanje preuranjenih

trudova ili liječenje probojnog krvarenja. Još se koristio u terapiji raka prostate i dojke, za inhibiciju laktacije i povećanja dojki nakon poroda, zaustavljanje rasta kod previsokih djevojaka, kao postkoitalna kontracepcija itd. Zbog svoje široke primjene, pretpostavlja se da je pod njegovim utjecajem između četrdesetih i sedamdesetih godina dvadesetog stoljeća bilo preko 10 milijuna ljudi. Davao se stoci i peradi da bi brže dobivali na težini, pa je i na taj način ulazio i prehrambeni lanac čovjeka.

Ženama kojima je davan da bi smanjio mogućnost prijevremenih trudova je zapravo inducirao prijevremeni porod. Za to se saznalo 1953. godine ali je svejedno ostao u upotrebi narednih dvadesetak godina. Kod tih žena je povećan rizik za rak dojke za 30 – 50% i to nakon 20 – 30 godina nakon izloženosti jer se u vrijeme trudnoće dojke razvijaju pod utjecajem estrogena.

Kćeri tih žena su transplacentarno bile izložene DES-u i kod njih je utvrđena 40 puta veća šansa za vaginalni karcinom bistrih stanica (engl *clear cell carcinoma*). Vaginalni karcinom se obično javlja kod starijih žena i to češće kao karcinom pločastih stanica. Najmlađa bolesnica je imala sedam godina. Kod trećine te populacije (25-33%) nađene su promjene reproduktivnog sustava – suženja i pregrade cerviksa, hipoplastični kavum uterusa, nepravilan oblik u smislu suženja ili proširenja, te maternica u obliku slova T – koje ipak nemaju značajniju ulogu i trudnoći ili razvoju bolesti. Ostale nađene abnormalnosti uključuju paraovarijske ciste, multiple lezije reproduktivnog trakta i veću učestalost pojave lejomioma. Čak kod 90% žena je potvrđena vaginalna adenoza (Laronda et al. 2012).

Od funkcionalnih abnormalnosti, registrirane su one koje je DES trebao spriječiti kod njihovih majki – dvostruko veći udio neplodnosti (33% prema 14% u općoj populaciji), postotak donošene djece u njihovim prvim trudnoćama je manji nego u općoj populaciji (85% prema 64%), 20% ih ima pobačaj u prvoj trudnoći , a rizik za ektopičnu trudnoću im je 3-5 puta viši. Imaju i dvostruko veću šansu za prijevremeni porod (20% prema 8%). Većina tih stanja je potencirana i promjenama na vaginalnom epitelu (Reed & Fenton 2013).

Žene koje su prenatalno bile izložene DES-u su imale su povećani rizik za nastup menarhe (prije desete godine), iako je to povezano i s drugim čimbenicima kao što su hipertenzija u trudnoći ili mala porođajna težina. Još neke od posljedica su hirzuitizam, iregularni ciklusi i povećane razine prolaktina i testosterona. One ulaze u menopauzu prije 45. godine i imaju dva puta veći rizika za rak dojke nakon 40. godine što se objašnjava povećanjem broja duktalnih stanica koje su izložene pojačanoj aktivaciji receptora.

Kod muškaraca prenatalno izloženih DES-u povećana je incidencija abnormalnosti reproduktivnog trakta s 5-8% u općoj populaciji na 15-32%. Radi se o kriptorhidizmu, hipospadiji, mikrofalusu, epididimalnim cistama. Moguć je povećan rizik od karcinoma jer kod nekih muškaraca nisu u potpunosti involuirale Müllerove cijevi zbog estrogenog djelovanja DES-a (Kinch 1982).

Još nema studija na ljudima koje bi uključivale treću generaciju (unuci žena koje su uzimale DES) jer je prerano, ali na glodavcima je uočeno da je još uvijek povećan rizik za tumore reproduktivnog sustava kod žena, a kod muškaraca je 20 puta povećan rizik za hipospadiju (Reed & Fenton 2013).

