

ΠΡΟΑΓΟΝΤΑΣ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΑΠΟ ΧΗΜΙΚΑ ΜΕ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΒΑΣΙΖΟΜΕΝΗ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Σ. Καρακίτσιος^{1,2*}, Δ. Σαρηγιάννης^{1,2,3}

¹Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μηχανικής, Πολυτεχνική Σχολή, Θεσσαλονίκη 54124, Ελλάδα

²HERACLES Ερευνητικό Κέντρο Εκθεσιώματος και Υγείας, Κέντρο Διεπιστημονικής Έρευνας και Καινοτομίας (ΚΕΔΕΚ), Balkan Center, Κτίριο. Β, 10^ο χλμ Θεσσαλονίκης-Θέρμης, 57001, Ελλάδα

³School for Advanced Study (IUSS), Science, Technology and Society Department, Environmental Health Engineering, Piazza della Vittoria 15, Pavia 27100, Italy

(*spyros@eng.auth.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα μοντέλα βιοκινητικής (PBBK) που βασίζονται στη φυσιολογία παρουσιάζουν αυξανόμενο ενδιαφέρον στη σύγχρονη εκτίμηση κινδύνου, παρέχοντας ποσοτικές πληροφορίες σχετικά με την απορρόφηση, το μεταβολισμό, τη διανομή και την απέκκριση (ADME). Επικεντρώνονται στην εκτίμηση της αποτελεσματικής δόσης σε συγκεκριμένες περιοχές στόχους, με σκοπό την ταυτοποίηση των ξενοβιοτικών επιπέδων που είναι ικανά να προκαλέσουν διαταραχές στη βιολογική οδό και είναι πιθανώς συνδεδεμένες με αρνητικές εκβάσεις. Η τρέχουσα μελέτη στοχεύει στην ανάπτυξη ενός γενικευμένου μοντέλου PBBK που καλύπτει ένα μεγάλο χημικό χώρο, σε συνδυασμό με ένα πλαίσιο για την αφομοίωση των δεδομένων ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM). Η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε, χρησιμοποιήθηκε στην περίπτωση της δισφαινόλης Α (BPA), όπου η ανάλυση της έκθεσης βασίστηκε σε ευρωπαϊκά δεδομένα HBM. Βάσει των υπολογισμών μας, διαπιστώθηκε ότι τα τρέχοντα επίπεδα έκθεσης στην Ευρώπη είναι κάτω από την προσωρινή ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (t-TDI) των 4 μg/kg_{bw}/day που προτείνεται από την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA). Λαμβάνοντας υπόψη τις διαφορές της βιοδιαθεσιμότητας ανάλογα με την ηλικία, η εσωτερική έκθεση εκτιμήθηκε και συγκρίθηκε με τη βιολογικά ενεργή δόση (BED) που προέκυψε από τη μετάφραση της προσωρινής συνολικής ημερήσιας πρόσληψης (t-TDI) της EFSA σε ισοδύναμη εσωτερική δόση και την εναλλακτική τιμή αναφοράς εσωτερικής έκθεσης, γνωστή και ως μεταβολική δόση βιολογικής οδού (BPAD). Η χρήση μιας τέτοιας μετρικής έκθεσης έδειξε ότι τα περιβαλλοντικά σημαντικά επίπεδα έκθεσης είναι κάτω από τις συγκεντρώσεις που συνδέονται με την ενεργοποίηση βιολογικών μονοπατιών σχετικών με την τοξικότητα που βασίζονται σε in vitro μελέτες διαλογής υψηλής απόδοσης (HTS).

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Μία από τις κύριες εφαρμογές της εσωτερικής δοσιμετρίας είναι η ενσωμάτωση δεδομένων έκθεσης και ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM). Λεπτομερέστερα, η εσωτερική δοσιμετρία στοχεύει (i) στην απόκτηση της χρονικής πορείας των τοξικών ουσιών στους ανθρώπινους ιστούς, με ιδιαίτερη έμφαση στα ευαίσθητα αναπτυξιακά στάδια, (ii) στην παροχή ολοκληρωμένης ερμηνείας των δεδομένων HBM που σχετίζονται με τις ομάδες, για την ποσοτικοποίηση προσωποποιημένης έκθεσης, και (iii) την εξαγωγή των τιμών της βιολογικά ενεργής δόσης (BED) για τη συσχέτισή τους με αρνητικές εκβάσεις. Για την επίτευξη αυτών των στόχων, αναπτύχθηκε ένα γενικευμένο μοντέλο βασιζόμενο στην φυσιολογία (PBBK)^[1], το οποίο περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση των χημικών μιγμάτων^[2], και ένα σύνολο αλγορίθμων ανακατασκευής έκθεσης, ξεκινώντας από δεδομένα HBM^[3]. Για την επέκταση του χημικού χώρου που καλύπτεται από το γενικευμένο μοντέλο PBBK, έχουν αναπτυχθεί προηγμένα μοντέλα ποσοτικής σχέσης δομής-δραστηριότητας (QSARs) για την παραμετροποίησή του όσον αφορά τις χημικές ουσίες για τις οποίες υπάρχουν ελλιπή δεδομένα. Για την ανακατασκευή της έκθεσης με βάση τα δεδομένα

