



Primjena
biomonitoringa
za procjenu izloženosti živi
tijekom prenatalnog perioda
u dvije Hrvatske regije
uporabom standardizirane
metodologije
Svjetske zdravstvene
organizacije

Zagreb, listopad 2017.

Izdavač

Hrvatski zavod za javno zdravstvo

Glavni urednik

Doc. dr. sc. Krunoslav Capak, prim. dr. med.

Urednik

Doc. dr. sc. Nataša Janev Holcer, dipl. ing. biol.

Autori

Doc. dr. sc. Krunoslav Capak, prim. dr. med.

Doc. dr. sc. Nataša Janev Holcer, dipl. ing. biol.

Pavle Jeličić, dr. med., spec. epidem.,univ. mag. admin. sanit.

Dr. sc. Mario Šekerija, dr. med.

Dr. sc. Jasna Jurasović, dipl. ing. kem.

Lovro Bucić, dr. med.

Mr. sc. Anica Benutić, dipl. ing. prehr. tehnolog.

Ivan Trumbetić, dipl. sanit. ing.

Petra Čukelj, mag. psih.

Dizajn i oblikovanje

Tko zna zna, Zagreb

Tisak

Intergrafika – TTŽ d. o. o., Zagreb

Naklada

400 primjeraka

CIP zapis je dostupan u računalnome katalogu Nacionalne i sveučilišne knjižnice u Zagrebu pod brojem 000978045.

ISBN 978-953-7031-69-5

Sadržaj

Predgovor	5
1. Uvod	8
2. Biomonitoring u Hrvatskoj	11
2.1.Demografski podaci u Hrvatskoj	14
2.2.Određivanje bioloških pokazatelja za procjenu izloženosti	16
3. Provedba projekta Svjetske zdravstvene organizacije ..	19
3.1.Područje istraživanja	20
3.2.Ispitanice, materijali i metode	21
3.3.Procedura uzorkovanja te mjerne tehnike i analize ..	23
4. Rezultati	25
5. Osvrt na rezultate	33
6. Zaključci	40
7. Zahvale	43
8. Popis institucija koje su sudjelovale u projektu	44
9. Sažetak	47 10.
Abstract	50 11.
Korištena literatura	53



HBM

Predgovor

Čovjek je u svom životnom i radnom okolišu svakodnevno izložen utjecaju različitih kemijskih, fizikalnih, bioloških i socijalnih čimbenika. Onečišćenje okoliša povećava rizike za ljudsko zdravlje. Prevencija bolesti najučinkovitija je kada su prepoznati uzroci, određeni izvori i putevi izloženosti te kada je izloženost uklonjena ili svedena na najmanju moguću mjeru.

Kako bi proučili populaciju izloženu različitim i brojnim kemikalijama i spojevima znanstvenici sve češće uključuju "biološke markere" (biomarkere), koji su moćan alat u službi precizne procjene osobne izloženosti, ranog prepoznavanja okolišem uvjetovanih i profesionalnih bolesti, utvrđivanja osjetljivih skupina ljudi i boljeg poznavanja povezanosti doze i odgovora, posebice pri niskim dozama izloženosti.

Biomonitoring u ljudi ("human biomonitoring" – HBM) kao znanstvena tehnika omogućava procjenu izloženosti pojedinca štetnim čimbenicima iz okoliša te procjenu tjelesnog opterećenja štetnim čimbenicima mjerenjem pokazatelja – biomarkera. U tu svrhu potrebno je izabrati optimalan biološki uzorak koji će omogućiti što točniju procjenu koncentracije na mjestu učinka u organizmu. Urin, krv i kosa, nokti, majčino mlijeko, slina, zubi, feses, izdahnuti zrak, znoj, itd., dostupni su za određivanje izloženosti u čovjeka.

HBM daje vrijedne i precizne informacije o ukupnoj unutarnjoj izloženosti pojedinca iz okoliša, identificira potencijalne zdravstvene rizike iz različitih izvora i pomaže u utvrđivanju čimbenika s negativnim zdravstvenim učinkom u određenim populacijskim skupinama. Prednosti su u tome što omogućuje bolji uvid u dospjelu i prisutnu količinu kemijskih čimbenika iz okoliša u organizam čovjeka, utvrđuje okolišne rizike i služi za razvoj i provođenje mjera za smanjenje i sprječavanje izloženosti štetnih čimbenicima.

Brošura je izrađena u sklopu Odsjeka za biološki monitoring, Službe za zdravstvenu ekologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, koji je organizirao i koordinirao istraživanje projekta pod nazivom "Primjena biomonitoringa za procjenu izloženosti živi tijekom prenatalnog perioda u dvije hrvatske regije uporabom standardizirane metodologije svjetske zdravstvene organizacije".



Priprema uzorka krvi pupkovine za pohranu do analize

Rezultati istraživanja dali su uvid u izloženost živi rodilja i njihove novorođene djece iz obalne i kontinentalne regije. Stečeno znanje će biti usmjereno na praćenje novih rizika, nastavak biomonitoringa određenih populacijskih skupina Hrvatske u životnom i radnom okolišu, kao i na izradu učinkovitih zdravstvenih intervencija. Podaci dobiveni ovakvim istraživanjima ujedno vode i do povećanja svijesti opće populacije o potencijalnim štetnim učincima pri izloženosti određenim čimbenicima u životnom i radnom okolišu.

Kao značajan daljnji korak koji je tim Službe za zdravstvenu ekologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo postigao je i sudjelovanje u petogodišnjem projektu "European Human Biomonitoring Initiative (HBM4EU)", u kojem pored Hrvatske sudjeluje 26 zemalja u sklopu programa Europske Unije za istraživanje i inovacije Obzor 2020. Projekt HBM4EU temelji se na biološkom monitoringu u svrhu procjene izloženosti kemikalijama ljudi diljem Europe, u svrhu boljeg razumijevanja povezanih zdravstvenih učinaka i kvalitetnije procjene rizika od izloženosti kemikalijama. Projektom HBM4EU će se spojiti zdravstvene informacije i rezultati biomonitoringa u ljudi s ciljem razumijevanja uzročno-posljedičnih veza pri izloženosti kemikalijama. Procijenit će se mogući zdravstveni učinci kemijske izloženosti u različitim dobnim skupinama oba spola, a ispitat će se i utjecaj čimbenika kao što su socio-ekonomski status, način života, prehrana i uvjeti okoliša. Istražit će se i učinci izlaganja različitim kemikalijama i primijeniti najnovija tehnologija kako bi se ispitale nove tvari u humanim uzorcima koje mogu poslužiti kao rana upozorenja za neke buduće opasnosti.



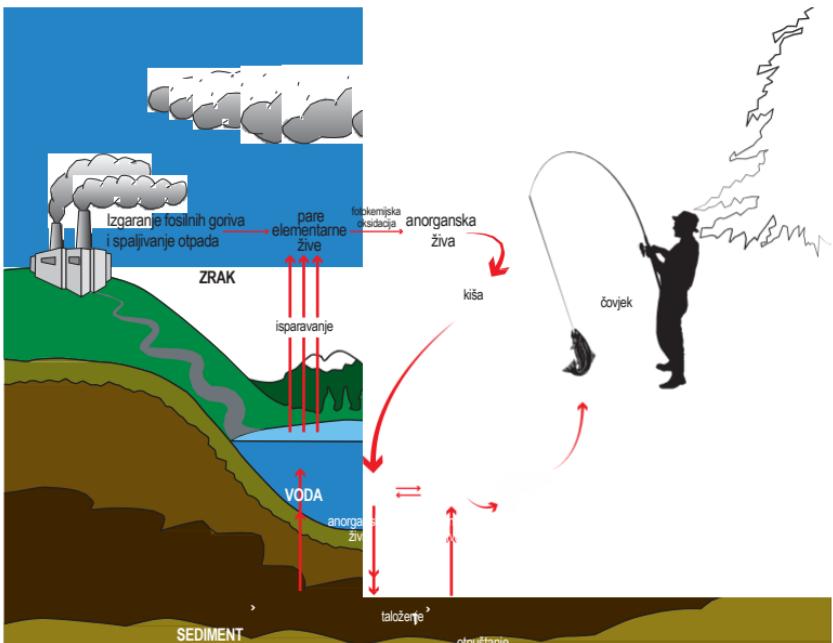
**znanost i politiku
službi zdrave budućnosti**

1.

Uvod

Onečišćenje okoliša živom prepoznato je od znanstvene zajednice kao globalni problem. Živa u okolišu je prirodnog ili antropogenog porijekla. Značajniji antropogeni izvori su rudarstvo i topljenje rude, spalionice otpada i krematoriji. Od prirodnih izvora značajne su vulkanske erupcije i fosilna goriva, a u manjim koncentracijama prirodno se pojavljuje u okolišu uslijed erozije tla. Ispuštanjem iz tih izvora elementarna živa (Hg^0) ulazi u atmosferu, gdje u plinovitom obliku kruži i raspršuje se globalno u okoliš te ulazi u stalni proces kruženja biogeokemijskog ciklusa čiji je sastavni dio i čovjek (Slika 1.). Isparavanjem, elementarna živa prolazi kroz fotokemijsku oksidaciju pri čemu nastaje anorganska živa (Hg^{2+}) koja se povezuje s vodenom parom i kao kiša pada na površinu zemlje. Na zemlji se taloži na površini tla i u vodama. U vodenom okolišu anorganska živa (anHg) može biti inaktivirana prevođenjem u netopivi živin sulfid (HgS), dok se dio žive pomoću metanogenih bakterija mijenja u izuzetno toksične organske živine





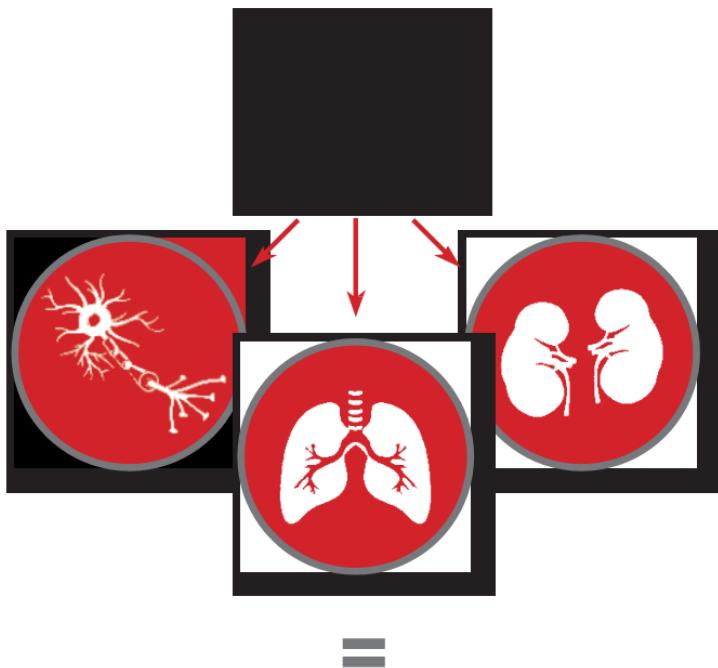
Slika 1. Biogeokemijski ciklus žive

spojeve i prelazi u metilni oblik (Hg-CH_3^+). Konverzija anHg u metilnu živu (meHg) izuzetno je važna zbog dva razloga: a) metilživa je značajno toksičnija od anorganske i b) bakterije koje sudjeluju u metiliranju žive su početni dio hranidbene mreže. Bakterije će ili biti konzumirane od jedinke na višem nivou u hranidbenoj mreži ili otpuštati meHg u vodu koju će apsorbirati plankton, kojega će potom konzumirati riba te će tim putem dosjeti i do čovjeka, koji je na vrhu hranidbene mreže.