4.2. Ostale tvari koje mogu djelovati kao endokrini disruptori

Današnja poljoprivreda intenzivno koristi pesticide radi povećanja proizvodnje. Mnogi od njih imaju djelovanje endokrinih disruptora. Sve je više dokaza da djeluju na sposobnost razmnožavanja životinjskih populacija koje žive u tim područjima tako što ometaju razvoj spolnih organa. Predmet istraživanja su najčešće gmazovi i vodozemci. U kanadskom istraživanju (McDaniel et al. 2008) u uzorcima krvi dvije vrste žaba nađeni su pesticidi atrazin i metolaklor za koje se pretpostavlja da imaju estrogeno djelovanje. Jedini dokaz nađen je u mužjaka koji su imali 6 puta veću učestalost testikularnih oocita od kontrola izvan poljoprivrednih područja (42% prema 7%). Nije bilo razlika u koncentracijama spolnih hormona između izloženih žaba i kontrola, a nisu nađene ni promjene u proizvodnji spolnih stanica ili funkciji spolnog sustava. Samo u jednog mužjaka detektiran je vitelogeninu sličan protein koji služi kao biomarker izloženosti okolišnim estrogenima.

Najpoznatiji primjer endokrine disrupcije je kod aligatora na jezeru Apopka na Floridi. Pesticidi atrazin, alaklor i cijanazin, bisfenol A, dikofol, diklorodifeniltrikloetan (DDT) se vežu na njihove tkivne receptore za estrogen i kod mužjaka uzrokuju mali penis, testikularne abnormalnosti i smanjene razine testosterona (Rider et al. 2010). Kod ženki su primjećene abnormalnosti jajnika i povećane razine estradiola. Nakon usporedbe aligatorskih i humanih estrogenskih receptora, pokazano je da postoji različit afinitet tih spojeva za estrogenski

receptor α (ERα), ali kod obje vrste postoji vezanje za receptor i estrogensko djelovanje različite jakosti. Ipak, aligatorski ER ima veći afinitet za ksenoestrogene što uzrokuje njihovo jače djelovanje.

Polifluorirane kemikalije (PFC) se koriste kao surfaktanti jer odbijaju prljavštinu, vodu i ulja (Jensen & Leffers 2008). Vrlo su otporni na razgradnju i dugo ostaju u okolišu. Nađeni su u vodi, zraku, zemlji, čak i u polarnim krajevima. Većina ljudi ih ima u svojem organizmu, a u krvi se vežu na proteine. Sumnja se da djeluju kao endokrini disruptori gdje smanjuju razine testosterona i povisuju razine estradiola. EU je zabranila njihovu proizvodnju 2000. godine i korištenje 2008. godine, ali u upotrebi su još uvijek stotine sličnih spojeva.

Estrogeno djelovanje imaju i raspadni produkti nonilfenol polietoksilata koji se masovno koriste kao industrijski surfaktanti. Čak je i dokazano da uzrokuju apoptozu stanica u gonadama i tako induciraju stresni odgovor organizma otpuštanjem kortikosterona iz kore nadbubrežne žlijezde (Chang 2010).

Od anorganskih spojeva poznato je estrogeno djelovanje teških metala poput aluminija, antimona, barija, kadmija, kroma, bakra, žive itd. Imaju široku primjenu u industriji, pa lako ulaze u organizam i vezanjem na estrogeni receptor imaju agonističko djelovanje na tkiva (Darbre 2006).

5. Okolišni biomarkeri i rano upozorenje bolesti

Svjetska zdravstvena organizacija je 2002. godine procijenila da je 23% ukupnog svjetskog DALY iznosa povezano s okolišnim čimbenicima (DALY je Disability-adjusted Life Year, broj koji pokazuje koliko godina života je izgubljeno zbog bolesti, invaliditeta ili smrti). Oni imaju veliki utjecaj na morbiditet na globalnoj razini, pa je potrebno učiniti procjenu rizika globalnog opterećenja bolestima čiji se uzroci mogu pripisati okolišnim čimbenicima. U procjeni utjecaja na zdravlje ljudi, u eksperimentima se najčešće koriste životinjski modeli čiji se rezultati ekstrapoliraju na ljudski organizam. Analogno procjeni rizika za ljude, rade se i procjene za zaštitu ekosustava. Tu se javlja problem definicije „zdravlja“ ekosustava jer je to skup kompleksnih procesa i dinamičkih interakcija. Kao alternativa koriste se ključni dijelovi ekosustava, pa se štetne posljedice prate na pojedinim osjetljivim vrstama koje ga predstavljaju i služe kao rano upozorenje za pad populacije i preko toga ishod bitan za cijeli ekosustav (Galloway 2006).