HBM^[4], έχει αναπτυχθεί μια μεθοδολογία πολλαπλών βαθμίδων, η οποία υπολογίζει τη διαθεσιμότητα των δεδομένων (δηλ. τον αριθμό των δειγμάτων που συλλέγονται για την καταγραφή της μεταβλητότητας μεταξύ των ατόμων), καθώς και τις ανάγκες της εκτίμησης της έκθεσης (π.χ., η εκτίμηση μέγιστης ημερήσιας έκθεσης κατά τη διάρκεια της ημέρας). Έτσι, διατίθενται διάφορες μέθοδοι, συμπεριλαμβανομένων των παραγόντων μετατροπής έκθεσης (ECF) και της ανάλυσης Markov Chain Monte Carlo. Η ανάγκη για ανάπτυξη γενικευμένων μοντέλων PBBK έχει μεγάλη σημασία στη σύγχρονη εκτίμηση κινδύνου, ειδικά για τις ενώσεις όπου οι τοξικοκινητικές ιδιότητες παίζουν ιδιαίτερο ρόλο στις αρνητικές τους επιδράσεις στον άνθρωπο. Μεταξύ αυτών των ενώσεων, η δισφαινόλη Α (BPA), είναι ένας κοινώς χρησιμοποιούμενος πλαστικοποιητής με αυξημένο επιστημονικό και ρυθμιστικό ενδιαφέρον. Η BPA χρησιμοποιείται στην κατασκευή πολυανθρακικών πλαστικών και εποξειδικών ρητινών, τα οποία χρησιμοποιούνται εκτενώς σε φιάλες μωρών (η χρήση τους είναι πλέον απαγορευμένη) ως προστατευτικές επικαλύψεις σε δοχεία τροφίμων καθώς και στην οδοντιατρική. Άλλες εφαρμογές της BPA περιλαμβάνουν τις βιομηχανίες θερμικού χαρτιού και χλωριούχου πολυβινυλίου. Η BPA έχει χαρακτηριστεί ως χημικό που προκαλεί ενδοκρινικές διαταραχές (EDC). Έχει προταθεί ότι η έκθεση στη BPA, μέσω της μήτρας, μπορεί να διαταράξει την ανάπτυξη της πρώιμης ζωής. Πολλές μελέτες *in vitro* και *in vivo* (σε ζώα) κατέδειξαν ότι οι δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία λόγω της έκθεσης σε BPA μπορούν να συμβούν και εξαιτίας του περιβάλλοντος^[5]. Η BPA είναι μία από τις ενώσεις με την μεγαλύτερη αμφισβήτηση όσον αφορά την τοξικοκινητική της. Αν και η γλυκουρονιδίωση της BPA (η οποία είναι η κύρια οδός απομάκρυνσης) είναι πολύ γρήγορη σε πρώιμα αναπτυξιακά στάδια, η εσωτερική έκθεση είναι υψηλότερη λόγω της διαδικασίας της ανώριμης αποτοξίνωσης^[6]. Με βάση τα παραπάνω, η μελέτη στοχεύει στην παροχή απαντήσεων σχετικά με τους κινδύνους που συνδέονται με την έκθεση της BPA στον ευρωπαϊκό πληθυσμό, ξεκινώντας από τα δεδομένα HBM. Για το σκοπό αυτό, αναπτύχθηκε ένα γενικευμένο μοντέλο PBBK, το οποίο αντιπροσωπεύει τα αρχικά στάδια ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένης της έκθεσης *in utero*) και καλύπτει ταυτόχρονα ένα μεγάλο χημικό χώρο και β) τα δεδομένα HBM εξομοιώνονται με ένα μαθηματικό πλαίσιο ανασυγκρότησης έκθεσης, σε συνδυασμό με το μοντέλο PBBK. Πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι το μοντέλο PBBK ενσωματώνει τις κύριες οδούς έκθεσης, δηλαδή την εισπνοή, από το στόμα και από το δέρμα), και περιλαμβάνει πολλαπλά διαμερίσματα, καθώς και δέσμευση σε πρωτεΐνες πλάσματος και σύνδεση ερυθρών αιμοσφαιρίων. Ταυτόχρονα, το μοντέλο είναι ικανό να προσομοιώνει τα επίπεδα των μητρικών ενώσεων και των μεταβολιτών τους στους διάφορους ιστούς και τα βιολογικά υγρά (συμπεριλαμβανομένου του μητρικού γάλακτος). Πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι η αξιολόγηση της εσωτερικής δόσης με τη χρήση μοντέλων PBBK επιτρέπει τον υπολογισμό των εσωτερικών δόσεων ξеноβιοτικών, πάνω από τα κατώτατα όρια που σχετίζονται με μεταβολές της βιολογικής οδού που μπορεί να έχουν σχέση με τα αρνητικά αποτελέσματα. Η λεγόμενη δόση που τροποποιεί το βιολογικό μονοπάτι (BPAD) παρέχει πρόσθετα πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τις υφιστάμενες μετρήσεις κινδύνου, δεδομένου ότι συνδυάζει δεδομένα δόσης-απόκρισης με την ανάλυση της αβεβαιότητας και της μεταβλητότητας του πληθυσμού, έτσι ώστε να προκύπτουν όρια έκθεσης και μπορούν να προκύψουν από υψηλής απόδοσης (HTS) δεδομένα *in vitro*. Η γενική δυνατότητα εφαρμογής του αναπτυγμένου μοντέλου PBBK στην προώθηση των εννοιών αξιολόγησης κινδύνου επιδεικνύεται στην περίπτωση της BPA.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Το βιοκινητικό μοντέλο με βάση τη φυσιολογία που αναπτύχθηκε και περιγράφηκε σε αυτή τη μελέτη έχει σχεδιαστεί για να λαμβάνει υπόψη την εξέλιξη της ενζυματικής δραστηριότητας και διαθεσιμότητας, καθώς και την αλλαγή στον όγκο των οργάνων και τα χαρακτηριστικά ροής αίματος κατά τη διάρκεια της ανθρώπινης ζωής. Αυτά τα χαρακτηριστικά προσδιορίζουν τις συνολικές ιδιότητες ADME του ανθρώπινου σώματος, επιτρέποντας στο μοντέλο να καλύπτει ένα μεγάλο χημικό χώρο, εάν είναι κατάλληλα παραμετροποιημένο. Η μαθηματική διατύπωση που

