HLADINY METABOLITŮ FTALÁTŮ, POLYAROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ A BISFENOLU A V MOČI ČESKÝCH STUDENTŮ (PILOTNÍ STUDIE)

LEVELS OF METABOLITES OF PHTHALATES, POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS AND BISPHENOL A IN THE URINE OF CZECH STUDENTS (PILOT STUDY)

ANNA PINKR GRAFNETTEROVÁ¹, KAREL VRBÍK¹, MAREK MALÝ¹, JANA PAVLOUŠKOVÁ¹,
ANDREA KRŠKOVÁ¹, ANNA DRGÁČOVÁ¹, VÍTEZSLAV JIŘÍK², SYLVA RÖDLOVÁ³, MILENA
ČERNÁ^{1,3}

¹*Státní zdravotní ústav, Praha*

²*Ostravská univerzita v Ostravě, Lékařská fakulta, Ústav epidemiologie a ochrany veřejného zdraví, Ostrava*

³*Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta, Ústav obecné hygieny, Praha*

SOUHRN

Sledování expozice látkám, široce užívaným v průmyslu, a vyhodnocení jejich koncentrací v těle člověka, je jedním z hlavních cílů biologického monitorování obyvatel.

V pilotní studii byla sledována hladina metabolitů ftalátů diethylhexylftalátu (DEHP), vybraných metabolitů polyaromatických uhlovodíků a bisfenolu A v moči ve vztahu k možným expozičním zdrojům sledovaných dotazníkovým šetřením. Do studie bylo zařazeno 95 studentů nekuřáků ve věkovém rozmezí 20 až 29 let (44 mužů a 51 žen) z Prahy a Ostravy. Analyty byly stanovovány v moči pomocí metody kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostně-spektrometrickou detekcí typu trojitý kvadrupól (LC-MS/MS). Hodnoty metabolitů DEHP u žádného jedince nepřekročily zdravotně významné limitní hodnoty. Za pomoci dotazníku, který byl součástí studie, nebyly zjištěny žádné skutečnosti, které by významně ovlivňovaly hladiny vybraných látek v moči. Byl zjištěn pouze signifikantní vliv pohlaví u 5-OH-MEHP a sumy 5-OH-MEHP a 5-oxo-MEHP, kdy ostravské ženy mají významně vyšší hladiny metabolitů než muži.

Klíčová slova: expozice chemickým látkám, polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU), ftaláty, bisfenol A (BPA), biologický monitoring

SUMMARY

The main target of human biomonitoring is monitoring of exposure and effects of substances used in industry and determination of their concentrations in the human body. In this pilot study the metabolite levels of phthalates, polycyclic aromatic hydrocarbons and bisphenol A were determined in urine. Their association with possible exposure sources was analyzed. The study comprised 95 adults (44 males and 51 females) aged 20 and 29 years from Prague and Ostrava. The analytes in urine samples were determined by liquid chromatography with triple quadrupole tandem mass spectrometry detection (LC-MS/MS). Metabolite levels did not exceed limit values for these biomarkers for any participant. The questionnaire survey, as part of the study, revealed no factors that might affect levels of the selected substances in urine. However, a significant gender-related difference was detected for the level of 5-OH-MEHP and sums of 5-OH-MEHP and 5-oxo-MEHP, where women from Ostrava had significantly higher metabolite values than men.

Key words: exposure to chemical compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), phthalates, bisphenol A (BPA), human biomonitoring

Úvod

Sledování expozice populace chemickým látkám kontaminujícím prostředí poskytuje nezbytné informace pro hodnocení zdravotních rizik. V současné době se pozornost věnuje především ftalátům, polyaromatickým uhlovodíkům a bisfenolu A, které mohou porušovat hormonální rovnováhu a nepříznivě ovlivňovat reprodukci či činnost štítné žlázy (1). Přitom se jedná o látky, se

kterými člověk přichází do každodenního kontaktu. K expozici populace těmito látkám v běžném prostředí tak dochází v podstatě kontinuálně.