Živa (Hg) kao jedan od štetnih čimbenika okoliša ima svojstvo bioakumulacije u živim organizmima te biotransformacije i biomagnifikacije u prehrambenoj mreži. Javlja se u elementarnom,

anorganskom i organskom obliku, a njezina toksičnost, reaktivnost i biološki učinci ovise o njezinu obliku. Kako nije biorazgradiva, ostaje trajno u biogeokemijskom ciklusu.

U ljudskom organizmu nema pozitivnu biološku ulogu, već djeluje toksično na središnji živčani sustav, bubrege i pluća. Otrovanje živom, koje obuhvaća skup simptoma poznatih pod nazivom merkurijalizam, ovisi o načinu izloženosti i kemijskom obliku, unutar kojih razlikujemo akutno i kronično trovanje i djelovanje na različite organe i sustave. Živa djeluje izrazito neurotoksično te je naročito važno izbjegći izloženost u prenatalno doba i u doba razvoja neurološkog sustava. Anorganski i organski živini spojevi se izlučuju u mlijeko, pa predstavljaju i potencijalnu opasnost za djecu tijekom dojenja.



MERKURIJALIZAM

Biomonitoring u Hrvatskoj

2.

Republika Hrvatska je, kao zemlja članica Europske regije Svjetske zdravstvene organizacije, uključena u Europski proces za okoliš i zdravlje od samih početaka (Frankfurt 1989., Helsinki 1994., London 1999., Budimpešta 2004., Parma 2010., Ostrava 2017.). Potpisnica je svih dosadašnjih deklaracija, uključujući i Budimpeštansku deklaraciju iz 2004. godine, koja je posebno težište položila na zaštitu zdravlja i okoliša djece. Parmska deklaracija o okolišu i zdravlju (Parma 2010.), nastavlja se na Budimpeštansku deklaraciju, preuzimajući i dalje kao jedan od temeljnih ciljeva zaštitu zdravlja djece, ali i drugih vulnerabilnih skupina, od zdravstvenih rizika koji proizlaze iz neprimjerjenih uvjeta okoliša kroz provedbu četiri regionalna prioritetna cilja.



Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) je razvila metodologiju i standardne operativne protokole (SOP) za biomonitoring u ljudi u rodilištima s ciljem procjene stupnja prenatalne izloženosti radi smanjenja rizika od bolesti koje nastaju zbog izloženosti toksičnim kemikalijama, štetnim fizikalnim i biološkim čimbenicima (Regionalni prioritetni cilj 4).

Cilj provedbe biomonitoringa u ljudi (HBM) je povezati zdravlje i okoliš u svrhu definiranja specifičnih populacijskih skupina, kao što su primjerice stanovnici seoskih i gradskih područja, trudnice ili djeca, a koji nose veće rizike izloženosti iz životnog i radnog

okoliša. Žene i djeca su, zbog svoje fiziologije, naročito podložni štetnim učincima metala koji se u njih mogu pojačano taložiti tijekom reproduktivne dobi, trudnoće i dojenja, kao i tijekom rasta i razvoja. Ovakav pristup omogućuje uvid u sveopće opterećenje organizma i identifikaciju vjerojatnih puteva izloženosti.

Riba kao dostupan i jeftin izvor hrane visoke nutritivne vrijednosti predstavlja i najvažniji izvor žive. Važno je napomenuti da razina bioakumulacije žive u ribama ovisi o nizu biotičkih i abiotičkih čimbenika: staništu, temperaturi vode, pH vrijednosti, koncentraciji otopljenog kisika te starosti i načinu prehrane ribe, spolu i težini. U višim koncentracijama živa se nakuplja u određenim vrstama riba, osobito predatorima koje su veći rastom i dugovječniji te se nalaze na vrhu hranidbene mreže (npr. morski psi, neke vrste raža, tune, sabljarke), dok će primjerice u plave ribe (srdela, inčun, lokarda) koncentracije biti znatno niže.



Iako je u Hrvatskoj zakonska legislativa usklađena s Uredbama Europske komisije i definira maksimalno dopuštene razine određenih onečišćivača u hrani, nema preporuka o konzumaciji ribe za osjetljive populacijske skupine. Hrvatska propisuje referentne vrijednosti za profesionalno izloženu populaciju, dok za opću

populaciju nisu utvrđene. I Europska agencija za sigurnost hrane je izdala smjernice o konzumaciji ribe za određene osjetljive skupine, no iste nisu obvezujuće niti su široko poznate.

Kako provedba monitoringa u ljudi u Hrvatskoj nije definirana na nacionalnoj razini, a podaci prethodnih istraživanja o izloženosti toksičnim metalima nisu bili kontinuirani, Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HZJZ) je prepoznao potrebu kontinuiranog prikupljanja podataka na području Hrvatske i usporedbe podataka sa istraživanjima provedenim unutar Europske Unije.

Zbog toga provedba HBM istraživanja o prenatalnoj izloženosti živi u dvije hrvatske regije koristeći standardiziranu metodologiju SZO-a predstavlja korak bliže ispunjenju tog cilja.

Onečišćenje u različitim dijelovima Hrvatske dolazi iz naftnih rafinerija, toplinskih elektrana, postrojenja za pretvorbu energije i postrojenja za proizvodnju i preradu prirodnog plina.

Znanstvenici su već 1976. godine prepoznali problem onečišćenja Mediterana kada je pokrenut Akcijski plan za Mediteran i program nadgledanja onečišćenja sa svrhom rješavanja javno zdravstvenog problema izloženosti živi populacije koja učestalo konzumira ribu.

Najveći ekološki problem lokalnog onečišćenja živom u Hrvatskoj je do 1990. godine bila tvornica polivinil klorida u Kaštelanskom



zaljevu, koja je tijekom 40-godišnje proizvodnje u zaljev odložila između 22 i 56 tona žive. Slijedom tih saznanja, u Hrvatskoj su provođena istraživanja koja su pokazala mjerljive koncentracije Hg u sedimentu Jadranskoga mora i povišene koncentracije ukupne (THg) i metil-žive (meHg) u određenim vrstama ribe i školjaka te one upućuju na to da je prehrana ribom glavni izvor izloženosti meHg u općoj populaciji .

Metodologija usporediva s metodologijom SZO-a (Hg u krvi, urinu, kosi, uzorcima ribe i vodi za piće) već je primjenjivana u Hrvatskoj, a rezultati objavljeni u doktorskoj disertaciji i znanstvenim časopisima upućuju na povezanost konzumacije ribe s koncentracijama žive u kosi i krvi. Populacija koja živi u obalnim područjima i na otocima konzumira značajno povećane količine ribe, što upozorava na činjenicu da bi trudnice, dojilje i mala djeca trebali pripaziti na unos ribe u svoju prehranu.

2.1. Demografski podaci u Hrvatskoj

Prema procjeni broja stanovnika (Državni zavod za statistiku, srpanj 2017.), u Hrvatskoj je 2016. godine prebivalo 4.174.300 stanovnika. U 2016. godini u rodilištima Hrvatske ukupno je, temeljem individualnih prijava poroda, registrirano 37.111 poroda s ukupno 37.682 rođenih. Od ukupno rođenih, 37.501 dijete je živorođeno, 181 mrtvorođeno, a od živorođenih je u prvih sedam dana života umrlo 81 novorođenče. U ukupnom broju poroda najučestaliji su oni u dobi 30 – 34 godine (12.620 poroda, odnosno 90,8/1.000 žena ove dobne skupine). Na drugom mjestu, s padom broja i učestalosti poroda, nalaze se roditelji u dobi 25 – 29 godina (10.856 poroda, odnosno 85,9/1.000 žena te dobi). Tablica 1. prikazuje broj poroda, ukupno rođenih, živorođenih, mrtvorođenih i dojenačkih smrti u rodilištima u Hrvatskoj u 2016. godini.

Tablica 1. Broj poroda, ukupno rođenih, živorođenih, mrtvorodnih i umrle dojenčadi u rodilištima u Hrvatskoj u 2016. godini

	Br. poroda	Ukupno rođeni	Živorođeni	Mrtvorodeni	Dojenacke smrti
HRVATSKA	37,111	37,682	37,501	181	101
Rodilišta					
BJELOVAR / O. B. BJELOVAR	573	576	574	2	1
ČAKOVEC / Ž. B. ČAKOVEC	1095	1109	1105	4	2
DUBROVNIK / O. B. DUBROVNIK	940	957	951	6	3
GOSPIĆ / O. B. GOSPIĆ	251	252	252	0	0
KARLOVAC / O. B. KARLOVAC	872	887	884	3	0
KNIN / O. B. KNIN	180	180	180	0	0
KORČULA / D. Z. KORČULA	2	2	2	0	0
KOPRIVNICA / O. B. "DR T. BARDEK"	805	816	810	6	2
METKOVIĆ / D. Z. METKOVIĆ	150	150	150	0	0
NAŠICE / O. Ž. B. NAŠICE	423	427	425	2	0
NOVA GRADŠKA	342	344	344	0	1
OGULIN / O. B. OGULIN	153	154	153	1	0
OSIJEK / K. B. C. OSIJEK	2,005	2,035	2,020	15	9
POŽEGA / O. Ž. B. POŽEGA	444	449	448	1	1
PAKRAC / O. Ž. B. POŽEGA	497	506	506	0	2
PULA / O. B. PULA	1,316	1,330	1,327	3	3
RIJEKA / K. B. C. RIJEKA	2,645	2,667	2,654	13	9
SINJ / D. Z. SINJ	77	77	77	0	0
SISAK / O. B. "DR I. PEDIŠIĆ"	864	876	869	7	1
SLAVONSKI BROD / O. B. "DR J. BENČEVIĆ"	1053	1066	1061	5	1
SPLIT / K. B. C. SPLIT	4,255	4,347	4,327	20	15
ŠIBENIK / O. B. ŠIBENIK	604	611	611	0	1

	Br. poroda	Ukupno rođeni	Živorođeni	Mrtvorodeni	Dojeničke smrti
VARAŽDIN / O. B.					
VARAŽDIN	1,543	1,557	1,551	6	2
VELA LUKA / D. Z. VELA LUKA					
	0	0	0	0	0
VINKOVCI / O. B.					
VINKOVCI	871	873	864	9	1
VIROVITICA / O. B. VIROVITICA					
	652	661	658	3	1
VUKOVAR / O. B. VUKOVAR					
	372	373	373	0	1
ZABOK / O. B. ZABOK	832	842	836	6	1
ZADAR / O. B. ZADAR	1,535	1,556	1,551	5	3
Zagreb / K. B. "MERKUR"	1,746	1,771	1,763	8	0
Zagreb / K. B. C. "SESTRE MILOSRDNICE"	3,031	3,089	3,073	16	4
Zagreb / K. B. C. KLIN. ŽEN. B. I PORODE	3,855	3,943	3,919	24	26
Zagreb / K. B. "SVETI DUH"	2,758	2,818	2,805	13	11
Zagreb / S. B. PODOBNIK	371	378	375	3	0

Izvor: Prijave poroda iz zdravstvenih ustanova objavljen u Hrvatskom zdravstveno-statističkom ljetopisu iz 2016. (<https://www.hzjz.hr/hrvatski-zdravstveno-statisticki-ljetopis-hrvatski-zdravstveno-statisticki-ljetopis-za-2016/>)

2.2. Određivanje bioloških pokazatelja za procjenu izloženosti

U svrhu ocjene utjecaja žive kao toksičnog metala na zdravlje čovjeka, potrebno je izabrati optimalan biološki uzorak koji će omogućiti što točniju procjenu koncentracije na mjestu učinka u organizmu. Prisutnost žive, odnosno produkata njene biotransformacije u organizmu u koncentracijama većim od dozvoljenih, može pravodobno upozoriti na povećanu ekspoziciju, odnosno

apsorpciju. Urin, krv i kosa, krv pupkovine, feces, slina, pubične dlake čovjeka, kao i nokti pokazali su se dostupnim tkivima za određivanje koncentracije žive u ljudskom organizmu.