Ako se kombiniraju procjene rizika za ekosustave i čovjeka, postižu se realniji i balansiraniji rezultati. Tako se lakše može doznati koji su izvori zagađenja, putevi prijenosa i načini izloženosti. Zajedničko promatranje mehanizama koji vode do sličnih bioloških učinaka, korištenje zajedničkih dokaza i usporedba rezultata trebali bi razjasniti njihovo djelovanje i izbjeći da se prihvatljivi rizik za okolinu pokaže prevelik za čovjeka i obrnuto. Integracija tih procesa bi pružila rano upozorenje još neidentificiranih rizika za ljude i životinje što u konačnici znači da bi cijeli proces bio kvalitetniji, jeftiniji i imao veću vrijednost u predviđanju okolišnih učinaka. Primjer za to je nađena imunotoksičnost kod tuljana koji su bili izloženi dioksinu sličnim tvarima, pa se javio rizik da u opasnosti budu ribari i njihove obitelji. Razvoj molekularnih i genetičkih biomarkera pojačane osjetljivosti omogućio bi otkrivanje izloženosti okolišnim čimbenicima za koje se još ne zna ili za koje se tek pretpostavlja da su štetni.

SZO je 2003. godine objavila smjernice za integraciju procesa procjene rizika za čovjeka i ekosustave i one uključuju (Munns et al. 2003):

a) poboljšanje komunikacije između zdravstvenih i ekoloških disciplina
b) usklađivanje metoda procjene i nadzora izloženosti
c) razvoj metoda za usporedbu rizika različitih ishoda

d) razvoj zajedničkih ishoda među različitim populacijama
e) poboljšanje razumijevanja mehanizama na različitim razinama ekosustava.

Uključivanje biomarkera u proces procjene rizika je nužno da bi se mogle zadovoljiti navedene smjernice. U ovom kontekstu biomarkeri su funkcionalne mjere izloženosti stresorima izražene na sub organizmalnoj (struktura, funkcija i evolucija dijelova pojedinog organizma od razine molekule do organskog sustava uključujući biokemiju, proteomiku, genetiku, molekularna i stanična biologija, neurobiologija i fiziologija), fiziološkoj ili bihevioralnoj razini. Prema tome, mogu se mjeriti molekularne, stanične, genetske, imunološke i fiziološke razine toksina. Zbog napretka u molekularnoj biologiji i analitičkim znanostima razvijaju se novi i osjetljiviji biomarkeri izloženosti i efekta koji se zajedno s prilagođenim kliničkim dijagnostičkim metodama koriste za procjenu rizika u ekosustavima.

Ne postoji nijedan biomarker koji bi jednoznačno izmjerio status ekosustava ili zdravlja čovjeka. Čak i da postoji, teško bi bilo razlikovati prije spomenute dijagnostičke kategorije samo na temelju tog jednog mjerenja, pogotovo kod ljudi. Zato liječnici u dijagnostiku uključuju i individualne karakteristike bolesnika, znakove i simptome kod kliničkog pregleda i rezultate slikovnih i laboratorijskih testova (Galloway 2006).

Okolišni monitoring je mjerenje koncentracije zagađivača i njihovih produkata razgradnje u okolišnim medijima (zrak, zemlja, voda, hrana, građevni materijali…) što je ključno za otkrivanje izvora zagađenja. Za potpuno razumijevanje cijelog procesa, važno je identificirati sve načine izloženosti čovjeka, prema kojima se onda konstruiraju različiti modeli. Oni su potrebni da bi se mogla predvidjeti unutarnja doza promatrane tvari. Izrađuju se uz pomoć standardiziranih previđenih razina aktivnosti spojeva, ponašanja i kretanja pojedinaca ili populacije, njihove prehrane itd. Treba kvantificirati važnosti svakog od puteva izloženosti i razine spojeva koje se u njima apsorbiraju. To je teško odrediti za odrasle, ali još teže za djecu jer se razvijaju i stalno mijenjaju svoje ponašanje i mjesto boravka kako rastu. Za osmišljavanje prikladnog modela izloženosti treba uzeti u obzir svaki stadij života djeteta, a tu se mogu javiti mnoge greške i nesigurnosti. Važno je uzeti u obzir i prijenos s majke na dijete. Majke apsorbiraju spojeve iz okoline standardnim putovima – inhalacijom, ingestijom ili preko kože i nakon njihove transformacije, prenose ih fetusu preko posteljice. To su jedinstveni načini izloženosti koji bi mogli predstavljati ozbiljan rizik za fetus u razvoju, ovisno o dozi i vremenu izloženosti (WHO 2011).