υιοθετείται περιγράφει τις διεργασίες ADME για ένα ευρύ φάσμα ξеноβιοτικών και για τους μεταβολίτες τους, φτάνοντας μέχρι τρεις γενιές μεταβολιτών.

Ένα βασικό πρόβλημα με τα γενικευμένα μοντέλα PBBK είναι η ανάγκη να εκτιμηθούν ποσοτικά οι τιμές ενός μεγάλου αριθμού φυσικοχημικών (π.χ. συντελεστής κατανομής οκτανόλης-νερού, K_{ow}) και βιοχημικών (π.χ. V_{max} και K_m) παραμέτρων που αντιστοιχούν σε μεγάλο αριθμό φυσιολογικών και ανατομικών διαμερισμάτων και ροών βιολογικών υγρών. Συνήθως, απαγορευτικά μεγάλη ποσότητα πειραμάτων *in vivo* και, ενδεχομένως, *in vitro* απαιτείται για την εκτέλεση της σωστής παραμετροποίησης του μοντέλου, ενώ η μεταξύ των ειδών παρεκβολή στις τιμές αυτών των παραμέτρων εισάγει μια σημαντική πηγή αβεβαιότητας στη διάταξη μοντέλου και, τελικά, τα αποτελέσματά της. Η μελέτη μας έδειξε ότι είναι εφικτό να χρησιμοποιούμε ποσοτικές σχέσεις δομής-δραστηριότητας (QSARs) για να εκτιμήσουμε τις παραμέτρους του μοντέλου και να διασφαλίσουμε ότι το μοντέλο θα αποδίδει καλά για ένα ευρύ φάσμα χημικών ουσιών. Η εξίσωση διαλυτότητας του Abraham χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση τέτοιων βιολογικών/βιοχημικών ιδιοτήτων. Η διατύπωση QSAR λαμβάνει υπόψη μοριακές ιδιότητες όπως:

- υπερβολική μοριακή διάθλαση, μια ιδιότητα που μπορεί να προσδιοριστεί εάν ο συνθετικός δείκτης διάθλασης είναι γνωστός,
- διπολικότητα/πολικότητα συστατικού,
- οξύτητα δεσμών υδρογόνου διαλυμένης ουσίας,
- βασικότητα δεσμών υδρογόνου διαλυμένης ουσίας, και
- χαρακτηριστικός όγκος McGowan που μπορεί να υπολογιστεί με βάση τη μοριακή δομή της διαλυμένης ουσίας.