Kao lako dostupni biološki materijal i najmanje invazivnu metodu pri prikupljanju uzorka, kosu se koristilo u mnogobrojnim istraživanjima kao biomarker izloženosti ljudske populacije, ali i kao bazu za procjenu toksikološkog statusa čovjekova organizma. S obzirom na to da kosa raste prosječnih 1 cm mjesечно, Hg krvljу ulazi u folikul dlake kose i ugrađuje se u vlas. Koncentracija Hg u dijelu kose najbližem vlasisti pokazatelj je nedavne izloženosti. Izloženost osobe živi može se, dakle, procijeniti ovisno o dužini kose i pouzdan je pokazatelj izloženosti metil-živi.



Uzorkovanje i priprema uzorka

Određivanje ukupne žive (THg) u krvi često se koristi za procjenu izloženosti metil-živi (meHg) u pojedinaca koji konzumiraju ribu, uz pretpostavku da je izloženost anorganskoj živi (anHg) niža, a samim time, niža i u krvi (26). U krvi je više od 90 % meHg vezano na hemoglobin crvenih krvnih stanica, dok je anHg jednolikoraspodijeljena između crvenih krvnih stanica i plazme. Zato se THg u crvenim krvnim stanicama koristi za procjenu izloženosti meHg, a ukupna Hg u plazmi za procjenu izloženosti anorganskoj živi.

Urin je jedan od dva standardna pokazatelja profesionalne izloženosti elementarnoj i anorganskoj živi, koji pokazuje akumuliranu količinu žive u bubrežima i uglavnom odražava sadašnju ili nedavnu izloženost. Izloženost anorganskoj i elementarnoj živi mjeri se određivanjem koncentracije žive u 24-satnom uzorku urina. Može biti donekle povišena u osoba sa amalgamskim zubnim ispunama, u ovisnosti o broju takvih ispuna.



Provedba projekta

Svjetske zdravstvene organizacije

Za potrebe provedbe istraživanja projekta "Primjena biomonitoringa za procjenu izloženosti živi tijekom prenatalnog perioda u dvije hrvatske regije uporabom standardizirane metodologije svjetske zdravstvene organizacije" ("Implementation of Human Biomonitoring Survey of Prenatal Exposure to Mercury in two Croatian Regions using the Standardized WHO Methodology"), korišteni su uzorci kose i urina roditelja i krvi pupkovine novorođene djece kao pokazateljima opterećenja organizma.

Cilj istraživanja bio je procijeniti izloženost živi u obuhvaćenoj populaciji žena/roditelja i njihove novorođene djece, utvrditi razlike između obalne i kontinentalne Hrvatske i utvrditi moguću povezanost prehrane ribom s koncentracijama žive u uzorcima kose i urina majke te krvi iz pupkovine novorođene djece kao pokazateljima opterećenosti tijela živom.

Etičko povjerenstvo HZJZ-a odobrilo je predmetno istraživanje nakon što je prikupljena sva potrebna dokumentacija (etička odobrenja i suglasnosti bolnica, letak za medicinsko osoblje u rodilištima s ciljevima istraživanja i procedurama prikupljanja podataka, informativni letak za ispitanice projekta, kriteriji uključivosti ispitanica, obrasci informiranog pristanka, upitnik o izloženosti za majke prema predlošku upitnika SZO-a prilagođen lokalnim uvjetima). Nakon toga, organizirani su prvi informativni sastanci u svakom rodilištu i projekt je predstavljen osoblju uključenom u provedbu, a svi su koraci pojašnjeni. U uvodnoj fazi projekta organizirana je edukacija bolničkog osoblja te je bila podijeljena oprema za uzorkovanje i pohranu prikupljenih bioloških uzoraka kao i dokumenti s općim informacijama, upitnik

za prikupljanje podataka i uzoraka, informirani pristanak i obavijest za ispitanice. Županijski zavodi za javno zdravstvo su kontaktirani radi tehničke podrške. Svi provoditelji uključeni u istraživanje informirani su o ciljevima i svrsi projekta, kao i o važnosti pravilnog prikupljanja podataka i uzoraka. Svaki je korak prikupljanja podataka i uzoraka, procedure skladištenja i transporta detaljno razrađen i objašnjen. Podaci i uzorci su prikupljeni u skladu sa SZO-ovim smjernicama i standardnim radnim procedurama (SOP).

3.1. Područje istraživanja

Od rujna 2015. do veljače 2016. godine prikupljani su uzroci kose, urina rodilja i pupkovine djeteta u 14 rodilišta u dvije hrvatske regije: obalnoj i kontinentalnoj (Slika 2.)



U obalnoj regiji istraživanje je bilo provedeno u 5 gradova: Split, Zadar, Šibenik, Pula i Rijeka, čime su bile obuhvaćene Splitsko-dalmatinska, Zadarska, Šibensko-kninska, Istarska i Primorsko-goranska županija.

U kontinentalnoj regiji istraživanje je bilo provedeno u 9 rodilišta u gradovima: Požega, Varaždin, Čakovec, Koprivnica, Bjelovar, Virovitica, Karlovac, Vinkovci i Zagreb, čime su bile obuhvaćene Bjelovarsko-bilogorska, Karlovačka, Koprivničko-križevačka, Međimurska, Požeško-slavonska, Varaždinska, Virovitičko-podravska, Vukovarsko-srijemska, Zagrebačka županija te Grad Zagreb.

3.2. Ispitanice, materijali i metode

Najznačajnija faza u provedbi projekta bila je priprema dizajna istraživanja, nabava potrebnih materijala za uzimanje i pohranu uzorka i prikupljanje svih potrebnih odobrenja kako bi se istraživanje moglo provesti na teritoriju Republike Hrvatske. Ova je faza uključivala i prijevod upitnika i svih materijala dobivenih od SZO-a na hrvatski jezik radi ispravnog tumačenja i distribucija bolnicama i županijskim zavodima za javno zdravstvo.

Sastavljene su pisane upute o vođenju istraživanja i prikupljanju materijala za biomonitoring u ljudi zasebno za bolničko i javnozdravstveno osoblje.

Uzorak ispitanica sastavljen je od žena reproduktivne dobi, koje nisu profesionalno izložene živi sukladno ciljevima i prema protokolima Svjetske zdravstvene organizacije.

Ispitanice su odabrane nakon konzultacija i uz odobrenje bolničkih ginekologa kao stručnjaka koji najbolje mogu ocijeniti njihov zdravstveni status.



Klinika za ženske bolesti i porode Kliničkog bolničkog centra u Splitu
Splitsko-dalmatinska županija

Sve ispitanice uključene u israživanje bile su zdrave žene (i njihova novorođenčad) s mjestom stanovanja i prebivališta unutar područja istraživanja zadnjih 5 godina. Žene koje su bolovale od kroničnih bolesti (bolesti srca, zatajenje bubrega, dijabetes, itd.) nisu bile uljučene u istraživanje. Porod carskim rezom nije bio isključujući čimbenik, ako je razlog bio položaj i veličina djeteta ili izostanak trudova tijekom poroda.

Svakoj od ispitanica je dodijeljen osobni identifikacijski broj. Ispitanice su od strane istraživača osobno intervjuirane, svakoj je pojedinačno podrobno objašnjeno istraživanje i dani su odgovori na sva pitanja. Svaka je ispitanica osobno potpisala obrazac o informiranom pristanku koji joj podrobno objašnjava sva njezina prava radi ishođenja odobrenja korištenja osobnih podataka u svrhu istraživanja. Svi potpisani obrasci, dostupni su samo istraživačkom timu HZJZ-a. Sudjelovanje u ovom istraživanju bilo je u potpunosti dobrovoljno, a ispitanice su imale pravo odustati u bilo kojem trenutku.

Podatke o svim ispitanicama prikupili smo upitnikom Svjetske zdravstvene organizacije za istraživanje odnosa zdravstvenog stanja stanovništva, okoliša i stila života koji se sastojao od detaljnih pitanja bitnih za socio-ekonomski statistiku, zdravstveno stanje ispitanica, pitanja o tjelesnoj težini i visini, korištenju lijekova, broju amalgamskih zubnih ispuna, statusu trudnoće, dojenju, broju djece te mogućoj radnoj i životnoj izloženosti živi. Također smo prikupili podatke o životnim navikama ispitanica, tjelesnoj aktivnosti, stanovanju, zaposlenju te socijalnim i ekonomskim uvjetima. Upitnik je sadržavao i detaljna pitanja o prehrambenim navikama i ostalim čimbenicima koji utječu na prehranu ispitanica i frekvenciju potrošnje hrane kao i intervju o potrošnji hrane tijekom protekla 24 sata (“24 hour recall”) uz korištenje priručnika za ispitivanje prehrambenih navika.

Upitnikom o učestalosti prehrane ribom i konzumaciji različitih vrsta riba te načinima pripreme, prikupili smo podatke koji odražavaju prehranu ispitanica ribom i ribljim proizvodima, školjkašima, rakovima i glavonošcima tijekom zadnjih godinu dana. Za ispunjavanje kompletnih upitnika bilo je potrebno 30 do 35 minuta po ispitanici.

3.3. Procedura uzorkovanja te mjerne tehnike i analize

Hrvatski zavod za javno zdravstvo je potpisao ugovor o suradnji na provedbi znanstvenog istraživanja s Institutom za medicinska istraživanja i medicinu rada (IMI) za potrebe traženih analiza krvi iz pupkovine novoređene djece i urina roditelja.

Uzorke krvi iz pupkovine uzimalo je medicinsko osoblje u rađaonici neposredno nakon poroda, pri čemu je krv iz pupkovine prikupljana u vacutainer epruvete posebnog stupnja čistoće u pogledu

metala. Uzorci urina prikupljeni su prije poroda. Analize krvi iz pupkovine novorođene djece i analize urina majki izvršene su u laboratoriju IMI-ja (Jedinica za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam) u Zagrebu, Hrvatska. Uzorkovanje i tražene analize rađene su u skladu sa standardnim operativnim protokolima SZO-a za laboratorijsku analizu uzorka.

Kosa je odabrana kao biomarker izloženosti zbog neinvazivnosti uzorkovanja i zato što je dobar pokazatelj izloženosti metil-živi kod osoba koje konzumiraju ribu i osoba koje nisu izložene živi na radnom mjestu ili slučajnim izlaganjem. Ova se metoda koristi za uzorkovanje vlas kose kose minimalne duljine 5cm. Metoda se može primijeniti na ispitanicama u stajaćem ili sjedećem položaju. Analize uzorka kose izvršene su u Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo u Zagrebu, Hrvatska. HZJZ je opremljen za precizno određivanje žive u tragovima, a njegovo je osoblje obučeno za provođenje ispitivanja žive u uzorcima kose u laboratoriju Odsjeka za metale i metaloide.

Za internu kontrolu kvalitete korišteni su referentni materijali za elemente u tragovima u urinu, referentni materijali za kosu i za krv koji sadržavaju različite razine žive.