Ljudski (humani) biomonitoring je direktno mjerenje unutarnje doze toksičnih tvari iz okoline ili njihovih metabolita u ljudskom organizmu (npr. u krvi ili urinu). Unutarnja doza je količina tvari apsorbirana putem ingestije, inhalacije i preko kože. Jednom kad je u tijelu, ulazi u razne metaboličke procese u kojima se mijenja, skladišti ili izlučuje. Da bi se biomarker mogao u potpunosti shvatiti i protumačiti, potrebno je znati gdje je on smješten u tim procesima i prema tome odrediti je li to marker izloženosti, vjerojatnosti ili učinka.

Na posljetku, izloženost zagađivačima ovisi o njihovoj biodostupnosti, koja opisuje uz koji su medij vezani i na koji način dostupni apsorpciji u organizam što je najteže odrediti.

Da bi se shvatile bolesti uzrokovane okolišnim čimbenicima, važno je poznavati cijelu kaskadu događaja od otpuštanja zagađivača u okoliš, preko apsorpcije, djelovanja u tijelu i uzrokovane štete i, na kraju, razvoja bolesti. Definiranje intenziteta i utjecaja izloženosti je glavna točka interesa u razumijevanju okolišem uvjetovanih bolesti.

Biomarkeri se mogu koristiti u kliničke i istraživačke svrhe, u javnom zdravstvu i u policama osiguranja. Pristup u ljudskom biomonitoringu može biti deskriptivan (odgovara na pitanja tko je izložen, gdje, kako dugo i kakav to utjecaj ima na društvo) i temeljen na riziku gdje ako se zna odnos doze i učinka, može se raditi procjena rizika, a ako je on nepoznat, rabi se prethodno razvijeni model ili životinjski modeli.

Za dobivanje potpunih informacija, važno je znati iz kojeg se tkiva može izolirati određeni marker i na koja pitanja ta informacija daje odgovor. Važna funkcija biomonitoringa je određivanje referentnih vrijednosti po kojima bi se znala izloženost zagađivačima u općoj populaciji. Tako se mogu identificirati dijelovi populacije koji su pod većim rizikom.

Zbog kompliciranе biokemije markera, okolišne izloženosti i bolesti, moguće je izmjeriti krivi marker, dobiti točne, ali neprikladne rezultate i iz toga izvući krive zaključke. Zato je važna konzultacija s toksikolozima i stručnjacima iz područja zdravstvene ekologije. Mnogi markeri koji su korisni u istraživanjima, nemaju dovoljnu preciznost koja je potrebna za kliničku upotrebu i osjetljivi su na laboratorijske pogreške.

Napredovanjem analitičke kemije, jako se povećala mogućnost detekcije okolišnih kemikalija u tijelu, pa se rutinski mogu mjeriti vrlo niske razine. Sada je problem odrediti razliku između mjerljive izloženosti i značajne izloženosti, one koja nosi rizik za štetu ili bolest. Ta informacija je još uvijek nepoznata za veliku većinu kemijskih spojeva iz okoliša i

posebno je kompleksna za izloženosti u djetinjstvu koje se mogu činiti beznačajne, ali ako se dogode i kritičnim točkama razvoja, mogu se manifestirati u odrasloj dobi.

Biomarkeri su najkorisniji kad su poznate sve okolnosti izloženosti. Od otpuštanja u okolinu, do razvoja bolesti – izvor, putevi izloženosti, odnos između doze i učinka, kada su i koliko dugo ispitanici bili izloženi. Tako se najlakše shvaća njihov biološki efekt koji mijenja strukturu i funkciju i na posljetku dovodi do bolesti (WHO 2011).