Η σύζευξη της εξίσωσης διαλυτότητας του Abraham με τους αλγόριθμους μηχανικής μάθησης, όπως τα τεχνητά νευρωνικά δίκτυα με ανατροφοδότηση προς τα πίσω, δίνει εξαιρετικά αποτελέσματα όσον αφορά την πρόβλεψη βιολογικών/βιοχημικών ιδιοτήτων όπως είναι οι συντελεστές κατανομής ιστού-αίματος, η μέγιστη ταχύτητα (V_{max}) και η σταθερά Michaelis—Menten. Στην πραγματικότητα, η ικανότητα πρόβλεψης του QSAR μοντέλου όσον αφορά τη σταθερά Michaelis-Menten μετακινήθηκε από μάλλον φτωχή (R^2 από 0.35 σε 0.88) για 85 χημικές ουσίες [18], ενώ η ικανότητα πρόβλεψης των συντελεστών κατανομής μοντέλου και v_{max} ήταν πολύ υψηλή (R^2 πάνω από 0,9) [7, 8]. Σε αυτή τη μελέτη χρησιμοποιήθηκε το ολοκληρωμένο μοντέλο PBBK που αναπτύχθηκε από τους Sarigiannis et al. [9] για τη BPA. Το μοντέλο περιγράφει λεπτομερώς τις διαδικασίες ADME που σχετίζονται με την BPA και τον συζευγμένο μεταβολίτη της, BPA-Glu. Η τελευταία χρησιμοποιήθηκε επειδή η κύρια οδός αποτοξίνωσης της BPA είναι η γλυκουρονιδίωση φάσης II. Το αρχικό μοντέλο κλιμακώνεται για τα παιδιά χρησιμοποιώντας τη φυσιολογική προσέγγιση που προτείνεται από τον Edginton et al. [10], και δεδομένα σχετικά με την οντογένεση των ενζύμων (γλυκοτρανσφεράσες) εμπλέκονται στην αποτοξίνωση του BPA. Σύμφωνα με μια μέθοδο παρόμοια με εκείνη των Edginton και του Ritter [11], η κάθαρση πλάσματος (CL_H) από τους ενήλικες μετατράπηκε σε ενδογενή κάθαρση (Cl_{int}) χρησιμοποιώντας το μοντέλο αντιδραστήρα με καλά αναδευμένο, φυσιολογικά δεδομένα σχετικά με τη ροή αίματος στο ήπαρ (Q_H , mL/min), μη δεσμευμένο κλάσμα της BPA στο πλάσμα (f_u). Η απέκκριση με τα ούρα (με τη μορφή BPA-Glu) είναι ο μόνος μηχανισμός εξάλειψης. Βελτιστοποιήσαμε τη νεφρική κάθαρση πλάσματος του BPA-Glu ($CL_{BPA-Glu}$) κατά την ανάπτυξη του μοντέλου για τους ενήλικες και το συγκρίναμε με τις τιμές που προέρχονται από τους Volkel et al. [12]. Οι αλγόριθμοι αναστροφής μοντελοποίησης που εφαρμόστηκαν στο μοντέλο PBBK μας επέτρεψαν να ανακατασκευάσουμε την έκθεση από τα δεδομένα ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM). Ο στόχος είναι να εκτιμηθούν οι κατανομές των εισροών που εξηγούν τα μετρούμενα δεδομένα βιοπαρακολούθησης και συγχρόνως να ελαχιστοποιηθεί το υπολειπόμενο σφάλμα. Προς το σκοπό αυτό, απαιτούνται επιπλέον βοηθητικές πληροφορίες σχετικά με την έκθεση, που σχετίζονται με την περιβαλλοντική μόλυνση και τις ανθρώπινες δραστηριότητες (συμπεριλαμβανομένης της διατροφής και των

καταναλωτικών προϊόντων. Μια επαναληπτική υπολογιστική μεθοδολογία αναπτύχθηκε με βάση την Bayesian Markov Chain Monte Carlo (MCMC), σε συνδυασμό με το γενικευμένο μοντέλο PBBK με στόχο την ακριβή ανακατασκευή της έκθεσης.