Mjerna preciznost kontrolirana je također redovitim sudjelovanjem u vanjskim kontrolama kvalitete.

Vanjska kontrola kvalitete osim što poboljšava usporedivost i preciznost analitičkih rezultata, osigurava i pouzdanost laboratorijskih rezultata. U tu su svrhu u referentnom laboratoriju u Institutu Jozef Štefan (IJS) iz Ljubljane, Slovenija, analizirani uzorci različitih razina koncentracije radi ocjene točnosti i preciznosti analitičkog postupka i utvrđivanja daje li analitički sustav prihvatljivo točne i precizne rezultate. Ocjena usporedivosti rezultata provedena je u suradnji IJS-a i HZJZ-a te je potvrđena usporedivost analiza.

Rezultati

Dobiveni osobni rezultati analiza proslijedjeni su svakoj ispitanici u obliku standardiziranog pisma s naznačenim osobnim identifikacijskim brojem i razinom žive u kosi, urinu i krvi iz pupkovine. Uz osobne rezultate pismo je obuhvaćalo informativni list s odgovorima na često postavljana pitanja i kontakte djelatnika Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo zaduženog za provedbu istraživanja.

U istraživanju je sudjelovalo 290 žena dobi od 19 do 43 godine i njihova novorođenčad: 154 ispitanica iz obalne i 136 iz kontinentalne Hrvatske. Tablica 2. prikazuje demografske i socio-ekonomske podatke ispitanica.

Tablica 2. Opis ispitanica studije

		N	%
Dob	19 – 25	40	13,8
	26 – 34	184	63,4
	35+	66	22,8
Regija	Kontinentalna Hrvatska	154	53,1
	Obalna Hrvatska	136	46,9
Broj djece	0	136	46,9
	1	107	36,9
	2	27	9,3
	3	12	4,1
	4	7	2,4
	5	1	0,3
Obrazovanje majke	Osnovna škola	6	2,1
	Nezavršena srednja škola	9	3,1
	Završena srednja škola	146	50,3
Viša škola		41	14,1

		N	%
Obrazovanje djetetova oca	Osnovna škola	7	2,4
	Nezavršena srednja škola	4	1,4
	Završena srednja škola	193	66,6
	Viša škola	34	11,7
	Visoka škola	52	17,9
Financijsko stanje	Teško; sve nužno potrebno nije uvijek dostupno.	3	1,0
	Prihodi su ograničeni, ali sve nužno potrebno je dostupno.	44	15,2
	Ugodan život, ali bez luksusa.	197	67,9
	Stabilna financijska situacija, visok standard te provočlasi proizvodi i usluge na raspolaganju	46	15,9

Svih 290 žena imale su mjerljive razine žive u kosi i u urinu te u krvi pupkovine novorođenčadi.

Od 336 ispitanica, 46 žena je isključeno iz istraživanja zbog slijedećih razloga: ne ispunjavanje kriterija definiranih u SOP-u, nedostatak svih bioloških uzoraka (kosa, urin i krv iz pupkovine djeteta) zbog komplikacija u porodu, ili kontaminiranost istih (tijekom uzorkovanja, npr. krvne stanice u urinu, zgrušavanje krvi ili nekorištenje odgovarajuće opreme za prikupljanje uzoraka od strane medicinskog osoblja).

Dvije ispitanice su odustale u kasnijoj fazi (zbog neslaganja njihovih supruga i partnera za sudjelovanjem u istraživanju).

Izmjerene razine ukupne žive u uzorcima kose u obalnoj regiji kretale su se između 0,012 i 5,826 µg/g (median 0,471), a u kontinentalnoj regiji između 0,006 i 1,569 µg/g (median 0,129), što je vidljivo u tablici 4. Uočena je statistički značajna razlika u razinama ukupnog Hg u kosi među regijama (Mann-Whitney test, $p < 0,001$).

Koncentracije Hg krvi iz pupkovine kretale su se između 0,01 i 18,831 µg/l (median 2.903) u obalnoj regiji, a u kontinentalnoj regiji između 0,04 i 12,286 µg/l (median 0,661), što prikazuje tablica 4. Zabilježena je statistički značajna razlika u razinama Hg u krvi iz pupkovine među regijama (Mann-Whitney test, $p < 0,001$).

Koncentracije kreatinina oscilirale kretale su se između 0,147 i 3,516 g/l (median 1,134) u obalnoj regiji, a u kontinentalnoj regiji između 0,256 i 5,404 g/l (median 1.122). Koncentracije Hg u urinu prilagođenom kreatininu kretale su se od 0,027 do 4,053 µg/g (median 0,312) u obalnoj regiji, a u kontinentalnoj regiji od 0,011 do 4,172 µg/g (median 0,126). Isti se podaci nalaze u tablici 3.

Utvrđena je statistički značajna razlika u koncentracijama Hg u urinu prilagođenom kreatininu među dvama regijama (Mann-Whitney test, $p < 0,001$).

Tablica 3. Izmjerene koncentracije Hg u uzorcima kose i urina majki i krvi iz pupkovine djeteta u kontinentalnoj i obalnoj Hrvatskoj

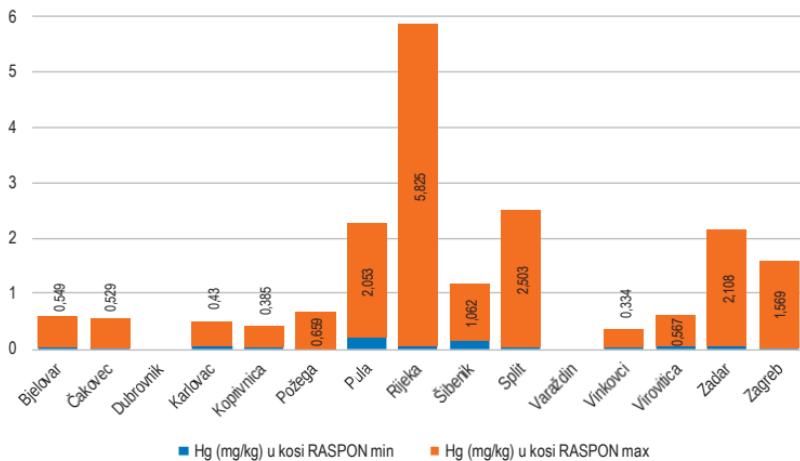
	Ispitanice	Ukupno 290	SD	Mean	Median	Min	Max	95 % CI Mean
THg u kosi (µg/g)	Kontinentalna regija	154	0.250	0.213	0.129	0.006	1.569	0.17 – 0.25
	Obalna regija	136	0.737	0.696	0.471	0.012	5.826	0.57 – 0.82
THg krvi iz pupkovin(µg/l)	Kontinentalna regija	154	1.606	1.151	0.661	0.039	12.286	0.89 – 1.40
	Obalna regija	136	4.428	4.583	2.903	0.01	18.831	3.83 – 5.33
Kreatinin (g/l)	Kontinentalna regija	154	0.806	1.287	1.122	0.256	5.404	1.16 – 1.42
	Obalna regija	136	0.744	1.265	1.134	0.147	3.516	1.13 – 1.39
Hg µg/g Kreatinin	Kontinentalna regija	154	0.496	0.268	0.126	0.011	4.172	0.19 – 0.35
	Obalna regija	136	0.542	0.491	0.312	0.027	4.053	0.39 – 0.58

Deskriptivna statistika za razine žive u uzorcima po lokaciji uzorkovanja dana je u tablici 4.

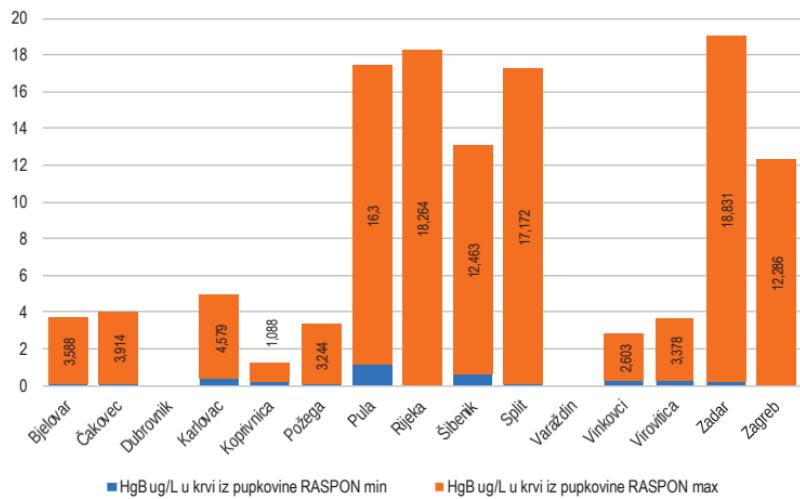
Tablica 4. Razine Hg u kosi i krvi iz pupkovine

	Hg (mg/kg) u kosi				HgB ug/L u krvi iz pupkovine			
	N	M	SD	RASPON	M	SD	RASPON	
Bjelovar	19	0.159	0.148	0.021 – 0.549	0.831	0.899	0.128 – 3.588	
Čakovec	19	0.142	0.121	0.023 – 0.529	0.886	0.820	0.114 – 3.914	
Dubrovnik	1	0.255	–	–	0.449	–	–	
Karlovac	14	0.169	0.102	0.051 – 0.43	1.12	1.208	0.355 – 4.579	
Koprivnica	6	0.159	0.124	0.035 – 0.385	0.646	0.289	0.191 – 1.088	
Požega	12	0.127	0.172	0.005 – 0.659	0.711	0.923	0.081 – 3.244	
Pula	19	0.674	0.481	0.205 – 2.053	5.667	4.282	1.133 – 16.3	
Rijeka	28	0.920	1.217	0.045 – 5.825	5.113	5.630	0.005 – 18.264	
Šibenik	22	0.479	0.306	0.127 – 1.062	4.06	3.048	0.622 – 12.463	
Split	37	0.773	0.701	0.012 – 2.503	4.367	4.231	0.08 – 17.172	
Varaždin	1	0.052	–	–	0.451	–	–	
Vinkovci	20	0.119	0.099	0.016 – 0.334	0.708	0.647	0.242 – 2.603	
Virovitica	10	0.173	0.165	0.039 – 0.567	1.427	1.146	0.276 – 3.378	
Zadar	29	0.580	0.478	0.046 – 2.108	4.176	4.483	0.193 – 18.831	
Zagreb	53	0.343	0.355	0.022 – 1.569	1.653	2.378	0.039 – 12.286	

Od 290 ispitanica istraživanja, njih 124 (42,8 %) ima amalgamske zubne ispune, 135 (46,6 %) nema amalgamske zubne ispune, dok 31 (10,7 %) nije znalo ima li ispune ili ne. Raspon broja amalgamskih zubnih ispuni kretao se od 1 do 11, pri čemu je preko 55 % ispitanica imalo jednu ili dvije.



Grafikon 1. Minimalni i maksimalni raspon razine Hg u kosi



Grafikon 2. Minimalni i maksimalni raspon razine Hg u krvi iz pupkovine

Većina ispitanica (256; 88,3 %) izjavila je da nisu promijenile prehrambene navike u vezi konzumacije ribe u zadnjem tromjesečju odnosu na prva dva tromjesečja trudnoće. Njih 20 (6,9 %) izjavilo je da je smanjilo konzumaciju ribe u zadnjem tromjesečju, a 14 (4,9 %) povećalo u odnosu na prethodna dva tromjesečja.

Učestalost konzumacije ribe, ribljih proizvoda i školjkaša tijekom prva dva tromjesečja trudnoće prikazana je u tablici 5.

