

TOKSIKOVIGILANCA GLIFOSATA V SEVEROVZHODNI SLOVENIJI

Lucija PERHARIČ¹, Mateja BOLČIČ TAVČAR², Tanja FATUR³

Nacionalni Inštitut za javno zdravje, Center za zdravstveno ekologijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Neselektivni herbicid glifosat, je bil 2017 v Evropski uniji (EU) razvrščen kot dražilen in nevaren za okolje. Mednarodna agencija za raziskave raka (IARC) pri Svetovni zdravstveni organizaciji ga je razvrstila v 2A skupino rakotvornosti (verjetno rakotvoren za človeka). Razvrstitev IARC ni zakonsko zavezujoča, vendar je stališče IARC sprožilo burne odzive v strokovni in splošni javnosti. Ne glede na obširnost študij pred registracijo aktivne snovi je nemogoče natančno predvideti vse možne škodljive učinke. Zato je potrebno budno spremljanje tudi po registraciji. V nekdanji tovarni Pinus v Račah proizvajajo herbicid na podlagi glifosata. Register raka pri Onkološkem Inštitutu Ljubljana je 2019 zaradi zaskrbljenosti lokalnega prebivalstva pregledal incidenco raka na Dravskem Polju. V raziskavi niso ugotovili povečanega tveganja za nastanek preučevanih vrst raka na 40 območjih na Dravskem polju z izjemo Kidričevega. V nobenem od 40 območij na Dravskem polju niso ugotovili za nobeno izmed preučevanih vrst raka v nobenem od treh desetletnih obdobj kopičenja primerov rakavih obolenj, ki bi lahko nakazovalo na vpliv lokalnega dejavnika. V nedavni študiji izpostavljenosti v Prekmurju sta bila glifosat in njegov metabolit aminometilfosfonska kislina (AMPA) določena v urinu 149 otrok in 97 mladostnikov. Pozimi sta bila glifosat in AMPA določena v 27 % oziroma 50 % vzorcev, pozno spomladi v 22 % oziroma 56 %. Geometrična sredina in mediana obeh snovi sta bili pod mejo določanja ($LOQ \leq 0.1 \mu\text{g/L}$). Na podlagi koncentracij glifosata in AMPA v urinu je bil ocenjen dnevni vnos 0,003 $\mu\text{g/kg tm}$ (sprejemljivi dnevni vnos je 0,5 mg/kg tm). Za genotoksične rakotvorne snovi v hrani je sprejemljivi količnik izpostavljenosti (MOE) $\geq 10\,000$. MOE of 166 667 zagotavlja zadostno varnost, četudi bi bil glifosat genotoksično rakotvoren. Toksikovigilančno spremljanje glifosata ne nakazuje zaskrbljujoče izpostavljenosti glifosatu niti povečane incidence raka pri prebivalcih kmetijsko intenzivne severovzhodne Slovenije. Vendar pričakujemo nadaljnje razgrete izmenjave mnenj, saj na ravni EU poteka ponovna presoja glifosata.

Ključne besede: glifosat, izpostavljenost, ocena tveganja, rak

ABSTRACT

TOXICOVIGILANCE OF GLYPHOSATE IN NORTH-EASTERN SLOVENIA

¹ prim. dr., dr. med. MScTox, ERT, Trubarjeva 2, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: Lucija.Perharic@nijz.si