Ο πιο αποτελεσματικός τρόπος εκτίμησης της έκθεσης και της πρόσληψης είναι η χρήση δεδομένων ανθρώπινης παρακολούθησης. Για την αξιολόγηση της έκθεσης σε BPA, τα δεδομένα HBM συλλέχθηκαν από τη διαθέσιμη βιβλιογραφία. Στις πιο πρόσφατες μελέτες, τα επίπεδα της BPA των ούρων (με τη μορφή του γλυκουρονιδιωμένου μεταβολίτη) μετρήθηκαν σε περίπου 2 µg/L. Οι συγκεντρώσεις της BPA στα ούρα στη Γερμανία (GerES) εξαρτώνται από την ηλικία των παιδιών: 3,5, 2,8, 2,1 και 2,6 µg/L για παιδιά ηλικίας 3-5, 6-8, 9-11 και 12-14 ετών αντίστοιχα. Παρόμοια επίπεδα (2,5 µg/L) καταγράφηκαν στη Γαλλία^[13] για έγκυες γυναίκες. Σύμφωνα με το γερμανικό ESB^[14], οι συγκεντρώσεις BPA στα ούρα μειώθηκαν από 2 µg/L το 1995 σε 1,3 µg/L το 2009. Η μελέτη DEMOCOPHES^[15] παρείχε αποτελέσματα για τα επίπεδα BPA στα ούρα στο Βέλγιο (2,6 µg/L), Δανία (2,2 µg/L), Λουξεμβούργο (1,9 µg/L), Σλοβενία (2,1 µg/L), Ισπανία (2,1 µg/L) και Σουηδία (1,4 µg/L)^[16].

Επιπλέον, διεξήχθη χαρακτηρισμός κινδύνου της BPA, χρησιμοποιώντας διάφορα εργαλεία που σχετίζονται με την εκτίμηση εξωτερικής και εσωτερικής έκθεσης. Αρχικά, η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) όρισε τα 4 µg/kg_bw/day ως ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (t-TDI)^[17]. Οι επιλογές για την αξιολόγηση των επιπέδων έκθεσης περιλάμβαναν:

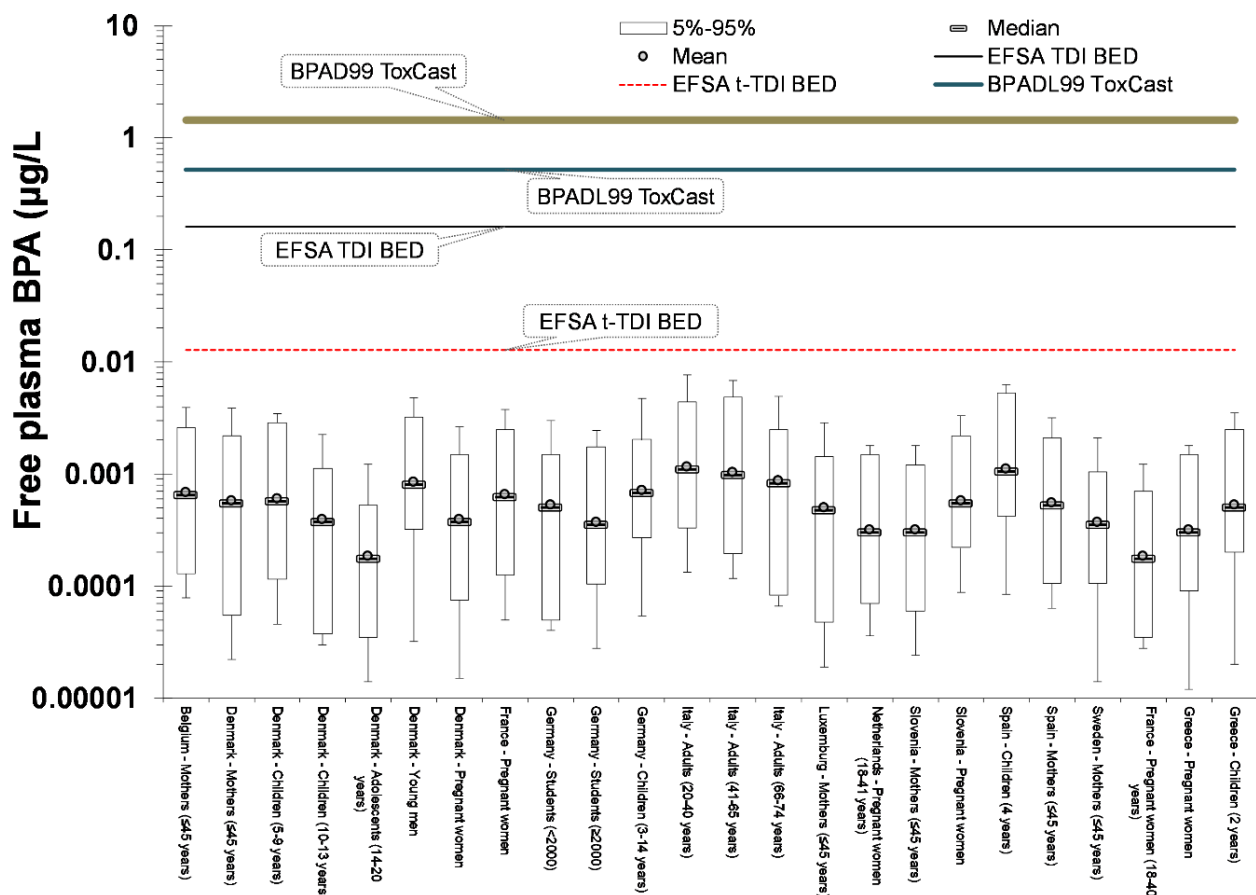
- Άμεση σύγκριση των εκτιμήσεων πρόσληψης ανακατασκευής έκθεσης με την ανεκτή ημερήσια πρόσληψη 4 µg/kg_bw/day, όπως ορίστηκε από την EFSA t-TDI.