Tablica 5. Učestalost konzumacije specifičnih vrsta ribe tijekom prva dva tromjesečja

Vrste riba i školjkaša (%)	< jednom mjes.	jednom mjes.	2 – 3 puta mjes.	Jednom tjedno	2 – 6 puta tjedno	Jednom dnevno	> jednom dnevno
Sve vrste ribe/ školjkaša/morske alge (uključujući tunjevinu u salati, sendviču, na pizzi i sl.)							
Kupovna morska riba	61.0	16.9	8.6	11.7	1.4	0.3	0
Školjkaši	94.8	4.5	0	0.3	0.3	0	0
Kupovna slatkovodna riba	88.6	8.3	1.7	1.0	0	0	0.3
Lokalno ulovljena morska riba	60.7	10.3	11.0	12.4	5.2	0.3	0
Lokalno ulovljena slatkovodna riba	87.2	5.5	1.7	4.5	0	0.7	0.3



Prikupljeni su i podaci o učestalosti konzumacije specifičnih vrsta ribe u zadnjem tromjesečju. Rezultati su predstavljeni u tablici 6.

Tablica 6. Učestalost konzumacije specifičnih vrsta ribe u zadnjem tromjesečju

Vrste riba (%)	< jednom mjes.	jednom mjes.	2 – 3 puta mjes.	jednom tjedno	2 – 6 puta tjedno	Jednom dnevno	> jednom dnevno
Sabljarka, tunjevina	85.9	8.3	3.4	1.7	0	0	0.7
Plava riba (srdele, sledo, skuša, losos)	57.6	17.2	10.0	11.7	2.8	0.7	0
Bijela riba (bakalar, list)	46.2	17.2	12.8	19.3	3.8	0.3	0.3
Slatkovodna riba (pastrva, som, grgeč i dr.)	80.7	9.7	4.1	4.1	0.7	0	0.7
Riba iz konzerve	73.4	16.2	6.2	3.1	0.7	0	0.3

Podaci o konzumaciji ribe i drugih morskih plodova analizirani su i korelirani s podacima o razinama žive u uzorcima koristeći Spearmanov koeficijent korelacije. Korelacijske matrice nalaze se u tablicama 9. i 10. Utvrđene su značajne korelacije među razinama žive u uzorcima različitih ispitanica.

U prva dva tromjesečja značajne su korelacije primijećene između konzumacije lokalno ulovljene morske ribe i razina žive u kosi ($\rho = 0,530$, $p < 0,01$), razina žive u krvi iz pupkovine ($\rho = 0,569$, $p < 0,01$) i koncentracija Hg u urinu prilagođene kreatininu ($\rho = 0,357$, $p < 0,01$).

Značajne su korelacije otkrivene i između razina žive u kosi te konzumacije školjkaša ($\rho = 0,119$, $p < 0,05$) i svih vrsta ribe/školjkaša/morskih trava ($\rho = 0,154$, $p < 0,01$).

U zadnjem tromjesečju značajne su korelacije zamijećene između konzumacije sabljarke i tunjevine te razina žive u kosi ($\rho = 0,166$, $p < 0,01$) i krvi iz pupkovine ($\rho = 0,170$, $p < 0,01$).

Značajne su korelacije detektirane i između konzumacije plave ribe te razina žive u kosi ($\rho = 0,295$, $p < 0,01$), razina žive u krvi iz pupkovine ($\rho = 0,307$, $p < 0,01$) i koncentracija Hg u urinu prilagođenom kreatininu ($\rho = 0,223$, $p < 0,01$).

Značajne su korelacije otkrivene i između konzumacije bijele ribe te razina žive u kosi ($\rho = 0,379$, $p < 0,01$), razina žive u krvi iz pupkovine ($\rho = 0,435$, $p < 0,01$) i koncentracija Hg u urinu prilagođenom kreatininu ($\rho = 0,226$, $p < 0,01$).

Značajne su korelacije utvrđene i između konzumacije školjkaša te razina žive u kosi ($\rho = 0,143$, $p < 0,05$) i krvi iz pupkovine ($\rho = 0,154$, $p < 0,05$).

U zadnjem tromjesečju značajne su korelacije pronađene između konzumacije morskih trava te razina žive u kosi ($\rho = 0,120$, $p < 0,05$) i krvi iz pupkovine ($\rho = 0,121$, $p < 0,05$).

Nadalje, uzadnjem tromjesečju značajne su korelacije jedokumentirane između konzumacije tunjevine iz konzerve i koncentracija Hg u urinu prilagođenom kreatininu ($\rho = 0,171$, $p < 0,01$).

Osvrt na rezultate

Zdravlje čovjeka osim o genetskim čimbenicima ovisi i o čimbenicima okoliša, kao i o životnim i prehrambenim navikama. Nekoliko primjera trovanja živom u svijetu između 50-ih i 70-ih godina 20. stoljeća pokazalo je značajne negativne učinke utjecaja žive na ljudsko zdravlje. Prvi, izravni negativni učinci na zdravlje ljudi zabilježeni su prilikom ekoloških incidenata ispuštanja žive u okoliš, koja je tim putem dospjela u prehrambenu mrežu. Najpoznatiji incidenti su bili u zaljevima Minamata i Niigata u Japanu do kojih je došlo zbog ispuštanja žive u more iz tvornica s klor-alkalnim pogonom pri čemu je došlo do trovanja ribara i njihovih obitelji koji su konzumirali ribu koja je sadržavala visoke koncentracije žive. U Iraku su se 1971. i 1972. godine dogodila trovanja uzrokovana konzumiranjem kruha napravljenim od pšenice tretirane živinim fungicidima. Iako u novorođenčadi nije bilo vidljivih poremećaja, kasnije su se razvile psihomotorička retardacija, sljepoča i gluhoća. Motorička retardacija uočena je u djece čije su majke imale koncentracije žive u kosi u rasponu od 10 do 20 ppm.

Europska komisija je prepoznala značaj biomonitoringa u ljudi i potrebe za koordinacijom provedbe biomonitoringa na razini Europe, te su 2009. godine, europski znanstvenici i ostali dionici iz 35 institucija u 27 europskih zemalja započeli uspostavljanje europskog okvira za biomonitoring. Financiran od strane Sedmog okvirnog programa EU, COPHES (engl. *Consortium to Perform Human Biomonitoring on a European Scale*) je razvio usklađene protokole koji omogućuju prikupljanje usporedivih podataka HBM-a diljem Europe. Na to se, godinu dana kasnije, nadovezala studija isplativosti DEMOCHOPES (engl. *DEMOstration of a study to COordinate and Perform Human biomonitoring on a European Scale*), s ciljem prikaza isplativosti ovih protokola i usvajanja informacija u razinama izloženosti stanovnika Europe,

kao i uspostavljanje protokola za provedbu HBM rezultata u konkretnе preporuke i politike koje bi se provodile na razini Europe. Smatra se da su riba, riblji proizvodi i školjke značajno doprinijeli izloženosti živi i da se taj potencijalni izvor izloženosti i nadalje treba pratiti. Hg će biti prisutna u okolišu dugi niz godina te su programi biomonitoringa u ljudi, kao što su DEMOCOPHES, važni alati za procjenu trenutne izloženosti stanovništva te za otkrivanje trendova i obrazaca povezanih s politikama ublažavanja negativnih učinaka žive i njezinih spojeva na ljude i okoliš (Minamata konvencija).

U sklopu HBM istraživanja važno je razlikovati dva glavna kriterija za procjenu izloženosti: HBM vrijednosti i referentne vrijednosti. HBM vrijednosti utvrđuju se na temelju toksikološke i epidemiološke studije te ocjeni znanstvenog tima. Vrijednost HBM I (tj. kontrolna vrijednost) jest koncentracija tvari u ljudskom biološkom uzorku koja, ne donosi rizik ili štetan učinak po ljudsko zdravlje te, samim time, ne iziskuje intervencije. Vrijednost HBM II (tj. interventna vrijednost) je koncentracija tvari u ljudskom biološkom uzorku iznad koje se, prema stručnom mišljenju, javlja rizik ili štetan učinak po ljudsko zdravlje te samim time, iziskuje žurno djelovanje u smislu smanjenja izloženosti. Pri utvrđivanju vrijednosti u rasponu između HBM I i HBM II potrebno je pratiti i nadzirati izloženu populaciju, utvrditi moguće izvore izloženosti i ukloniti ili smanjiti samu izloženost. Zbog stalnih promjena u okolišnim čimbenicima i referentnim vrijednostima, i HBM vrijednosti su podložne promjeni. U tom pogledu, njemačko povjerenstvo za biomonitoring naglašava da sam prijelaz referentnih vrijednosti ne znači nužno povećani zdravstveni rizik, kao što se ni povećani zdravstveni rizik ne može u potpunosti isključiti s padom koncentracije ispod referentne vrijednosti.

Referentna vrijednost omogućuje usporedbu izloženosti pojedinaca ili populacijskih skupina. Obzirom na mijenjanje okolišnih uvjeta, referentne vrijednosti se kontinuirano provjeravaju ako i kada nove informacije postanu dostupne. Referentna vrijednost za kemijsku supstancu u ljudskom biološkom materijalu (npr. krv, urin kosa)

izvedena je prema određenoj statističkoj metodi iz niza rezultata mjerena, a uzorci koji se koriste u tu svrhu moraju se prikupljati iz definirane skupine opće populacije.

Postavljena niža granična vrijednost od 1 µg/g Hg u kosi majki je količina žive za koju su stručnjaci Agencije za zaštitu okoliša SAD-a (US EPA) izračunali da odgovara dnevnom unosu žive od 0,1 µg/kg tjelesne težine, odnosno tjednom unosu žive od 0,7 µg/kg tjelesne težine, a koja tijekom cjeloživotne izloženosti ne bi trebala uzrokovati negativne učinke na zdravlje.

DEMOCOPHES istraživanje je pokazalo da većina ispitanika, njih 95 % koji konzumiraju ribu jednom tjedno ili više imaju mjerljivu razinu žive u kosi od 0,55 µg/g, što je znatno ispod graničnih vrijednosti koje preporučuje US EPA od 1 µg/g u kosi i SZO od 1,9 µg/g u kosi za najranjivije populacijske skupine.

Preporučene vrijednosti su u skladu s razinama izloženosti, za koje se smatra da vjerojatno neće imati štetnih učinaka za zdravlje u ljudskoj populaciji. Značajne su za interpretaciju HBM rezultata, a temelje se na prikupljenim anketama među stanovništvom, epidemiološkim i toksikološkim istraživanjima (tablica 7).

