

**Możliwości wykorzystania biotestów
w procedurze szacowania ryzyka zdrowotnego
w warunkach narażenia środowiskowego
na emisję związków chemicznych
(*streszczenie*)**

ROZPRAWA DOKTORSKA

Radosław Czernych

Promotor

Prof. dr hab. Lidia Wolska

**Zakład Toksykologii Środowiska
Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa
i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej
Gdański Uniwersytet Medyczny**

Gdańsk 2016

STRESZCZENIE

Tematem niniejszej pracy było zastosowanie testów ekotoksycologicznych w metodyce szacowania ryzyka zdrowotnego w aspekcie narażenia środowiskowego na emisję związków chemicznych. W ramach prowadzonych prac badawczych wykonano serię badań oceniających obecność ftalanów w próbkach wody butelkowej, mleku modyfikowanym, mleku kobiecym oraz surowicy krwi. Następnie, za pomocą baterii testów (eko)toksykologicznych oceniono właściwości toksyczne ftalanów oraz ich wybranych metabolitów. Działanie cytotoksyczne, genotoksyczne oraz aktywność endokrynną ftalanów oceniono za pomocą testów: Microtox, UmuC Easy CS oraz Xenometrics YES/YAS. Za pomocą testu Microtox oceniono również zjawisko współdziaływania pomiędzy ftalanami. Możliwości zastosowania wybranych testów toksykologicznych oceniono na przykładzie oceny ryzyka zdrowotnego dziecka narażonego na ftalany w okresie prenatalnym oraz postnatalnym.

W wodzie butelkowanej została potwierdzona obecność DEP, DBP, BBzP oraz DEHP. W mleku modyfikowanym występowały zarówno ftalany, jak i ich metabolity (DMP, DEP, DBP, BBzP, DEHP, DiNP oraz MMP i MEP). Natomiast w mleku kobiecym oraz surowicy krwi stwierdzono obecność wyłącznie metabolitów ftalanów (MEP, MBP, MBzP, MEHP). Na tej podstawie stwierdzono, że dziecko w okresie rozwoju płodowego oraz późniejszego poza ustrojem matki jest narażone na szkodliwe działanie tych związków. Badania cytotoksyczności prowadzone za pomocą testu Microtox wykazały niską do umiarkowanej toksyczność ftalanów. Wartość parametru toksyczności EC_{50} zawierała się w przedziale od 0,37 do 3,81mM. Wyższą aktywnością charakteryzowały się metabolity. EC_{50} wynosiło 0,15 i 0,10mM odpowiednio dla MBP i MBzP. Potwierdzono występowanie zjawiska synergizmu pomiędzy diestrami, natomiast zjawisko addycji występowało w mieszaninach diestrów z monoestrami kwasu ftalowego. Ftalany, w odróżnieniu od ich metabolitów, nie wykazują właściwości genotoksycznych. Badanie właściwości antagonistycznych względem męskich i żeńskich hormonów płciowych wykazało silne działanie hamujące aktywność hormonów (IC_{50}). Najślabszymi właściwościami inhibicyjnymi względem E2 oraz DHT charakteryzuje się DEP, zaś najsilniejszymi DEHP oraz DiNP.

Z uwagi na istotne różnice w strukturze i funkcjonowaniu organizmów jednokomórkowych oraz złożonego układu biologicznego, jakim jest człowiek, bezpośrednie stosowanie wybranych testów ekotoksycologicznych w ocenie ryzyka zdrowotnego człowieka nie jest możliwe. Zastosowane testy umożliwiają jednak uzyskanie cennych, z punktu widzenia oceny ryzyka zdrowotnego, informacji na temat nie tylko samych ftalanów, ale również ich metabolitów. Zaleca się stosowanie testów *in vitro*, jako badania „pierwszego rzędu”. Opisane testy stanowią bardzo przydatne narzędzie wspomagające ukierunkowanie prowadzonej oceny ryzyka zdrowotnego i, w ten sposób, ograniczenie marginesu niepewności nie wynikającego z przyjętej metodyki badawczej, ale raczej obszaru niewiedzy odnośnie właściwości oraz mechanizmów toksycznego działania. Dzięki uzyskanej wiedzy ograniczona zostanie liczba badań wykorzystujących organizmy wyższe.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the possibility of application of ecotoxicological test in the health risk assessment methodology related with environmental exposure to emissions of multiple chemical compounds. As part of the research a series of experiments on the presence of phthalates in samples of bottled water, infant formulae, breast milk and blood serum were performed. Then, by using the (eco)toxicity test battery, toxic properties of the selected phthalates and their metabolites were measured. Cytotoxicity, genotoxicity and endocrine activity of phthalates was assessed by using the following tests: Microtox, UmuC Easy CS and Xenometrics YES/YAS. The phenomenon of interaction between phthalates was assessed by using the Microtox test. Possible applications of selected (eco)toxicological tests in health risk assessment were investigated on the example of health risk assessment of a child exposed to phthalates during the prenatal and postnatal life period.

In bottled water the presence of DEP, DBP, DEHP and BBzP was confirmed. In the infant formulas occurred both phthalates, and their metabolites (DMP, DEP, DBP, BBzP, DEHP, DINP and MMP and MEP). However, in the breast milk and plasma only phthalates' metabolites were detected (MEP MBP MBzP, MEHPA). On this basis, it was assumed that a child is exposed to the harmful effects of these compounds during fetal development and later outside mother's organism. Cytotoxicity assay showed low to moderate toxicity of phthalates. Toxicity parameter EC_{50} value ranged from 0.37 to 3,81mM. Metabolites showed higher toxic activity. EC_{50} was 0.15 and 0.10mm for MBP and MBzP, respectively. Assessment of interactions indicated that synergism occurs in diesters binary mixtures whereas additive effect is mainly observed in mixtures of phthalates and their metabolites. Phthalates, contrary to their metabolites, show no significant genotoxic potential. The YES/YAS test indicated antagonistic properties of phthalates with respect to the male and female sex hormones. An inhibiting activity of phthalates was described by using the IC_{50} parameter. The weakest antagonistic androgenic and estrogenic properties had DEP and the strongest DEHP and DINP.

Due to significant differences in the structure and functioning of the test organisms as well as biological complexity of human organism, a direct application of selected ecotoxicological tests in the health risk assessment procedure is not possible. However, applied tests allow to obtain valuable information on tested substances and their metabolites. It is recommended to use a battery of *in vitro* assays, as "first tier" assessment tool. Described tests are a very useful as a screening tool that is able to assess possible toxicity mechanisms, thus, may contribute to a significant reduction of margin of uncertainty deriving from a lack of knowledge as well as higher organisms testing.