² univ. dipl. biokem., MScTox, ERT, prav tam

³ univ. dipl. mikrobiol., mag. sci., prav tam

In 2017, a non-selective herbicide glyphosate was classified as irritant and harmful to the environment in the European Union (EU). The International Agency for Research on Cancer (IARC) at the World Health Organization classified glyphosate to group 2A (probably carcinogenic to humans). Although IARC classification is not legally binding, IARC's position triggered turbulent response among the professional and general public. Despite the extensiveness of pre-registration studies on an active substance, it is impossible to predict all possible harmful effects. Thus, post-registration vigilance is necessary. The former factory Pinus in Rače produces a glyphosate based herbicide. In 2019, in view of public concern, the Cancer Registry at the Institute of Oncology Ljubljana examined cancer incidence at Dravsko polje. The research did not show an increased risk for the examined types of cancer in 40 areas of Dravsko polje with the exception of a market town Kidričevo. No accumulation of cancer cases, which could have been ascribed to local factors, was noted in any of the 40 areas for any of the examined types of cancer in any of the three ten-year periods. In a recent study in Prekmurje, glyphosate and its metabolite aminomethylphosphonic acid (AMPA) were determined in urine of 149 children and 97 adolescents. In winter glyphosate and AMPA were determined in 27% and 50% of the samples, respectively; in late spring in 22% and 56%, respectively. The geometric mean and median were below the level of quantification ($LOQ \leq 0.1 \mu\text{g/L}$). Based on glyphosate and AMPA concentrations in urine, the daily intake was estimated to $0,003 \mu\text{g/kg bw}$ (Acceptable Daily Intake is $0,5 \text{ mg/kg bw}$). The acceptable Margin of Exposure (MOE) for genotoxic carcinogens in food is $\geq 10\,000$. A MOE of 166 667 assures sufficient safety, even if glyphosate was a genotoxic carcinogen. Toxicovigilance of glyphosate does not indicate a concern raising exposure to glyphosate nor an increased incidence of cancer in the inhabitants of the agriculturally intensive north-eastern Slovenia. As glyphosate is currently being reviewed at the EU level, further heated exchange of opinions is to be expected.

Key words: cancer, exposure, glyphosate, risk assessment

1 UVOD

1.1 Glifosat

Avtorice prispevka za potrebe Fitosanitarnе uprave oziroma Uprave za varnost hrane veterinarstvo in varstvo rastlin (UVHVVR) že 20 let ocenjujemo nevarnosti in tveganja fitofarmaceutskih sredstev (FFS), nudimo strokovno podporo UVHVVR za področje vplivov FFS na zdravje ljudi in sodelujemo v ekspertni skupini za področje FFS pri EFSA - Evropski agenciji za varno hrano (Perharič in sod., 2018). Sodelovale smo tudi pri presojah glifosata na nacionalni ravni in na ravni Evropske unije (EU).

Glifosat, s kemičnim imenom N-(fosfonometil) glicin (CAS št. 1071-83-6), je neselektivni herbicid. Je aktivna snov v FFS za zatiranje plevela, kot sta Roundup in Boom efekt. Pripravki z glifosatom se v nekaterih državah EU uporabljajo tudi kot desikacijska sredstva pred žetvijo. Na ta način se osušijo neuporabni deli rastlin in se olajša žetev oziroma pobiranje plodov (npr. hmelj, žita, bombaž). V Sloveniji tovrstna uporaba pripravkov z glifosatom ni dovoljena. Glifosat se v okolju hitro razgradi in ne ogroža podtalnice. Je dražilni in lahko povzroči hude poškodbe oči (H318), vendar je

te učinke mogoče preprečiti s pravilno uporabo osebne varovalne opreme. Glifosat je strupen za vodne organizme z dolgoročnimi posledicami (H411). Evropski urad za kemikalije (ECHA), ki je pristojen za razvrščanje kemikalij glede na njihove nevarne lastnosti, glifosata ni razvrstil kot mutagenega, rakotvornega, teratogenega oziroma strupenega za razmnoževanje. V začetku leta 2015 je Evropska agencija za varnost hrane (EFSA), pristojna za presoje sredstev za zaščito rastlin, zaključila s ponovno presojo glifosata. Nekaj mesecev kasneje je Mednarodna agencija za raziskave raka (IARC), ki deluje pri Svetovni zdravstveni organizaciji (SZO), glifosat razvrstila v 2A skupino rakotvornosti, kar pomeni, da je glifosat verjetno rakotvoren za človeka. Razvrstitev IARC ni zakonsko zavezujoča, tako kot je razvrstitev ECHA. Do takrat je glifosat veljal za herbicid z relativno majhno nevarnostjo za zdravje ljudi. Strokovnjaki IARC so svojo odločitev sprejeli po pregledu epidemioloških, eksperimentalnih in mehanističnih študij. Po objavi IARC-ove odločitve so študije ponovno pregledali tudi strokovnjaki v posameznih državah članicah Evropske unije (EU), vključno s Slovenijo. V epidemioloških študijah je bilo ugotovljeno nekoliko povečano tveganje za razvoj ne-Hodgkinovega limfoma (NHL), ki je vrsta raka krvotvornih organov in bezgavk, multiplega mieloma in glioma. Tveganje za NHL je bilo blago povečano tako v posameznih študijah, kot tudi v meta-analizi vseh študij. Vendar z epidemiološkimi študijami običajno ugotavljamo povezavo med izpostavljenostjo in učinkom, le redko pa z njimi lahko dokazujemo vzročnost. Obravnavane epidemiološke študije so preučevale poklicno izpostavljene populacije. Te so praviloma v stiku s FFS pogosteje, dlje in v znatno večjih odmerkih kot splošna populacija. Ključne pomanjkljivosti obravnavanih epidemioloških študij so, da so bili preiskovanci izpostavljeni več FFS hkrati, da niso bili izpostavljeni le aktivnim snovem, ampak tudi dodatkom in nečistotam in da je bila izpostavljenost pomanjkljivo opredeljena. Morebitnih učinkov tako ne moremo pripisati samo eni snovi, v konkretnem primeru glifosatu. Rezultati epidemioloških študij, na podlagi katerih je IARC sprejel svojo odločitev, ne zadoščajo za razvrstitev glifosata kot rakotvornega, saj ni mogoče z zadostno gotovostjo izključiti naključja in vpliva drugih morebitnih dejavnikov. Splošna populacija je ostankom glifosata lahko izpostavljena preko hrane vključno s pitno vodo, segmentov okolja ali predmetov splošne rabe. Koncentracije glifosata v hrani ne presegajo za vplive na zdravje relevantnih sprejemljivih dnevni vnosov. Izpostavljenost glifosatu preko pitne vode je zanemarljivo majhna, saj se glifosat in njegov metabolit AMPA (aminometilfosfonska kislina) v podtalnici pojavljata le izjemoma. Tudi izpostavljenost preko predmetov splošne rabe je majhna. Enako velja za izpostavljenost preko zraka, razen če se naključno ali namerno znajdemo na škropljenih površinah oziroma v njihovi neposredni bližini med ali takoj po škropljenju (NIJZ, 2019).