Tablica 7. Vrijednosti za živu u biološkim uzorcima

	Referentna populacija	HBM-I	HBM-II	NRC	JECFA	Bellenger i sur.
Ukupna Hg u urinu	Djeca i žene reproduktivne dobi	7 µg/l (5 µg kreatinin)	25 µg/l (20 µg kreatinin)			
Ukupna Hg u krvi	žene reproduktivne dobi	5 µg/l	15 µg/l			
meHg u kosi ^a	žene reproduktivne dobi			1 µg/g	≤,3 µg/g	0,58 µg/g
Ukupna Hg u pupkovini	—			5,8 µg/l		
Ukupna Hg u krvi majki	Trudnice			3,5 µg/l		

^a suhe tvari; HBM I - kontrolna vrijednost; HBM II - intervencna vrijednost; NRC – National Research Cancer; JECFA – Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

Rezultati ovdje prikazanog istraživanja »Primjena biomonitoringa za procjenu izloženosti živi tijekom prenatalnog perioda u dvije hrvatske regije uporabom standardizirane metodologije svjetske zdravstvene organizacije« daju uvid u izloženost živi žena reproduktivne dobi u ovisnosti o njihovim prehrambenim navikama učestalosti konzumacije riba. U istraživanje su bile uključene isključivo zdrave žene kako bi, određujući njihovo opterećenje živom mjerljivo u uzorcima kose i urina, mogli doći do odgovora mogu li te izmjerene razine žive utjecati na pojavnost negativnih zdravstvenih učinaka, kako u majki, tako i u njihove nerođene djece. Sve ispitanice su imale mjerljive koncentracije Hg u kosi. Izmjerene razine ukupne žive u uzorcima kose u obalnoj regiji kretale su se između 0,012 i 5,826 µg/g (median 0,471), a u kontinentalnoj regiji između 0,006 i 1,569 µg/g (median 0,129). Dobiveni rezultati potvrđuju i rezultate DEMOCOPHES istraživanja: većina ispitanica u Hrvatskoj ima razine žive u kosi ispod vrijednosti koje preporučuje US EPA i SZO.

Kako je najznačajniji put unosa žive u općoj populaciji putem hrane, istraživanja su najviše bila usmjerena na praćenja tih međusobnih odnosa, osobito zbog prepoznavanja ribe i ribljih proizvoda kao glavnih čimbenika unosa najtoksičnijeg oblika žive, metil-žive. Povišene vrijednosti meHg u ljudi dovode se u izravnu vezu s učestalošću konzumacije ribe.

Prethodna istraživanja provedena u različitim zemljama pokazala su da je konzumacija ribe primarni put izloženosti metil-živi među općom populacijom koja nije profesionalno izložena živi. Procjenjuje se da je konzumacija ribe odgovorna za 80 – 90 % ukupne izloženosti živi, od čega 75 – 100 % metil-živi.

U različitim dijelovima Hrvatske postoje razni izvori onečišćenja. Kao mogući izvor onečišćenja živom u Hrvatskoj navodi se klor-alkalno postrojenje u Kaštelanskom zaljevu. Postrojenje je zatvoreno 1990. nakon 41 godine rada, no u tom se razdoblju u zaljevu odložilo 22 – 56 tona Hg.

Praćenjem koncentracija THg i meHg u sedimentu, dagnjama i nekim vrstama riba (tuna, srdela, ugor) iz sjevernog Jadrana u razdoblju 1980. – 1981. utvrđeno je da uzorci sedimenta, dagnja i ribe ulovljene u blizini postrojenja sadržavaju visoke koncentracije THg te da je živa u ribama uglavnom u metiliranom obliku. Mjerljive koncentracije THg i meHg pronađene su u svim uzorcima tkiva i organa, ali ne u koncentraciji većoj od maksimalno dopuštenih razina, uz iznimku uzorka THg u tuni.

Istraživanje utjecaja konzumacije ribe na opterećenost živom u žena reproduktivne dobi koje se provodilo tijekom 2008. i 2009. godine na području grada Zagreba, imalo je cilj utvrđivanja izloženosti žena reproduktivne dobi živi stavljanjem u vezu konzumaciju ribe i koncentracije žive u uzorcima kose, krvi i urina kao pokazateljima opterećenja tijela živom. Prikupljeni su i podaci o prehrambenim i životnim navikama te učestalosti konzumacije ribe. Istraživački uzorak obuhvaćao je 102 žene u dobi 25 – 35 godina podijeljenih u dvije skupine: vegetarijanke i nevegetarijanke. Ocijenjene su individualne razlike u izmjerenim koncentracijama Hg. Rezultati su pokazali da sve žene imaju utvrđive razine Hg u kosi, krvi i urinu. Izmjerene razine THg u uzorcima kose kretale su se od 0,027 do 3,899 µg/g (median 0,418). Rezultati, na skupini žena sa područja grada Zagreba, su pokazali da ukupna živa u kosi kod 13,73 % ispitanica prelazi maksimalno zaštitne granične vrijednosti od 1 µg/g.

Stanovnici Hrvatske su, unatoč idealnom mediteranskom podneblju, skromni potrošači ribe, dok je potrošnja mesa i mesnih prerađevina znatno veća. Podaci o prosječnoj konzumaciji ribe u Hrvatskoj pokazali su da je ukupna konzumacija vrlo niska i da nema opasnosti od potencijalno štetnog utjecaja žive za opću populaciju. Prema statističkim podacima Državnog zavoda za statistiku iz travnja 2016. godine, godišnji prosjek konzumacije ribe po članu kućanstva u Hrvatskoj iznosio je samo 7,6 kg.

Riba je važan izvor omega-3 masnih kiselina važnih za razvoj živčanog sustava fetusa, osigurava unos bjelančevina, vitamina i minerala (npr. joda neophodnog za sintezu hormona štitnjače i selena kao važnog antioksidansa). Riba se u našoj prehrani, našla na margini obiteljskih jelovnika, a radi brojnih zdravstvenih dobrobiti, treba biti zastupljena u uravnoteženoj prehrani odraslih i djece tijekom cijelog života. Riba u piramidi pravilne prehrane zauzima značajno mjesto, jer sadrži bjelančevine koje osiguravaju sve esencijalne aminokiseline. Ugljikohidrata u ribljem mesu, gotovo i nema, a zbog pogodnog sastava kratkih mišićnih vlakana je lako probavljivo. Sadrži vitamine A, D i E topive u mastima, a ujedno je i odličan izvor vitamina B skupine. Riba kao važan izvor proteina, vitamina i minerala, ujedno je i izvor za čovjeka bitnih omega-3 masnih kiselina te kao takva treba biti uključena u njegovu prehranu.

Većina istraživanja u svijetu je utvrdila da prednosti koje konzumacija ribe donosi, nadilazi rizike za opću populaciju, osobito kada se različite vrste riba konzumira najmanje dva puta tjedno. Međutim, za određene populacije (npr. trudnice i mala djeca) potrebno je imati usmjereni pristup kako bi se osiguralo da ove skupine konzumiraju ribu koja ima nisku razinu onečišćenja, ali ima veliku količinu omega-3 masnih kiselina.

Također, istraživanjima su potvrđena i saznanja da je konzumiranje ribe tijekom trudnoće povezano s kognitivnim sposobnostima djeteta, doprinosi ranijem jezičnom razvoju i poboljšava vidne funkcije. Ukoliko postoji bojazan od unosa žive, žene bi trebale jesti više ribe koja sadrži niske koncentracije žive (sitna plava riba), jer zdravstvena dobrobit je značajno veća od potencijalno štetnog unosa.

Danas ni u SAD-u ni u EU, pa tako ni u Hrvatskoj više nisu u upotrebi mnogi spojevi i proizvodi koji sadrže živu. Elektronska oprema zamjenila je mjerne uređaje koji sadrže živu. Kompozitni materijali za zubne ispune zamjenili su amalgamske ispune. Korištenje prirodnih resursa može dovesti do znatne promjene prirodnih

značajki i narušavanja kvalitete okoliša. Stoga je za održivo gospodarenje prirodnim resursima i planiranje potrebnih mjera zaštite važno procijeniti utjecaj antropogenih čimbenika na pojedine biogeokemijske cikluse i predvidjeti moguće štetne učinke, prije nego što dođe do nepovoljnih ireverzibilnih promjena u ekosustavima.

Stoga je nužno nastaviti daljnja istraživanja u smislu detaljnog biomonitoringa i praćenja izloženosti Hg putem analiza kose, krvi i urina na većoj populaciji, pri čemu treba uključiti stanovništvo obalnih područja Jadrana i otoka gdje je prepoznata veća konzumacija ribe, pa se pretpostavlja da je i veća potencijalna izloženost živi. Treba nastaviti i s dalnjim praćenjem količina žive kako u ribama, tako i u okolišu te izraditi mjere spriječavanja dalnjeg onečišćenja okoliša. U te mjere treba uključiti i edukaciju izloženih skupina stanovnika. Praćenjem izloženosti stanovništva potrebno je stvoriti okvir koji će dati osnove za uspostavljanje monitoringa opće populacije i određivanje referentnih koncentracija žive u općoj populaciji Hrvatske.



Danas, u smislu prevencije, biološki monitoring u ljudi je u izravnoj vezi sa zdravstvenim politikama te je sastavni dio akcijskog plana kao i prioritet istraživanja u sklopu 7. okvirnog programa Europske komisije (FP7-2006-2013). Mjere ublažavanja rizika osiguravat će se na temelju novih znanstvenih procjena.

Rezultati provedenog istraživanja iz područja HBM dali su uvid u sliku stanja izloženosti ispitanica živi u dvije hrvatske regije: obalnoj i kontinentalnoj. Povrh toga, važan doprinos ovog istraživanja je u službi kampanje podizanja svijesti.

Većina roditelja u Hrvatskoj ima izmjerene koncentracije žive u kosi ispod vrijednosti od $1 \mu\text{g/g}$ Hg u kosi koje preporučuje US EPA i ispod $1,9 \mu\text{g/g}$ koje preporučuje SZO.

Također, izmjerene koncentracije žive u krvi pupkovine u većini su bile ispod preporučenih vrijednosti NRC-a od $5,8 \mu\text{g/l}$.

Potrebna su daljnja HBM istraživanja u Hrvatskoj, i to na široj populaciji, sa specifičnim naglaskom na područja Hrvatske gdje postoje onečišćenja i mogućnost povećane izloženosti živi. Hrvatski zavod za javno zdravstvo će nastaviti sudjelovati u provedbi kroz daljnja istraživanja, izgradnju kapaciteta i suradnju s mrežom zavoda za javno zdravstvo i europskim institucijama specijaliziranim za biomonitoring u ljudi.

Stečeno znanje će biti usmjereni na praćenje novih rizika, biomonitoring određenih populacijskih skupina Hrvatske izloženih metalima u životnom i radnom okolišu, kao i na provedbu učinkovitih zdravstvenih intervencija.

Uz postojeći zakonski okvir, u cilju prevencije ili ublažavanja štetnih učinaka toksičnih metala neke su zemlje prepoznale potrebu

informiranja i educiranja građana. Činjenica da ponašanje svakog pojedinca ima ključnu ulogu u razvoju mnogih zdravstvenih problema dovela je do razvoja zdravstvene edukacije i promocije kao stručnog i znanstvenog područja koji se temelji na postupku koji pojedincima ili skupinama omogućuje da preuzmu kontrolu nad svojim zdravljem i poboljšaju ga. No zdravstvena edukacija i promocija mogu ispuniti svoj potencijal tek uz strukturalnu podršku zajednice kroz njezinu politiku i zakone.

Većina žena u Hrvatskoj još uvijek su kreatorice životnog stila čitave obitelji i čuvarice dječjeg, a i cijelokupnog obiteljskog zdravlja. Prehrana je jedan od najvažnijih čimbenika u postizanju ovih ciljeva.

Riba osigurava čitav niz zdravih bjelančevina, vitamina, minerala i nezamjenjiv je izvor omega-3 masnih kiselina koje su važne za razvoj živčanog sustava fetusa. Riba, stoga, treba biti zastupljena u uravnoteženoj prehrani odraslih i djece kroz čitav život. Žene bi trebale jesti više ribe koja sadrži niske koncentracije žive radi brojnih razvojno-zdravstvenih dobrobiti.

Podizanje svijesti opće javnosti, trudnica i djece kao rezultat može imati konzumaciju ribe koja sadrži niske razine žive i razvoj zdravih cjeloživotnih prehrambenih navika kao osobni izbor.