- Χρήση τιμής βιολογικής παρακολούθησης (BE) για δεδομένα ούρων. Η δόση αναφοράς για τη εκτίμηση της τιμής BE ήταν η EFSA t-TDI 4 µg/kg_bw/day. Θεωρήθηκε ότι η δόση χορηγείται από σε ενήλικα άτομα, σωματικού βάρους 70 kg, από το στόμα με σταθερό ρυθμό κατά τη διάρκεια της ημέρας. Μετά από αυτό, η πρόσληψη τροφοδοτήθηκε στο μοντέλο PBBK και υπολογίστηκε η συγκέντρωση BPA-Glu στα ούρα (280 µg/L).

- Λαμβάνοντας υπόψη τους περιορισμούς του εκ των υστέρων υπολογισμού της έκθεσης με βάση τα επίπεδα BPA-Glu στα ούρα, πρέπει να εξεταστεί το ενδεχόμενο χρήσης άλλης μετρικής έκθεσης μεγαλύτερης σημασίας που θα λαμβάνει υπόψη την τοξικότητα των ξενοβιοτικών. Για τον σκοπό αυτό, η BPA πλάσματος επιλέχθηκε ως περιγραφική μετρική που συνδέεται με τη βιολογικά ενεργή δόση (BED). Η χρήση αυτής της εσωτερικής μέτρησης έκθεσης μας επιτρέπει να διαφοροποιούμε περαιτέρω την εσωτερική και εξωτερική έκθεση ως αποτέλεσμα των διαφορών βιοδιαθεσιμότητας που σχετίζονται με το αναπτυξιακό στάδιο, το σημείο εισόδου και τη γενετική. Η χρήση μετρήσεων εσωτερικής δοσιμετρίας επιτρέπει τη χρήση in vitro τοξικολογικών δεδομένων για τον χαρακτηρισμό του κινδύνου. Σε αυτή την περίπτωση, αντί της εξωτερικής δόσης αναφοράς όπως η EFSA t-TDI, χρησιμοποιήθηκε μία δόση αναφοράς in vitro. Οι in vitro δοκιμαστικές σειρές του ToxCast BPA παρείχαν έξι ER αγωνιστές ή τιμές σύνδεσης AC50 για BPA, κυμαινόμενες από 0,6 έως 1,7 µM. Για να υπολογιστεί μια συντηρητική Δόση Μεταβολής της Βιολογικής Οδού (BPAD), επιλέχθηκε το χαμηλότερο ToxCast AC50, το οποίο είναι 0,64 µM για τον Παράγοντα Ανίχνευσης cis ERE. Συμπεριλαμβανομένων των παραγόντων αβεβαιότητας που σχετίζονται με την απόκριση πληθυσμού σε ξενοβιοτικά, παράγονται δύο διαφορετικές τιμές, δηλαδή το BPAD99, το οποίο είναι το επιτρεπόμενο επίπεδο έκθεσης που αντιπροσωπεύει τη μεταβλητότητα του πληθυσμού και το BPADL99, το οποίο είναι το επιτρεπτό επίπεδο έκθεσης που λαμβάνει υπόψη την αβεβαιότητα. Χρησιμοποιώντας την αντίστροφη τοξικοκινητική προσέγγιση που αντιστοιχεί στη συγκέντρωση σε σταθερή κατάσταση διαιρούμενη με το ρυθμό δόσης, οι αντίστοιχες εκτιμώμενες παράμετροι του πληθυσμού δίνουν μια τιμή BPAD99 0,44 µg/kg_bw/d, με χαμηλότερο όριο εμπιστοσύνης μονομερούς, BPADL99, 0,16 mg/kg/d^[18]. Χρησιμοποιώντας αυτές τις τιμές εξωτερικής έκθεσης στο μοντέλο μας PBTK, λαμβάνουμε ισοδύναμη εσωτερική δόση 1,44 και 0,52 µg/L αντίστοιχα. Αυτές οι συγκεντρώσεις είναι σχεδόν δύο τάξεις μεγέθους υψηλότερες από τη BED που προέρχεται από την EFSA t-TDI (0,013 µg/L).