Ftaláty se běžně používají k výrobě různých produktů již téměř 50 let a díky jejich chemickým a fyzikálním vlastnostem našly široké uplatnění při výrobě řady produktů (2). Mezi nejznámější patří diethylhexylftalát (DEHP), který se až z 90 % využívá k výrobě PVC, ze kterého se relativně snadno uvolňuje. Vzhledem k jeho

výrazné toxicitě, je v dnešní době v některých výrobcích nahrazován nejčastěji di-isodecyl ftalátem (DIDP) a diisononyl ftalátem (DINP). Obsah ftalátů je v některých výrobcích přísně regulován. Z hlediska zdravotních dopadů populační expozice ftalátům je nejdůležitější jejich role endokrinních modulatorů, tedy porucha hormonální rovnováhy (3). Některé zahraniční studie poukazují také na možný negativní účinek na reprodukční systém člověka a vývoj plodu (4, 5). K expozici člověka dochází především orálně, ale i inhalací nebo vstřebáváním pokožkou (6). Diethylhexylftalát (DEHP), na který byla tato studie především zaměřena, je konvertován na monethylhexylftalát (MEHP) a ten je dále transformován, mimo jiné, na hydroxymonoethylhexylftalát (5-OH-MEHP) a 5-oxo-monoethylhexylftalát (5-oxo-MEHP) (7). Tyto metabolity jsou vylučovány z organismu především močí.

Bisfenol A (4,4' dihydroxy-2,2-difenypropan, BPA) je látka obsažená převážně v plastových lahvích, sportovním vybavení, dentálních výplních či domácí elektronice (8). Stejně jako DEHP působí jako endokrinní disruptor a má negativní vliv na reprodukční systém člověka a intrauterinní vývoj (9). Je v organismu rychle metabolizován a vylučován močí. V současné době probíhají intenzivní odborné diskuse o dopadu expozice bisfenolu A na lidské zdraví. Výsledky studií na zvířatech nejsou jednoznačné, ale i přesto některé státy EU (např. Dánsko a Francie) dodržují princip předběžné opatrnosti a omezují používání této látky při výrobě některých výrobků (např. dětské kojenecké lahve).

Polyaromatické uhlovodíky (PAU) jsou řazeny mezi prokázané nebo potenciální karcinogeny. Patří rovněž mezi endokrinní disruptory a dávají se do souvislosti především s negativním vlivem na intrauterinní vývoj plodu, neboť procházejí placentou (10). Mají vliv na gestační délku, intrauterinní růst a porodní váhu (11, 12). Vznikají při nedokonalém spalování organické hmoty (např. fosilních paliv, cigaret, nebo při kulinární úpravě pokrmů). Za nejvýznamnější expoziční cestu je považována inhalace znečištěného ovzduší nebo cigaretového kouře.

Cílem této pilotní studie bylo ověřit její proveditelnost, stanovit metabolity jmenovaných látek v moči u souboru mladých dospělých osob a zjistit, zda vybrané expoziční vlivy, sledované dotazníkovým šetřením, významně ovlivňují jejich hladiny.

Metodika

Studie proběhla v rámci Systému monitorování zdravotního stavu české populace ve vztahu k prostředí (MZSO) (13). Byly zde využity zkušenosti získané v evropském projektu COPHES/DEMOCOPHES, který byl zaměřen na vypracování jednotné metodiky biomonitoringu (14). Do studie byli zařazeni studenti vysokých škol v Praze a Ostravě ve věkovém rozmezí 20 až 29 let. Celkem bylo do studie vybráno 50 jedinců z Prahy (25 mužů a 25 žen) a 45 jedinců z Ostravy (19 mužů a 26 žen). Kritériem výběru bylo nekuřáctví, absence chronických onemocnění ledvin a délka pobytu v dané lokalitě (Praha, oblasti Ostravska s vyšší úrovní znečištění ovzduší) minimálně 3 roky. Z celkového souboru byly následně vyřazeny 3 osoby s hodnotami kreatininu v moči ležícími mimo stanovené limity WHO z roku 1996 (0,3–3 g/l). Do analýz bylo tedy zařazeno pouze

92 probandů (48 z Prahy a 44 z Ostravy). V rámci studie byla analyzována první ranní moč a sledován byl obsah metabolitů DEHP (5-OH-MEHP, 5-oxo-MEHP), hladina bisfenolu A, metabolitů polycyklických aromatických uhlovodíků (1-hydroxypyren, 3-hydroxy-benzo[a]pyren). Koncentrace kreatininu byla stanovena pro standardizaci naměřených hodnot vylučovaných metabolitů. Analyty byly ve vzorcích moče stanovovány pomocí metody kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostně-spektrometrickou detekcí typu trojitý kvadrupól (LC-MS/MS), již ověřenou v projektu COPHES/DEMOCOPHES. Sledované metabolity byly ve vzorcích močí uvolněny z vylučovaných glukuronidů a sulfátů enzymovou hydrolýzou. Enzymy byly posléze odstraněny precipitací acetonitrilem. Takto upravený vzorek byl přímo analyzován kapalinovou chromatografií, přičemž očekávané vlivy zbývající matrice byly kompenzovány použitím deuterovaných vnitřních standardů. Kreatinin byl stanoven metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC).