Zahvale

Zahvaljujemo djelatnicima bolnica, rodilišta i županijskih zavoda za javnog zdravstvo koji su sudjelovali u provedbi istraživanja, a čiji uspješni završetak ne bi bio moguć bez njihove stručnosti i pomoći.

Posebno smo zahvalni svim ispitanicama koje su pristale sudjelovati u ovom istraživanju.

Dugo ćemo pamtitи sve priče i lijepе trenutke koјe su s nama podijelile tijekom mjeseci које smo proveli u rodilištima diljem Hrvatske.



Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada,

Jedinica za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam

Dr. sc. Jasna Jurasović, dipl. ing. kem.; Mladen Komesar, viši tehničar, stručni prvostupnik inženjer; Snježana Mataušić, tehnički suradnik

Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice

Prof. dr. sc. Vesna Košec, dr. med. spec. ginekologije i opstetricije; Ivka Djaković, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije; Blaženka Sumpor bacc. med. techn.

Klinički bolnički centar Split

Prof. prim. dr. sc. Deni Karelović, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije; Radojka Vukšić, bacc. med. techn.; Ana Žižić, bacc. obs.

Klinički bolnički centar Rijeka

Doc. dr. sc. Tea Štimac, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije; doc. dr. sc. Aleks Finderle, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije

Opća bolnica Bjelovar

Prim. dr. sc. Tibor Toth dr. med., specijalist ginekologije i opstetricije; Zdenka Mužina, bacc. primaljstva

Opća bolnica "Dr. Tomislav Bardek", Koprivnica

Ivica Stanišić, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije; Slavica Pirc, bacc. med. tech.

Opća bolnica Karlovac

Hermina Milčić, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije; Željko Štajcer, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije

Opća bolnica Pula

Dino Bečić, dr. med.; Aleksia Matejčić, bacc. primaljstva

Opća bolnica Virovitica

Prim. dr. sc. Jadranko Šegregur, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije; Nives Kolar, viša med. sestra

Opća županijska bolnica Požega

Renata Raviš, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije; Jelena Kitanović, mag. med. techn.

Opća bolnica Šibensko-kninske županije

Tonći Gruica, dr. med., specijalizant ginekologije i opstetricije; Sanela Marušić, dr. med., specijalizant ginekologije i opstetricije

Opća bolnica Varaždin

Dr. sc. Aleksandra Špoljarić, dr. med.

Opća županijska bolnica Vinkovci

Zvonimir Juzbašić, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije; Martina Dojčinović Abramović, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije; Gordana Kucljak, medicinska sestra

Opća bolnica Zadar

Luka Matak, dr. med., specijalizant ginekologije i opstetricije

Županijska bolnica Čakovec

Mr. sc. Nino Škvorc, dr. med., spec. ginekologije i opstetricije; Monika Žignić, bacc. med. techn.

Zavod za javno zdravstvo Istarske županije

Mr. sc. Danijela Lazarić Zec, dr. med., spec. epidemiologije; Elviana Rudan, dipl. med. techn.

Zavod za javno zdravstvo Koprivničko-križevačke županije

Vlatka Janeš Poje, dr. med.

Zavod za javno zdravstvo Međimurske županije

Marko Klemenčić, mag. sanit. ing.

Nastavni zavod za javno zdravstvo

Primorsko-goranske županije

Doc. dr. sc. Željko Linšak, dipl. san. ing.; Blaženka Pružinec-Popović, dr. med.

Nastavni zavod za javno zdravstvo

Splitsko-dalmatinske županije

Diana Nonković, dr. med. spec. epidemiologije; Magda Pletikosa Pavić, dr. med., spec. epidemiologije, Vlado Ožić Paić, dipl. san. ing.

Zavod za javno zdravstvo Šibensko-kninske županije

Željko Huljev, dr. med., spec. epidemiologije

Zavod za javno zdravstvo "Sveti Rok"

Virovitičko-podravske županije

Štefi Vidić, dipl. san. ing.; Mirjana Špehar, mag. med. biochem.

Zavod za javno zdravstvo Vukovarsko-srijemske županije

Kata Krešić, dr. med., spec. epidemiologije; Vedrana Lanc Čurdinjaković, dr. med.

Zavod za javno zdravstvo Zadar

Alan Medić, dr. med., spec. epidemiologije

Sažetak

Uvod: Živaje toksični metal s negativnim zdravstvenim učincima na čovjeka. Konzumacija ribe je glavni put izloženosti živi. Cilj istraživanja bio je utvrditi izloženost Hg u žena reproduktivne dobi i njihove novorođenčadi utvrđivanjem moguće povezanosti konzumacije ribe i koncentracija žive u uzorcima kose i urina majke te krvi iz pupkovine novorođene djece kao pokazateljima opterećenosti tijela životom.

Ispitanice, materijali i metode: Kroz mrežu zavoda za javno zdravstvo, a u suradnji s osobljem rodilišta bolnica, prikupljeni su uzorci (kosa i urin rodilja, krv iz pupkovine) u razdoblju od rujna 2015. do veljače 2016. godine. Prikupljeni su i podaci o prehrambenim i životnim navikama te učestalosti konzumacije ribe. Uzorak je obuhvaćao 290 žena u dobi 19 – 43 godine i njihovu novorođenčad. Od 336 ispitanica, 46 je žena isključeno iz istraživanja zbog nekoliko razloga. Istraživanje je provedeno u 14 rodilišta u dvije hrvatske regije: obalna i kontinentalna regija.

Rezultati: Izmjerene razine ukupne žive u uzorcima kose prikupljenim u obalnoj regiji varirali su od 0,012 do 5,826 µg/g (median 0,471), a u kontinentalnoj regiji između 0,006 i 1,569 µg/g (median 0,129). Koncentracije Hg krvi iz pupkovine varirale su od 0,01 do 18,831 µg/l (median 2,903) u obalnoj regiji i između 0,039 i 12,286 µg/l (median 0,661) u kontinentalnoj regiji. Koncentracije kreatinina kretale su se u rasponu od 0,147 do 3,516 g/l (median 1,134) u obalnoj regiji te između 0,256 i 5,404 g/l (median 1,122) u kontinentalnoj regiji. Koncentracije Hg u urinu prilagođene kreatininu oscilirale su između 0,27 i 4,053 µg/g (median 0,312) u obalnoj regiji te između 0,011 i 4,172 µg/g (median 0,126) u kontinentalnoj regiji.

Uočena je statistički značajna razlika između dvaju regija u razinama ukupne žive u uzorcima kose, razinama Hg u uzorcima krvi iz pupkovine i koncentracijama Hg u urinu prilagođenim kreatininu (Mann-Whitney test, $p < 0,001$). Podaci o konzumaciji ribe i drugih morskih plodova analizirani su i korelirani s podacima o razinama žive u uzorcima pomoću Spearmanovog koeficijenta korelacije. Većina ispitanica (88,3 %) izjavila je da nije došlo do promjene u prehrambenim navikama u pogledu konzumacije ribe između zadnjeg i prva dva tromjesečja trudnoće. Uočene su značajne korelacije između razina žive među uzorcima različitih ispitanica.

Unutar prva dva tromjesečja utvrđene su značajne korelacije u odnosu na konzumaciju lokalno ulovljene morske ribe i razina Hg u kosi ($\rho = 0,530$, $p < 0,01$), razinama Hg u krvi iz pupkovine ($\rho = 0,569$, $p < 0,01$) i koncentracija Hg u urinu prilagođenom kreatininu ($\rho = 0,357$, $p < 0,01$).

Značajne korelacije utvrđene su i između razina Hg u kosi i konzumacije školjkaša ($\rho = 0,119$, $p < 0,05$) i svih vrsta ribe/školjkaša/morskih algi ($\rho = 0,154$, $p < 0,01$).

U zadnjem tromjesečju primjećene su značajne korelacije između konzumacije sabljarke i tunjevine, te razina Hg u kosi ($\rho = 0,166$, $p < 0,01$) i krvi iz pupkovine ($\rho = 0,170$, $p < 0,01$).

Značajne su korelacije zabilježene između konzumacije plave ribe i količina Hg u kosi ($\rho = 0,295$, $p < 0,01$), u krvi iz pupkovine ($\rho = 0,307$, $p < 0,01$) te razina Hg u urinu prilagođenom kreatininu ($\rho = 0,223$, $p < 0,01$). Značajne korelacije otkrivene su i između konzumacije bijele ribe i razina Hg u kosi ($\rho = 0,379$, $p < 0,01$), krvi iz pupkovine ($\rho = 0,435$, $p < 0,01$) i urinu prilagođenom kreatininu ($\rho = 0,226$, $p < 0,01$).

Zaključci: Rezultati ukazuju na to da žene iz obalne regije imaju veće koncentracije žive u kosi od žena iz kontinentalne Hrvatske. Rezultati, nadalje, upućuju na to da novorođenčad iz obalne regije

ima više koncentracije Hg u krvi iz pupkovine nego u kontinentalnoj regiji. Izmjerene vrijednosti ukupne žive, koje predstavljaju koncentraciju metil-žive (MeHg) u kosi ispitanica, pokazale su da razina žive kod njih može biti povezana s konzumacijom ribe.

Riba osigurava čitav niz zdravih bjelančevina, vitamina, minerala i nezamjenjiv je izvor omega-3 masnih kiselina koje su važne za razvoj živčanog sustava fetusa. Riba, stoga, treba biti zastupljena u uravnoteženoj prehrani odraslih i djece kroz čitav život. Žene bi trebale jesti više ribe koja sadrži niske koncentracije žive radi brojnih razvojno-zdravstvenih dobrobiti.

Rezultati provedenog istraživanja u području biomonitoringa u ljudi dali su uvid u sliku stanja izloženosti projektnih ispitanica živi u dvama hrvatskim regijama: obalnoj i kontinentalnoj. Povrh toga, važan doprinos ove studije jest alat u službi kampanja podizanja svijesti.

Provedeno istraživanje odličan je primjer suradnje svih uključenih institucija u Hrvatskoj: Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, županijskih zavoda za javno zdravstvo i bolnica. Potrebno je provesti dodatne studije iz područja biomonitoringa u ljudi u Hrvatskoj na široj populaciji, s posebnim naglaskom na područja s utvrđenom višom razinom onečišćenja okoliša i izloženosti živi.

KLJUČNE RIJEČI: *živa, konzumacija ribe, izloženost, žena, novorođenčad, ljudski uzorci, institucionalna suradnja*

10. Abstract

Introduction: Mercury as a highly toxic heavy metal can cause adverse health effects in humans. Fish consumption represents the primary human exposure route. The aim of the survey was to determine Hg exposure in women of generative age and their newborn babies by determining a possible link between fish consumption and concentrations of mercury in women's hair, urine samples and babies' cord blood, posing as the indicators of mercury body burden.

Subjects, materials and methods: Through the network of public health institutes and with cooperation of staff at maternity wards in hospitals, participant samples (hair, cord blood and urine) were collected from September 2015 to February 2016. Data on dietary habits, living habits and frequency of fish consumption were collected. The research sample consisted of 290 women aged 19 to 43 with their newborn babies. Out of 336 participants, 46 women were excluded from the survey due to several reasons. Survey was conducted in 14 selected maternities in two Croatian regions: coastal and continental region.