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Με βάση τις εκτιμήσεις εξωτερικής και εσωτερικής έκθεσης που περιγράφηκαν παραπάνω, καθώς και από τα ίδια τα δεδομένα βιοπαρακολούθησης, προέκυψαν δείκτες χαρακτηρισμού κινδύνου (RCR) για τις διάφορες ηλικιακές ομάδες. Ανεξάρτητα από τη μέθοδο RCR, ο μέσος κίνδυνος για τον ευρωπαϊκό πληθυσμό είναι χαμηλός (RCR περίπου 0,01), όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 1. Για όλα τα άτομα (συμπεριλαμβανομένων αυτών στο άνω μέρος της κατανομής), $RCR < 1$, ανεξάρτητα από την χρησιμοποιούμενη μέθοδο. Πρέπει να σημειωθεί ότι εάν το RCR είχε υπολογιστεί μόνο με βάση τις συγκεντρώσεις ούρων, οι εκτιμώμενοι κίνδυνοι θα ήταν χαμηλότεροι. Στην πράξη, αυτό είναι ένα τεχνούργημα της σύγκρισης μεταξύ (α) μίας συγκέντρωσης ούρων σε κατάσταση ισορροπίας, με (β) μία συγκέντρωση ούρων που εκτιμάται δυναμικά στο χρόνο, καταγράφοντας συνεχώς μειούμενα επίπεδα ούρων που εξαλείφθηκαν κατά τη διάρκεια της νύχτας, και που συλλέγονται στο πρώτο κενό πρωινού. Από την άλλη πλευρά, η χρήση μετρήσεων εσωτερικής δόσης δεν διαφοροποίησε σημαντικά τα αποτελέσματα του RCR σε σύγκριση με τα εξωτερικά αποτελέσματα πρόσληψης. Αυτό ήταν αναμενόμενο, επειδή το πρώτο, υπολογίστηκε με βάση τις εκτιμήσεις πρόσληψης από δεδομένα βιοπαρακολούθησης, τα οποία έχουν ήδη υπολογιστεί για τις φυσιολογικές παραμέτρους που απαιτούνται για το μοντέλο PBBK. Χρησιμοποιώντας το BPAD ως τιμή αναφοράς για την εσωτερική δόση, διαπιστώθηκε ότι ακόμη και στην χειρότερη περίπτωση, τα τρέχοντα επίπεδα έκθεσης είναι περισσότερο από 10 φορές χαμηλότερα από το BPADL99, υποδεικνύοντας ότι δεν υπάρχει λόγος ανησυχίας όσον αφορά την έκθεση σε BPA.



Σχήμα 1. Free plasma BPA for the population included in the included HBM studies (refined internal exposure analysis)

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ξεκινώντας από τη συλλογή δεδομένων HBM και χρησιμοποιώντας ένα βιοκινητικό μοντέλο που βασίζεται στην ανθρώπινη φυσιολογία σε συνδυασμό με έναν αλγόριθμο αναδόμησης της