1.2 Toksikovigilanca

Toksikovigilanca ali budno spremljanje učinkov kemičnih snovi pri ljudeh se izvaja z namenom varovanja zdravja in preprečevanje bolezni, stanj in zastrupitev, ki lahko nastanejo kot posledica izpostavljenosti naravnim in umetnim kemikalijam iz različnih segmentov okolja, npr. zraka, vode, tal, hišnega prahu, živil ali predmetov splošne rabe.

Do izpostavljenosti lahko pride v različnih okoliščinah, v vsakdanjem življenju, pri delu, namerno ali po nesreči. Toksikovigilanca vključuje naslednje aktivnosti:

- zbiranje in analizo informacij o škodljivih učinkih kemičnih snovi;
- oceno tveganja (presojo varnosti) kemičnih snovi;
- posredovanje informacij strokovni in laični javnosti;
- pripravo predlogov za aktivnosti, ki izboljšajo kemijsko varnost;
- spremljanje učinkovitosti tovrstnih aktivnosti.

Toksikovigilanca je ena od ključnih dejavnosti delovne skupine za kemijske dejavnike tveganja, ki deluje na Centru za zdravstveno ekologijo Nacionalnega inštituta za varovanje zdravja (NIJZ).

2 MATERIAL IN METODE

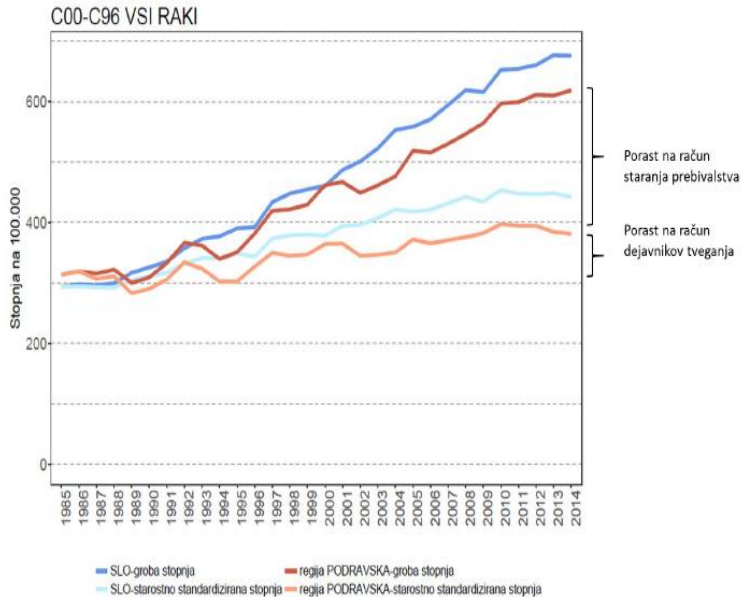
Na območju severovzhodne Slovenije sta bili v zadnjih petih letih narejeni dve raziskavi v zvezi z glifosatom in njegovim vplivom na zdravje ljudi. Register raka Onkološkega inštituta Ljubljana je zaradi zaskrbljenosti lokalnega prebivalstva v zvezi s proizvodnjo herbicida na bazi glifosata v nekdanji tovarni Pinus Rače izdelal geografsko analizo incidence raka na Dravskem polju (Tomšič in sod., 2019). Inštitut Jožef Stefan in NIJZ sta izvedla študijo humanega bimonitoringa izpostavljenosti pri otrocih in mladostnikih v Prekmurju. Socialno demografski podatki, zdravstvena, prehranska, okoljska anamneza so bili pridobljeni s pomočjo vprašalnikov. Sezonske koncentracije glifosata in AMPA so bile v urinu preiskovancev določene s plinska kromatografijo s sklopljeno masno spektrometrijo (GC-MS/MS) pri meji določanja (LOQ) $\leq 0.1 \mu\text{g/L}$ (Stanjko in sod., 2020). Na podlagi raziskav narejenih