Kumulativni učinak endokrinih disruptora, kao i drugih štetnih čimbenika okoliša, ostaje najveći problem dijagnostike, liječenja i praćenja. Naime, upravo zbog njega, dakle činjenice da je za neke tvari apsorpcija veća od brzine izlučivanja (ili se tvar samo djelomično izlučuje/razgrađuje), doći će do nakupljanja u organizmu. Poznavanjem tvari iz našeg okoliša (njihovih kemijskih struktura, djelovanja, razgradnje i sl.) koje mogu štetno utjecati na naše zdravlje olakšat ćemo i dijagnostiku, liječenje i praćenje istih.

6. Zaključak

Potpuno poznavanje izloženosti ključno je za razumijevanje bolesti uzrokovanih okolišnim čimbenicima. Izloženost se procjenjuje na temelju modela koji uključuju istraživanja na životinjama, ljudima i epidemiološke studije u kojima se koriste biomarkeri i integriraju se svi dostupni podaci. Ipak, zdravstveni sustavi po cijelom svijetu su još uvijek nespremni na primarnu prevenciju utjecaja okolišnih čimbenika i nemaju razvijene mehanizme koji bi odgovorili na njihov sve veći utjecaj na zdravlje čovjeka.

Za većinu endokrinih disruptora još uvijek nisu potpuno poznati mehanizmi djelovanja i učinak na zdravlje. Svaki od njih ima mali utjecaj, ali ako je izloženost svakodnevna i traje duže vrijeme, stvara se kumulativni učinak koji može značajno utjecati na zdravlje jedinke i populacije.

Mogući su i etički problemi ako dijagnostička vrijednost nije do kraja razjašnjena, pa se ne znaju posljedice izmjerenih supstanci, niti njihove referentne vrijednosti koje bi omogućile daljnje djelovanje u smislu prevencije.

7. Literatura

1. Chang LL, Alfred Wun WS, Wang PS (2010) Effects and mechanisms of nonylphenol on corticosterone release in rat zona fasciculata-reticularis cells. Toxicol Sci. 118(2):411-9
2. Darbre PD (2006) Metalloestrogens: an emerging class of inorganic xenoestrogens with potential to add to the oestrogenic burden of the human breast. J Appl Toxicol. 26(3):191-7
3. ENHS (2003) – Phthalates. Absorption, Distribution and Metabolism - http://enhs.umn.edu/current/5103/phth/absorb.html Accessed 11 April 2014
4. EPA (2014) Pesticides. Defining Biomarkers - http://www.epa.gov/pesticides/science/biomarker.html Accessed 15 May 2014
5. Galloway TS (2006) Biomarkers in environmental and human health risk assessment. Marine Pollution Bulletin 53:606–613
6. Hauser R, Meeker JD, Duty S, Silva MJ, Calafat AM (2006) Altered semen quality in relation to urinary concentrations of phthalate monoester and oxidative metabolites. Epidemiology 17:682–691
7. Jensen AA, Leffers H (2008) Emerging endocrine disrupters: perfluoroalkylated substances, Int J Androl. 31(2):161-9
8. Jonsson BA, Richthoff J, Rylander L, Giwercman A, Hagmar L (2005) Urinary phthalate metabolites and biomarkers of reproductive function in young men. Epidemiology 16, 487–493
9. Kinch AHR (1982) Diethylstilbestrol in pregnancy: an update, CMA JOURNAL; 127
10. Laronda MM, Unno K, Butler LM, Kurita T (2012) The development of cervical and vaginal adenosis as a result of diethylstilbestrol exposure in utero, Differentiation 84(3):252-60
11. Mahalingaiah S, Meeker JD, Pearson, KR, Calafat AM, Ye X, Petrozza J, Hauser R (2008) Temporal variability and predictors of urinary bisphenol A concentrations in men and women. Environ. Health Perspect. 116:173–178.
12. McDaniel TV, Martin PA, Struger J, Sherry J, Marvin CH, McMaster ME, Clarence S, Tetreault G. (2008) Potential endocrine disruption of sexual development in free ranging male northern leopard frogs (*Rana pipiens*) and green frogs (*Rana clamitans*) from areas of intensive row crop agriculture, Aquatic Toxicology 88:230–242