Vzhledem k tomu, že u 1-hydroxypyrenu byly nalezené hodnoty z více než 90 % pod mezí stanovitelnosti (LOQ) (z celkového počtu 92 vzorků bylo 83 vzorků pod LOQ pro 1 hydroxypyren = 0,7 µg/l) a u 3-hydroxy-benzo[a]pyrenu nepřekročila hodnota žádného vzorku mezí stanovitelnosti použité metody (LOQ = 9 µg/l), nebyly údaje o metabolitech polycyklických aromatických uhlovodíků dále hodnoceny. U bisfenolu A se našlo 50 (tedy více než 50 %) vzorků pod LOQ = 1,8 µg/l, a proto byly pomocí Fisherova exaktního testu a logistické regrese analyzovány pouze rozdíly mezi vzorky s hodnotami nad LOQ a těmi pod mezí stanovitelnosti. Příliš vysoký LOQ u 3 benzo[a]pyrenu a částečně i u BPA je způsoben jejich horší ionizační schopností v kompromisně zvoleném ionizačním zdroji, vhodném pro metabolity ftalátů. Výsledky jsou prezentovány ve formě absolutních a relativních četností. Jako spojitě veličiny byly dále statisticky hodnoceny pouze hodnoty metabolitů DEHP. Hladiny těchto metabolitů byly charakterizovány pomocí geometrických průměrů (GM), mediánů a 95. percentilů. Hodnocení bylo založeno na metodě lineární regrese aplikované na logaritmy transformované hodnoty metabolitů DEHP. Byly analyzovány rozdíly v hladinách metabolitů z hlediska pohlaví, hodnoty BMI a místa pobytu pomocí analýzy rozptylu a lineární regrese. Hladiny metabolitů ftalátů byly analyzovány ve vztahu k dotazníkovému šetření, které bylo součástí studie a podávalo informace o životním stylu jedinců a možných expozičních zdrojích. Byl hodnocen vliv konzumace potravin skladovaných v plastových obalech, denní čas strávený v autě, dodržování zdravého životního stylu a přítomnost PVC podlahovin doma a ve školách na hodnoty metabolitů ftalátů v moči. Hladina významnosti byla stanovena na 0,05. Hodnoty metabolitů byly analyzovány v jednotkách µg/l moči a kreatinin byl do výpočtů zahrnut jako vysvětlující proměnná. Data byla zpracována pomocí statistického softwaru Stata, verze 9.2 (Stata Corp LP, College Station, TX, USA).

Výsledky

Metabolity DEHP

Všechny analyzované vzorky moče (N = 92) obsahovaly oba sledované metabolity v koncentraci vyšší

než mez stanovitelnosti (LOQ pro 5-OH-MEHP = 0,7 µg/l, pro 5-oxo-MEHP = 0,5 µg/l). Medián koncentrace 5OH-MEHP v moči byl 9,3 µg/l (rozpětí 3,1–62,0 µg/l) a medián 5-oxo-MEHP byl 13,0 µg/l (rozpětí 4,3–113,0 µg/l). Charakteristiky hladin metabolitů jsou zobrazeny v tabulce 1.