na območjih severovzhodne Slovenije smo v skladu z navodili za izdelavo ocene tveganja (Perharič in sod., 2017) naredile oceno tveganja zaradi izpostavljenosti glifosatu, in sicer za primer praga učinka in za primer brez praga učinka. Za kemikalije s pragom učinka okarakteriziramo tveganje tako, da primerjamo referenčne odmerke z ocenjeno oz. izmerjeno izpostavljenostjo. Referenčni odmerek pri dolgotrajni izpostavljenosti je sprejemljivi dnevni vnos (TDI ali ADI), to je ocena dnevnega vnosa kemične snovi skozi vse življenje, ki na podlagi vseh znanih podatkov ne predstavlja tveganja za zdravje ljudi. Tveganje je zanemarljivo majhno, če je referenčni odmerek večji ali enak ocenjeni izpostavljenosti. Pri kemikalijah, za katere velja, da nimajo praga učinka (genotoksične rakotvorne snovi) oziroma je ta prag zelo težko določiti, je EFSA privzela kvantitativni princip roba (količnika) izpostavljenosti ali MOE (angl. Margin of Exposure). Upoštevajoč, da izhodiščni odmerek ni odmerek brez učinka, ampak odmerek pri merljivem učinku in da gre za zelo hud učinek, je sprejemljivi MOE 10 000 ali več.

3 REZULTATI

3.1 Geografska analiza incidence raka na Dravskem polju

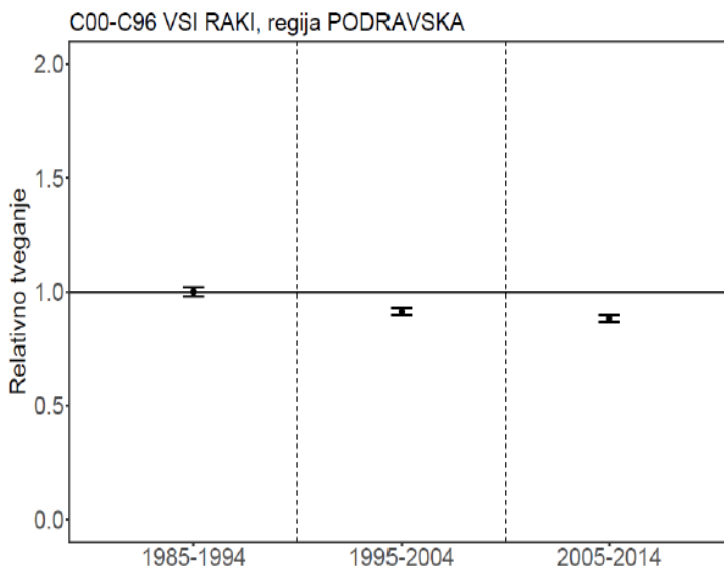
Tomšičeva in sod. (2019) niso ugotovile povečanega tveganja za nastanek preučevanih vrst raka na 40 območjih na Dravskem polju z izjemo Kidričevega. V nobenem od 40 območij na Dravskem polju niso za nobeno izmed preučevanih vrst raka v nobenem od

treh desetletnih obdobjih ugotovile kopičenja primerov rakavih obolenj, ki bi lahko nakazovalo na vpliv lokalnega dejavnika. Na slikah 1- 4 so prikazani rezultati grobe in starostno standardizirane stopnje vseh rakov na 100 000 prebivalcev za Slovenijo in Podravsko regijo v obdobju, 1985 -2014, relativno tveganje raka za Podravsko statistično regijo v obdobjih 1985-1994, 1995-2004 in 2005-2014 in za ista obdobja groba in starostno standardizirana stopnja na 100 000 prebivalcev za Slovenijo in relativno tveganje za NHL.