έκθεσης, η έκθεση σε BPA στον ευρωπαϊκό πληθυσμό εκτιμάται ότι είναι σχεδόν δύο τάξεις μεγέθους χαμηλότερη από το αντίστοιχο όριο συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης (t-TDI) που έχει προταθεί από την EFSA και είναι ίσο με 4 $\mu\text{g}/\text{kg_bw}/\text{ημέρα}$. Μεταξύ των ομάδων πληθυσμού που μελετήθηκαν, εκτιμήθηκαν υψηλότερα μέσες τιμές ορίων πρόσληψης για τα παιδιά. Από την άλλη πλευρά, τα παραπλήσια μεγιστα επίπεδα ημερήσιας πρόσληψης σε όλες τις ηλικιακές ομάδες (περίπου 0.8 $\mu\text{g}/\text{kg_bw}/\text{ημέρα}$) για όλες τις ηλικιακές ομάδες, δείχνουν ότι εξακολουθούν να υπάρχουν σημαντικές πηγές έκθεσης τόσο για τους ενήλικες, όσο και για τα παιδιά. Επιπλέον, αυτά τα επίπεδα έκθεσης μπορεί να οδηγήσουν σε ημερήσια AUC που είναι παρόμοια με εκείνη που συντελείται σε επίπεδα πρόσληψης ισοδύναμα με του EFSA t-TDI, σε άτομα που αυτά τα επίπεδα ημερήσιας πρόσληψης συνδυάζονται με την παρουσία αλληλομόρφων που σχετίζονται με βραδύτερο μεταβολισμό. Η πολύπλευρη μέθοδος που παρουσιάζεται εδώ παρέχει ακριβέστερες εκτιμήσεις ημερήσιας πρόσληψης σε σύγκριση με τη μέθοδο που βασίζεται στο ισοζύγιο μάζας των μετρούμενων συγκεντρώσεων στα ούρα, καθώς η χρήση βιοκινητικών μοντέλων βασισμένων στη φυσιολογία επιτρέπει τη συνολική περιγραφή της δυναμικής στο χρόνο της έκθεσης και της απομάκρυνσης (συμπεριλαμβανομένου του μεταβολισμού και της απέκκρισης). Αυτό υπογραμμίζει τη σημασία της χρήσης τεχνικών αναδόμησης της έκθεσης, υποστηριζομένων από μοντέλα PBBK για ξеноβιοτικά τα οποία μεταβολίζονται και απεκκρίνονται ταχέως, όπως η BPA.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Sarigiannis DA, Karakitsios SP. AICHE 2012. (2012) Pittsburgh, PA.
- [2] Sarigiannis DA, Gotti A. Fresenius Environmental Bulletin, 17(9 B) (2008) 1439-1451
- [3] Georgopoulos PG, Sasso AF, Isukapalli SS, Liou PJ, Vallero DA, Okino M, Reiter L. Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology, 19(2) (2008) 149-171
- [4] Andra SS, Charisiadis P, Karakitsios S, Sarigiannis DA, Makris KC. Environ Res, 136 (2015) 187-95
- [5] Rochester JR. Reproductive Toxicology, 42 (2013) 132-155
- [6] Ginsberg G, Rice DC. Environmental Health Perspectives, 117(11) (2009) 1639-1643
- [7] Sarigiannis DA, Papadaki K, Kontoroupi P, Karakitsios SP. Food and Chemical Toxicology, 106(Part A) (2017) 114-124
- [8] Papadaki KC, Karakitsios SP, Sarigiannis DA. Food and Chemical Toxicology, 110 (2017) 274-285
- [9] Sarigiannis DA, Karakitsios SP, Handakas E, Simou K, Solomou E, Gotti A. Food and Chemical Toxicology, 98 (2016) 134-147
- [10] Edginton AN, Schmitt W, Voith B, Willmann S. Clinical Pharmacokinetics, 45(7) (2006) 683-704
- [11] Edginton AN, Ritter L. Environmental Health Perspectives, 117(4) (2009) 645-652
- [12] Völkel W, Kiranoglu M, Fromme H. Toxicology Letters, 179(3) (2008) 155-162
- [13] Vandentorren S, Zeman F, Morin L, Sarter H, Bidondo ML, Oleko A, Leridon H. Environ Res, 111(6) (2011) 761-4
- [14] UBA. UBA (Federal Environment Agency), 2012b. The German Environment Specimen Bank. 2012; Available from: <http://www.umweltprobenbank.de>.
- [15] DEMOCOPHES, (2013). DEMOCOPHES Layman's report - Human biomonitoring on a European scale,
- [16] Covaci A, Hond ED, Geens T, Govarts E, Koppen G, Frederiksen H, Knudsen LE, Mørck TA, Gutleb AC, Guignard C, Cocco E, Horvat M, Heath E, Kosjek T, Mazej D, Tratnik JS, Castaño A, Esteban M, Cutanda F, Ramos JJ, Berglund M, Larsson K, Jönsson BAG, Biot P, Casteleyn L, Joas R, Joas A, Bloemen L, Sepai O, Exley K, Schoeters G, Angerer J, Kolossa-Gehring M, Fiddicke U, Aerts D, Koch HM. Environmental Research, *in press* (2014)
- [17] EFSA EFSA. EFSA Journal, 13(1) (2015)
- [18] Judson RS, Kavlock RJ, Setzer RW, Cohen Hubal EA, Martin MT, Knudsen TB, Houck KA, Thomas RS, Wetmore BA, Dix DJ. Chemical Research in Toxicology, 24(4) (2011) 451-462