Celkově nebyly prokazatelné rozdíly mezi městy v hladinách metabolitů DEHP. Při hodnocení vlivu pohlaví na hodnoty metabolitů ftalátů v moči bylo ale zjištěno, že v Ostravě hladiny metabolitů u žen jsou statisticky významně vyšší než u mužů a to u 5-OH-MEHP, 5-oxo-MEHP i jejich součtu. Naopak v Praze se vyšší hodnoty u žen neprokázaly a mezi pohlavími nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. U ostravských žen byly rovněž zjištěny vyšší hladiny kreatininu než u ostravských mužů i studentů obou pohlaví z Prahy, nicméně i po adjustaci vůči vlivu kreatininu, jenž je statisticky významný ($p < 0.001$), zůstaly rozdíly v hladinách metabolitů DEHP mezi pohlavími v Ostravě signifikantní ($p = 0.015$ pro součet 5-OH-MEHP a 5-oxo-MEHP). Interakce mezi městem a pohlavím nebyla významná u 5-OH-MEHP, zatímco u 5-oxo-MEHP a u sumy obou metabolitů byla na hranici významnosti. Lze tedy předpokládat, že by mohl být vztah mezi pohlavími v každém městě odlišný, ale nízký počet jedinců pilotní studie nedovoluje toto tvrzení zobecnit.

Délka pobytu rozděluje jedince zařazené v souboru (až na několik výjimek) do dvou skupin, a to s délkou pobytu do 10 let a mezi 20–30 lety. Nebyl prokázán signifikantní vliv délky pobytu v konkrétní lokalitě na hladinu metabolitů DEHP v moči, i když z obr. 1 je patrné, že u několika jedinců s delším pobytem v Ostravě byly zjištěny vyšší hodnoty součtu 5-OH-MEHP a 5-oxo-MEHP. Naopak několik jedinců v Praze vykazovalo vyšší hodnoty i při krátkém pobytu.

Nebyl prokázán vztah mezi koncentrací metabolitů a hodnotou BMI, významné rozdíly se nepotvrdily ani ve vztahu ke konzumaci potravin v plastových obalech či PET lahvích, k pravidelnému pobytu v místnostech s PVC podlahami ani k době strávené denně v autě.

Koncentrace součtu metabolitů 5-OH-MEHP a 5-oxo-MEHP v moči nepřekročila u žádného ze sledovaných jedinců zdravotně významný limit stanovený

pro dospělou populaci na 300 µg/l pro ženy ve fertilním věku a 750 µg/l pro ostatní populační skupiny (15).

Bisfenol A

Vzhledem k tomu, že koncentrace více než poloviny analyzovaných vzorků (52 % vzorků) byla pod mezí stanovitelnosti, byly hodnoceny pouze rozdíly v podílu stanovitelných vzorků, resp. vzorků, nacházejících se pod LOQ. Bylo zjištěno, že v Praze je větší procentuální zastoupení probandů s měřitelnými hodnotami než v Ostravě (tab. 2), $p = 0,040$. Vyšší hodnoty byly zjištěny u žen (tab. 3), ale pouze v Praze byly tyto rozdíly statisticky významné ($p = 0,039$). U žádných dalších expozičních vlivů zmíněných v metodice nebyla statisticky významná asociace s hladinami bisfenolu A zjištěna.

Diskuse

První měření hladin metabolitů DEHP v moči České populace bylo provedeno v rámci studie DEMOCOPHES v letech 2009–2012 (16), kdy se sledovala koncentrace několika metabolitů ftalátů u 6–11letých dětí a jejich matek. Průměrné hodnoty sledovaných metabolitů DEHP zjištěné u žen (matek) ve věku do 45 let byly, i když ne statisticky významně, vyšší (GM součtu 5-OH-MEHP a 5-oxo-MEHP = 32,2 µg/l) než v současné studii u studentů (GM = 25,6 µg/l). Rozdíly mohou být vysvětleny odlišným životním stylem, a tudíž odlišnými zdroji expozice obou skupin.

Koncentrace dvou hlavních metabolitů DEHP z této studie lze porovnat s referenční hodnotou odvozenou od 95. percentilu naměřených hodnot pro německou dospělou populaci, a to 30, 20 a 50 µg/l pro 5-oxo-MEHP, 5-OH-MEHP a jejich součet (17). V prezentované studii byly zjištěny 95. percentily sledovaných metabolitů v moči poněkud vyšší (viz tab. 1), ale přesto ani u jednoho vzorku nepřesáhly zdravotně významné hodnoty stanovené taktéž německou Komisí pro biomonitoring pro součet obou metabolitů (750 µg/l pro běžnou dospělou populaci, 300 µg/l pro ženy v reprodukčním věku). Pro dětskou populaci byla stanovena zdravotně významná limitní hodnota 500 µg/l (15, 16).