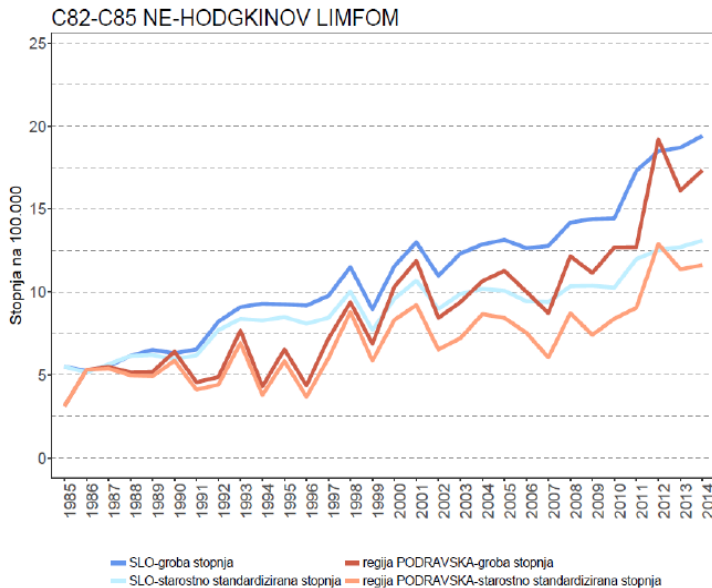
227

Slika 1: Groba in starostno standardizirana stopnja vseh rakov na 100 000 prebivalcev v Sloveniji in Podravski regiji, 1985 -2014 (Tomšič in sod., 2019).

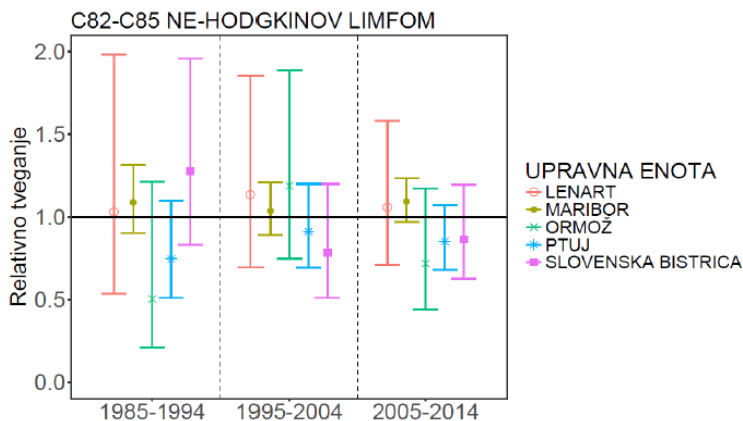


228

Slika 2: Relativna tveganja vseh rakov s 95% intervali zaupanja v Podravski regiji v obdobjih 1985-1994, 1995-2004 in 2005-2014; vrednost 1 predstavlja slovensko povprečje (Tomšič in sod., 2019).



Slika 3: Groba in starostno standardizirana stopnja na 100 000 prebivalcev za Slovenijo in Podravsko regijo, 1985 -2014 za ne - Hodgkinov limfom (Tomšič in sod., 2019).



Slika 4: Relativna tveganja za ne - Hodgkinov limfom s 95% intervali zaupanja v Podravski statistični regiji v obdobjih 1985-1994, 1995-2004 in 2005-2014; vrednost 1 predstavlja slovensko povprečje (Tomšič in sod., 2019).