Results: Measured levels of total Hg in the hair samples collected in the coastal region ranged from 0.012 to 5.826 µg/g (median 0.471) and in the continental region from 0.006 to 1.569 µg/g (median 0.129). Concentrations of Hg in the cord blood ranged from 0.01 to 18.831 µg/l (median 2.903) in the coastal region and from 0.039 to 12.286 µg/l (median 0.661) in the continental region. Creatinine concentrations ranged from 0.147 to 3.516 g/l (median 1.134) in the coastal region and from 0.256 to 5.404 g/l (median 1.122) in the continental region. Concentrations of Hg in urine adjusted to creatinine ranged from 0.27 to 4.053 µg/g (median 0.312) in the coastal region and from 0.011 to 4.172 µg/g (median 0.126) in the continental region.

There was a statistically significant difference between the regions in the levels of total Hg in hair samples, levels of Hg in cord blood samples and in the concentrations of Hg in urine adjusted to creatinine (Mann-Whitney test, $p < 0.001$).

Data on consumption of fish and other seafood was analysed and correlated with the data on levels of mercury in samples using Spearman correlation.

The vast majority of participants (88.3 %) reported no change in nutritional habits related to fish consumption between the last and the first two trimesters.

There were significant correlations between levels of mercury in various participants' samples.

In the first two trimesters, significant correlations were observed regarding consumption of locally caught sea fish and the levels of mercury in hair ($\rho = 0.530$, $p < 0.01$), levels of mercury in cord blood ($\rho = 0.569$, $p < 0.01$) and concentrations of Hg in urine adjusted to creatinine ($\rho = 0.357$, $p < 0.01$).

Significant correlations were also observed between the levels of mercury in hair and consumption of shellfish ($\rho = 0.119$, $p < 0.05$) and all types of fish/shellfish/sea weed ($\rho = 0.154$, $p < 0.01$).

In the last trimester, significant correlations were observed regarding consumption of swordfish and tuna fish and the levels of mercury in hair ($\rho = 0.166$, $p < 0.01$) and the levels of mercury in cord blood ($\rho = 0.170$, $p < 0.01$).

Significant correlations were also observed between consumption of oily fish and the levels of mercury in hair ($\rho = 0.295$, $p < 0.01$), levels of mercury in cord blood ($\rho = 0.307$, $p < 0.01$) and levels of concentrations of Hg in urine adjusted to creatinine ($\rho = 0.223$, $p < 0.01$). Significant correlations were also observed between consumption of white fish and the levels of mercury in hair (ρ

= 0.379, p < 0.01), levels of mercury in cord blood (rho = 0.435, p < 0.01) and levels of concentrations of Hg in urine adjusted to creatinine (rho = 0.226, p < 0.01).

Conclusions: Results suggest that women from the coastal region have higher Hg concentrations in hair than women from the continental region. Also, results suggest that newborn babies from the coastal region have higher Hg concentrations in cord blood in comparison with continental region. Measured values of total mercury, that represents the MeHg in participant's hair, have shown that the level of mercury in tested women could be linked to the fish consumption.

Fish provides a number of healthful proteins, vitamins, minerals and it is an essential source of omega-3 fatty acids that are important for fetal neurodevelopment and should be made a part of a balanced diet for adults and children throughout the whole life. Women should eat more fish that is lower in mercury in order to gain important developmental and health benefits.

Results of the implemented human biomonitoring survey provided a snapshot of the level of mercury exposure among the project volunteers in two Croatian regions: coastal and continental. Aside from this, one of its values is to also serve as a tool for awareness-raising campaigns.

Conducted survey is an excellent example of cooperation of all included institutions in Croatia; Croatian Institute of Public Health, county institutes of public health and hospitals. Further studies should be implemented in Croatia through detailed HBM at a wider population, with specific focus on Croatian areas where environmental pollution and higher exposure have been identified.

KEY WORDS: *mercury, fish consumption, exposure, woman, newborn babies, human samples, institutional cooperation*

Korištena literatura

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (1999) Toxicological Profile for Mercury. Public Health Statement, p 1 Available from <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.html>.
- Berglund M, Lind, B, Björnberg, K A, Palm B, Einarsson Ö, Vahter,M. (2005) Inter-individual variations of human mercury exposure biomarkers: cross-sectional assessment. Environmental Health: A Global Access Science Source 4: 20.
- Blanuša M, Jureša D. (2001) Lead, cadmium and mercury dietary intake in Croatia. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju. 52:229-37.
- Bošnir J, Puntarić D, Šmit Z, Capuder Ž. (1999) Fish as an indicator of eco-system contamination with mercury. Croatian Medical Journal 40:546-549.
- Jureša D, Blanuša M. (2003) Mercury, arsenic, lead and cadmium in fish and shellfish from the Adriatic see. Food Additives & Contaminants 20 (3): 241–246.
- Buzina R, Subotičanec K, Vukušić J, Sapunar J, Antonić K, Zorica M. (1989) Effects of industrial pollution on seafood content and dietary intake of total and methylmercury. Science of the Total Environment 78:45-57.
- Commission of the European Communities. (2005) Annex to the Communication from the Commission to the Council and the European Parliament: Community Strategy Concerning Mercury. Extended Impact Assessment SEC (2005) 101 COM (2005) 20 final. Available from http://ec.europa.eu/environment/chemicals/mercury/pdf/extended_impact_assessment.pdf?search=%22EU%20Extended%20Impact%20Assessment%20%20Mercury%22.
- Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1881&from=en>).
- Commission Regulation (EC) No 629/2008 of 2 July 2008 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R0629&from=EN>.

- Committee on Environmental Health. American Academy of Pediatrics. (2003) Mercury In: Ruth A E, Balk S J (eds) *Pediatric Environmental Health*, 267–281.
- Rice DC. 2000 Identification of functional domain affected by developmental exposure to methylmercury: Faroe islands and related studies. *NeuroToxicology* 21: 1039–1044.
- Diez S, Montuori P, Pagano A, Sarnacchiaro P, Bayona JM, Triassi M. Hair mercury levels in an urban population from southern Italy: fish consumption as a determinant of exposure. *Environ Int.* 2008;34(2):162-7.
- Grandjean P, Weihe P, Jorgensen P J, Clarkson T, Cernichiari E, Videro T. (1992) Impact of maternal seafood diet on fetal exposure to mercury, selenium, and lead. *Archives of Environmental Health* 47: 185–195.
- Grandjean P, Weihe P, White R F, Debes F, Araki S, Yokoyama K, Murata K, Sorensen N, Dahl R, Jorgensen P J. (1997) Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicology and Teratology*. 19: 417–428.
- Imm P, Knobeloch L, Anderson HA. (2005) Fish consumption and advisory awareness in the Great Lakes basin. *Environmental Health Perspective* 113(10):1325-1329.
- Janev Holcer N. (2010) Influence of fish consumption on mercury body burden in women of reproductive age, Dissertation, Faculty of Natural Sciences, University of Zagreb.
- Janev Holcer N, Vitale K. (2009) How to set up public health campaign: Croatian example of environmental mercury exposure. *Periodicum biologorum*. 111. 1; 99-105.
- Janev Holcer N, Vitale K, Senta Marić A, Brumen V, Mustajbegović J, Andabaka D. (2009) Fish consumption and mercury body burden in women of reproductive age from urban area in Croatia. U: Václavíková M, Vitale K, Gallios G, Ivaničová L (ur.) *Nato Science Series: Water Treatment Technologies for the Removal of High-Toxicity Pollutants*, Nato Sciences for Peace and Security Series: C-Environmental Security, Springer, Dordrecht, 29 – 39.
- Mikac N, Barišić D, Cukrov N, Kozar S, Kniewald G, Ouddane B. (2009) Dispersion of mercury pollution from the point pollution source in the semi-enclosed coastal area – Kastela Bay, Eastern Adriatic coast, 9th International Conference on Mercury as a Global pollutant, ICMGP China.

- Mikac N, Foucher I, Kwokal D Ž, Barišić D. (2006) Mercury and radionuclides in sediments of the Kaštela Bay (Croatia)-Evaluation of the sediments pollution history. *Croatica Chemica Acta* 79: 85-93.
- Myers G J, Davidson P. (2000) Does methylmercury have a role in causing developmental disabilities in children? *Environmental Health Perspective* 108 (3): 413–420.
- Najdek M, Bažulić D. (1983) Ostaci ukupne i metil žive u nekim ribama i školjkama sjevernog Jadrana. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*. 34:229-32.
- National Research Council (2000) Committee on the Toxicological Effects of Methylmercury. Board on Environmental Studies and Toxicology. *Toxicological Effects of Methylmercury*. National Academy Press Washington DC., p 13 Available from http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=9899&page=147.
- Petrić I. (1995) The impact of industrial pollution on mercury content in seafood and dietary intake. Master's thesis. Faculty of Medicine, University of Zagreb.
- Pranjić N, Bulat P, Brumen V, Jovanović J, Zavalić M, Tupković E, Beganić A, Bogadi-Šare A, Brekalo-Lazarević S, Kušljugić Z. (2007) Medicina rada. U: Pranjić N, (ur.) Živa Tuzla, Nacionalna i univerzitetska biblioteka Bosne i Hercegovine, Tuzla, 112 – 119.
- Ronchetti R, Zuurbier M, Jesenak M, Koppe JG, Ahmed UF, Ceccatelli S, Villa MP. (2006) Children's health and mercury exposure. *Acta Paediatrica* 95 (1) 453: 36–44.
- Ruggieri F, Majorani C, Domanico F, Alimonti A. (2017) Mercury in Children: Current State on Exposure through Human Biomonitoring Studies. *Journal of Environmental Research and Public Health*. 14(5): 519.
- Senta A, Pucarin-Cvetković J, Doko Jelinić J. (2004) Kvantitativni modeli namirnica i obroka. *Priručnik za poslijediplomsku nastavu*. Zagreb: Medicinska naklada.
- Schulz C, Angerer J, Ewers U, Kolossa-Gehring M. (2007) The German Human Biomonitoring Commission. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 210 (3-4):373-382.
- Sorenson N, Murata K, Budtz-Jorgensen E, Weihe P, Grandjean P. (1999) Prenatal methylmercury exposure as a cardiovascular risk factor at seven years of age. *Epidemiology* 10 (4): 370–375.

- Srebočan E, Pompe-Gotal J, Prevendar-Crnić E, Ofner E. (2007) Mercury concentrations in captive Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) farmed in the Adriatic Sea. *Veterinary Medicine* 52 (4):175–177.
- Srogi K. (2007) Mercury content of hair in different populations relative to fish consumption. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 189:107-130.
- The European Food Safety Authority's (EFSA) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain [CONTAM] related to Mercury and Methylmercury in food 2004. *The EFSA Journal* 34: 1–14. Available from http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/34.pdf
- Trasande L, Landrigan P J, Schechter C (2005) Public health and economic consequences of methyl mercury toxicity to the developing brain. *Environmental Health Perspective* 113: 590-596.
- Umwelt Bundesamt. Reference and HBM Values. Available from <http://www.umweltbundesamt.de/en/topics/health/commissions-working-groups/human-biomonitoring-commission/reference-hbm-values>
- United States Environmental Protection Agency (US EPA). Fish consumption advisory Available from <http://www.epa.gov/mercury/advisories.htm>.
- World Health Organisation-WHO Regional Office for Europe. Parma Declaration on Environment and Health. Fifth Ministerial Conference on Environment and health: Protecting children's health in a changing environment; 2010 Mar 10 – 12; Parma, Italy. Available from: http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0011/78608/E93618.pdf.
- World Health Organisation-WHO (1990a) Environmental health criteria 101: Methylmercury. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- World Health Organisation-WHO (1990b) International Program on Chemical Safety. Geneva, Switzerland: World Health Organization.