Tab. 1. Koncentrace sledovaných metabolitů DEHP v moči – deskriptivní statistika

	N	Min (µg/l)	Max (µg/l)	GM (µg/l)	Me (µg/l)	KV 0,95 (µg/l)
Celkem						
5-OH-MEHP	92	3,1	62,0	10,6	9,6	41,6
5-oxo-MEHP	92	4,3	113,0	14,8	13,0	56,9
Σ 5-OH-MEHP, 5-oxo-MEHP	92	7,4	175,0	25,6	22,0	100,3
Praha						
5-OH-MEHP	48	3,1	62,0	9,3	8,3	31,7
5-oxo-MEHP	48	4,3	113,0	13,2	12,0	49,6
Σ 5-OH-MEHP, 5-oxo-MEHP	48	7,4	175,0	22,6	21,0	81,1
Ostrava						
5-OH-MEHP	44	3,5	55,0	12,3	12,0	38,2
5-oxo-MEHP	44	4,6	70,0	16,9	16,5	50,6
Σ 5-OH-MEHP, 5-oxo-MEHP	44	8,1	125,0	29,3	27,5	103,2

N – počet vzorků, GM – geometrický průměr, Me – medián, KV 0,95 – 95. percentil

Tab. 2. Bisfenol A – zastoupení měřitelných výsledků podle lokality a pohlaví

	Praha			Ostrava			Celkem		
	Muži	Ženy	Celkem	Muži	Ženy	Celkem	Muži	Ženy	Celkem
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Hodnoty pod LOQ	14 (58,3)	6 (25,0)	20 (41,7)	13 (72,7)	15 (57,7)	28 (63,6)	27 (64,3)	21 (42,0)	48 (52,2)
Měřitelné hodnoty	10 (41,7)	18 (75,0)	28 (58,3)	5 (27,8)	11 (42,3)	16 (36,4)	15 (35,7)	29 (58,0)	44 (47,8)

N – počet vzorků, LOQ – mez stanovitelnosti

Tab. 3. Srovnání výsledků stanovení DEHP se zahraničními studiemi u dospělých. Údaje jsou v µg/l

	N	5-OH-MEHP				5-oxo-MEHP			
		Min	Max	Me	GM	Min	Max	Me	GM
Tato studie	92	3,1	62,0	9,6	10,6	4,3	113,0	13,0	13,2
Lee a kol. 2014 (24)	390		1695,0		31,0		695,0		16,0
Hildebrand a kol. 2009 (22)	6			47,2				21,7	
Koch a kol. 2005 (19)	5	5,1	125,8	24,3	52,3	4,1	100,8	16,9	38,2
Koch a kol. 2004 (18)	19	10,7	103,0	32,1		4,9	55,1	19,6	
Barr a kol. 2003 (20)	50			35,9				28,3	
Koch a kol. 2003 (6)	85			46,8				36,5	

N – počet vzorků, GM – geometrický průměr, Me – medián

Obr. 1. Vztah mezi hladinou součtu metabolitů ftalátů 5-OH-MEHP a 5-oxo-MEHP v moči a délkou pobytu v dané lokalitě.

Sledování hladin metabolitů ftalátů v moči bylo předmětem šetření i řady zahraničních studií (6, 18–24). V mnoha z nich se pozornost logicky zaměřuje především na dětskou populaci (17, 20, 23). Jiné se naopak orientují na komplexní hodnocení expozice populace (6, 19), což ale stírá věkové rozdíly, které zásadním způsobem ovlivňují hladinu metabolitů ftalátů v moči (23). Dalším faktorem významně ovlivňujícím hladiny tohoto biomarkeru je pohlaví, kdy vyšší hodnoty byly prokázány u žen (23), což potvrzují i výsledky této studie. O příčině nálezů vyšších hodnot metabolitů ftalátů v moči žen lze pouze spekulovat na základě úvahy o přítomnosti ftalátů v kosmetických přípravcích a jejich používání především u žen. Lze však uvažovat i o odlišné biotransformaci ftalátů vázané na pohlaví; odpověď by měly dát další studie zaměřené na expozici ftalátům publikovaných v současné době (28).

V tab. 3 je pro přehled srovnání s několika vybranými zahraničními studiemi. U obou sledovaných metabolitů jsou hodnoty získané v této studii výrazně nižší.