13. Meeker JD, Sathyanarayana S, Swan SH (2009) Phthalates and other additives in plastics: human exposure and associated health outcomes. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 364(1526):2097-113
14. Mendiola J, Jørgensen N, Andersson AM, Calafat AM, Ye X, Redmon JB, Drobnis EZ, Wang C, Sparks A, Thurston SW, Liu F, Swan SH (2010) Are environmental levels of bisphenol a associated with reproductive function in fertile men? Environ Health Perspect. 119(1):A11
15. Mendiola J, Stahlhut RW, Jørgensen N, Liu F, Swan SH (2011) Shorter anogenital distance predicts poorer semen quality in young men in Rochester, New York. Environ Health Perspect. 119(7):958-63
16. Munns WE, Suter GW, Damstra T, Kroes R., Reiter LW, Marafante E, (2003) Integrated risk assesment, results from an international workshop. Human and Ecological Risk Assesment 9, 379-386
17. Reed CE, Fenton SE (2013) Exposure to Diethylstilbestrol during Sensitive Life Stages: A Legacy of heritable health effects. Birth Defects Rec C Embryo Today. 99(2)
18. Richiardi L, Bellocco R, Adami HO, Torrång A, Barlow L, Hakulinen T, Rahu M, Stengrevics A, Storm H, Tretli S, Kurtinaitis J, Tyczynski JE, Akre O, (2004) Testicular cancer incidence in eight northern European countries: secular and recent trends. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 13(12):2157-66
19. Rider CV, Hartig PC, Cardon MC, Lambright CR, Bobseine KL, Guillette Jr LJ, Gray Jr LE, Wilson VS, (2010), Differences in sensitivity but not selectivity, of xenoestrogen binding to alligator versus human estrogen receptor alpha. Environ Toxicol Chem. 29(9):2064–2071
20. Rosenkrantz B (2003) Biomarkers and Surrogate Endpoints in Clinical Drug Development. App Clin Trials 30-34
21. Rujnić Sokele M (2012) Bisfenol A – kemikalija oko koje se lome koplja, Polimeri 33:3-4
22. Strimbu K, Tavel JA (2010) What are Biomarkers? Curr Opin HIV AIDS 5(6):463–466
23. Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, Mao CS, Redmon JB, Ternand CL, Sullivan S, Teague JL (2005) Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. Environ Health Perspect. 113(9):A583

24. Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, Giwercman A, Grandjean P, Guillette Jr. LJ, Jegou B, Jensen, TK, Jouannet P, Keiding N, Leffers H, McLachlan JA, Meyer O, MülIer J, Rajpert-De Meyts E, Scheike T, Sharpe R, Sumpter J, Skakkebaek NE (1996) Male Reproductive Health and Environmental Xenoestrogens. Environ Health Perspect. ; 104(4):741–803
25. Walker CH (1998) Biomarker Strategies to Evaluate the Environmental Effects of Chemicals, Environmental Health Perspectives 106 (2)
26. Walton MK (2011) Biomarkers and Qualification - http://www.ninds.nih.gov /news_and_events/proceedings/SMA_biomarkers _slide.pdf Accessed 11 May 2014
U tekstu: Walton 2011
27. WHO (2011) Biomarkers and Human Monitoring, Children's Health and the Environment - http://www.who.int/ceh/capacity/biomarkers.pdf Accessed 10 May 2014
28. WHO (2012) Endocrine Disrupting Chemicals - http://www.environmentalhealthnews .org/ehs/news/2013/pdf-links/EDC%20summary%20layout%20040213-3.pdf
Accessed 23 April 2014
29. Wohlfahrt-Veje C, Main KM, Skakkebaek NE (2009) Testicular dysgenesis syndrome: foetal origin of adult reproductive problems. Clin Endocrinol (Oxf). 71(4):459-65

8. Životopis

Mario Brljak student je šeste godine Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u Zagrebu. Rođen je 4. lipnja 1989. godine u Varaždinu gdje pohađa 2. osnovnu školu od 1996. do 2004. godine. Prvu gimnaziju Varaždin upisao je 2004., a maturirao je 2008. godine. Od 2008. studira na Medicinskom fakultetu u Zagrebu. Koristi se engleskim i njemačkim jezikom. Svira gitaru i bavi se fotografijom. Dvije godine je urednik fotografije u studentskom časopisu „Medicinar“.