Hildebrand a kol. (22) uvádí, že hodnoty 5-OH-MEHP jsou vždy vyšší než u 5-oxo-MEHP, což dokládají i výsledky ostatních uvedených studií. V naší studii byl ale pozorován opačný trend. Vyšší hodnoty 5-OH-MEHP než 5-oxo-MEHP byly naměřeny pouze u dvou jedinců z celého souboru. Prezentovaná studie je však pouze pilotní a její výsledky by měly být potvrzeny dalším sledováním.

Při porovnání našich průměrných hodnot bisfenolu A s vybranými studiemi (25–27) byly zjištěny opět nižší koncentrace v této studii ve srovnání se zahraničními. Je však nutno zdůraznit, že prezentovaná studie zahrnovala poměrně malou a věkově úzce limitovanou skupinu mladých jedinců, u níž expoziční zdroje mohou být odlišné od jiných populačních skupin.

Závěr

V této studii se naměřené hodnoty metabolitů DEHP pohybovaly v koncentracích nižších než zdravotně významné limitní hodnoty stanovené německou Komisí pro biomonitoring a nebyly tudíž zjištěny žádné skutečnosti, které by představovaly zdravotní riziko v důsledku působení ftalátu DEHP u dospělé populace. V současné době není pro českou populaci k dispozici dostatek údajů potřebných pro posouzení expozice a zhodnocení zdravotních rizik této skupiny chemických látek. Po ověření proveditelnosti studie budou proto metabolity ftalátů spolu s bisfenolem A zařazeny do dalšího sledování v rámci biomonitoringu.

Poděkování

Studie byla financována z prostředků SZÚ a Prvonek PE-2 Environmentální výzkum UK.

Poděkování patří všem studentům a studentkám z LF UK i LF OU za jejich spolupráci a ochotu zúčastnit se studie.

LITERATURA

1. Caldwell JC. DEHP: genotoxicity and potential carcinogenic mechanisms - a review. *Mutat Res.* 2012 Oct-Dec;751(2):82-157.
2. Fromme H, Bolte G, Koch HM, Angerer J, Boehmer S, Drexler H, et al. Occurrence and daily variation of phthalate metabolites in the urine of an adult population. *Int J Hyg Environ Health.* 2007 Jan;210(1):21-33.
3. Hauser R, Calafat AM. Phthalates and human health. *Occup Environ Med.* 2005 Nov;62(11):806-18.
4. Lovekamp-Swan T, Davis BJ. Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system. *Environ Health Perspect.* 2003 Feb;111(2):139-45.
5. Akingbemi BT, Ge R, Klinefelter GR, Zirkin BR, Hardy MP. Phthalate-induced Leydig cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Jan 20;101(3):775-80.
6. Koch HM, Drexler H, Angerer J. An estimation of the daily intake of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and other phthalates in the general population. *Int J Hyg Environ Health.* 2003 Mar;206(2):77-83.
7. Silva MJ, Samandar E, Preau JL Jr, Needham LL, Calafat AM. Urinary oxidative metabolites of di(2-ethylhexyl) phthalate in humans. *Toxicology.* 2006 Feb 15;219(1-3):22-32.
8. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, et al. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev.* 2009 Jun;30(4):293-342.
9. Vandentorren S, Zeman F, Morin L, Sarter H, Bidondo ML, Oleko A, et al. Bisphenol-A and phthalates contamination of urine samples by catheters in the Elfe pilot study: implications for large-scale biomonitoring studies. *Environ Res.* 2011 Aug;111(6):761-4.
10. Padula AM, Noth EM, Hammond SK, Lurmann FW, Yang W, Tager IB, et al. Exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons during pregnancy and risk of preterm birth. *Environ Res.* 2014 Nov;135:221-6.
11. Dejmek J, Solanský I, Beneš I, Leníček J, Šrám RJ. The impact of polycyclic aromatic hydrocarbons and fine particles on pregnancy outcome. *Environ Health Perspect.* 2000 Dec;108(12):1159-64.
12. Pedersen M, Schoket B, Godschalk RW, Wright J, von Stedingk H, Törnqvist M, et al. Bulky dna adducts in cord blood, maternal fruit-and-vegetable consumption, and birth weight in a European mother-child study (NewGeneris). *Environ Health Perspect.* 2013 Oct;121(10):1200-6.
13. Kliment V, Kubínová R, Kazmarová H, Kratzer K, Šišma P, Ruprich J, et al. Five years of the system of monitoring the environmental impact on population health of the Czech Republic. *Cent Eur J Public Health.* 2000 Nov;8(4):198-205.
14. Den Hond E, Govarts E, Willems H, Smolders R, Casteleyn L, Kolossa-Gehring M, et al. First steps toward harmonized human biomonitoring in Europe: demonstration project to perform human biomonitoring on a European scale. *Environ Health Perspect.* 2015 Mar;123(3):255-63.
15. Federal Environment Agency (UBA). Reference values and the HBM Commission [Internet]. Dessau-Roßlau: UBA; 2015 [cited 2015 Jun 24]. Available from: <http://www.umweltbundesamt.de/en/topics/health/commissions-working-groups/human-biomonitoring-commission/reference-hbm-values>.
16. Černá M, Malý M, Rudnai P, Középesy S, Náray M, Halzlová K, et al. Case study: Possible differences in phthalates exposure among the Czech, Hungarian, and Slovak populations identified based on the DEMOCOPHES pilot study results. *Environ Res.* 2014 Dec 19. pii: S0013-9351(14)00389-2.
17. Schulz C, Wilhelm M, Heudorf U, Kolossa-Gehring M; Human Biomonitoring Commission of the German Federal Environment Agency. Update of the reference and HBM values derived by the German Human Biomonitoring Commission. *Int J Hyg Environ Health.* 2011 Dec;215(1):26-35.
18. Koch HM, Drexler H, Angerer J. Internal exposure of nursery-school children and their parents and teachers to di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). *Int J Hyg Environ Health.* 2004 Jan;207(1):15-22.
19. Koch HM, Angerer J, Drexler H, Eckstein R, Weisbach V. Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) exposure of voluntary plasma and platelet donors. *Int J Hyg Environ Health.* 2005;208(6):489-98.
20. Barr DB, Silva MJ, Kato K, Reidy JA, Malek NA, Hurtz D, et al. Assessing human exposure to phthalates using monoesters and their oxidized metabolites as biomarkers. *Environ Health Perspect.* 2003 Jul;111(9):1148-51.
21. Becker K, Seiwert M, Angerer J, Heger W, Koch HM, Nagorka R, et al. DEHP metabolites in urine of children and DEHP in house dust. *Int J Hyg Environ Health.* 2004 Oct;207(5):409-17.
22. Hildenbrand S, Wodarz R, Gabrio T, Volland G. Biomonitoring of the di(2-ethylhexyl) phthalate metabolites mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate and mono(2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate in children and adults during the course of time and seasons. *Int J Hyg Environ Health.* 2009 Nov;212(6):679-84.
23. Saravanabhavan G, Guay M, Langlois É, Giroux S, Murray J, Haines D. Biomonitoring of phthalate metabolites in the Canadian population through the Canadian Health Measures Survey (2007-2009). *Int J Hyg Environ Health.* 2013 Nov;216(6):652-61.
24. Lee J, Lee JH, Kim CK, Thomsen M. Childhood exposure to DEHP, DBP and BBP under existing chemical management systems: a comparative study of sources of childhood exposure in Korea and in Denmark. *Environ Int.* 2014 Feb;63:77-91.
25. Meeker JD, Ehrlich S, Toth TL, Wright DL, Calafat AM, Trisini AT, et al. Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from an infertility clinic. *Reprod Toxicol.* 2010 Dec;30(4):532-9.
26. Asimakopoulos AG, Thomaidis NS, Koupparis MA. Recent trends in biomonitoring of bisphenol A, 4-t-octylphenol, and 4-nonylphenol. *Toxicol Lett.* 2012 Apr 25;210(2):141-54.
27. Galloway T, Cipelli R, Guralnik J, Ferrucci L, Bandinelli S, Corsi AM, et al. Daily bisphenol A excretion and associations with sex hormone concentrations: results from the INCHIANTI adult population study. *Environ Health Perspect.* 2010 Nov;118(11):1603-8.
28. Larsson K, Ljung Björklund K, Palm B, Wennberg M, Kaj L, Lindh CH, et al. Exposure determinants of phthalates, parabens, bisphenol A and triclosan in Swedish mothers and their children. *Environ Int.* 2014 Dec;73:323-33.

*Došlo do redakce: 5. 1. 2015
Přijato k tisku: 13. 4. 2015*

*Prof. MUDr. Milena Černá, DrSc.
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48
100 42 Praha 10
E-mail: mcernea@szu.cz*