3.2 Izpostavljenost glifosatu otrok in mladostnikov v Prekmurju

229

Stanjko in sod. (2020) so v raziskavo vključili 149 otrok starih od 7 do 10 let, od tega 55% deklic in 97 mladostnikov starih od 12 do 15 let, od tega 44% deklic. Pozimi je bilo odvzetih 246 vzorcev urina, pozno spomladi 225. Glifosat z $LOQ \leq 0.1 \mu\text{g/L}$ je bil določen v 27% vzorcih pozimi in v 22% pozno spomladi, AMPA v 50 % pozimi in v 56% pozno spomladi. Za glifosat je bila 95. percentila $0,21 \mu\text{g/L}$, za AMPA $0,33 \mu\text{g/L}$. Koncentracije določene v Sloveniji so bile nižje kot na Danskem, v Mehiki, Nemčiji in Združenih državah Amerike. Sezonske razlike niso bile statistično pomembne. Koncentracije glifosata in AMPA so bili višje pri otrocih in dečkih kot pri mladostnikih in deklicah ter višje pri tistih, ki so uživali več riža in oreščkov. Na podlagi koncentracij glifosata in AMPA v urinu, predpostavljene dnevnega volumna urina in telesne mase (tm) preiskovancev so avtorji grobo ocenili dnevni vnos glifosata na $0,003 \mu\text{g/kg tm}$.

Preglednica 1: Rezultati določanja glifosata in njegovega metabolita AMPA v urinu otrok in mladostnikov v Prekmurju (Stanjko in sod., 2020).

	Vzorčenje pozimi (n = 246)				Vzorčenje pozno spomladi (n = 225)			
	Glifosat		AMPA		Glifosat		AMPA	
	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/L}_{st}$	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/L}_{st}$	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/L}_{st}$	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/L}_{st}$
$\geq LOQ$ (%)	27		50		22		56	
minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
GM	-	-	-	-	-	-	0,10	0,10
P50	-	-	-	-	-	-	0,18	0,18
P75	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,18	0,18
P95	0,19	0,21	0,29	0,29	0,19	0,17	0,33	0,33
maksimum	0,39	0,42	0,45	0,39	0,38	0,34	0,76	0,59

n - število; st - specifična teža; LOQ - meja določanja; GM gemoterijska sredina; P50, P75, P95 - 50., 75., 95. percentila;

3.3 Ocena tveganja zaradi izpostavljenosti otrok in mladostnikov glifosatu

Glifosat je kemikalija s pragom učinka. Referenčni odmerek pri dolgotrajni izpostavljenosti glifosatu je 0,5 mg/kg tm /dan, torej odmerek, ki na podlagi vseh znanih podatkov ne predstavlja tveganja za zdravje pri vseživljenjski izpostavljenosti. Posledično več kot sto tisočkrat manjši dnevni vnos (0,003 µg/kg tm) ocenjen na podlagi določanja glifosata in AMPA v urinu pri otrocih in mladostnikih v Prekmurju ne predstavlja tveganja za njihovo zdravje. Četudi bi bil glifosat genotoksično rakotvoren, torej brez praga učinka, bi izpostavljenost otrok in mladostnikov glifosatu v Prekmurju ne predstavljala tveganja za njihovo zdravje, saj je MOE več desetkrat večji od 10 000:

$$\text{MOE} = \text{ADI} / \text{ocenjeni vnos} = 0,5 \text{ mg/kg/tm} / 0,003 \text{ µg/kg tm} = 166\ 667$$

Ključna negotovost ocene tveganja je ocena dnevnega vnosa iz koncentracij glifosata in AMPA v urinu upoštevajoč privzeti volumen urina 2L/dan in tm preiskovancev in ne z integracijo toksikoloških referenčnih odmerkov, kritičnih učinkov in načina delovanja s fiziološkimi in farmakokinetičnimi podatki.

4 ZAKLJUČEK

Toksikovigilanco spremljanje glifosata ne nakazuje zaskrbljujoče izpostavljenosti glifosatu niti povečane incidence raka pri prebivalcih kmetijsko intenzivne severovzhodne Slovenije. Vendar pričakujemo nadaljnje razgrete izmenjave mnenj, saj na ravni EU poteka ponovna presoja glifosata.

5 ZAHVALA

Upravi za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin se zahvaljujemo za kontinuirano finančno podporo.

6 LITERATURA

- NIJZ. 2019. Kaj je glifosat in kakšni so njegovi vplivi na zdravje? Dostopno na <https://nijz.si/moje-okolje/kemijska-varnost/kaj-je-glifosat-in-kaksni-so-njegovi-vplivi-na-zdravje/>
- Perharič, L., Fatur, T., Bolčič Tavčar, M. 2017. Splošna navodila za toksikološko oceno tveganja V Pollak, P. in Perharič, L. (Ur.) Navodila za izdelavo ocene tveganja za zdravje ljudi zaradi izpostavljenosti kemijskim in mikrobiološkim dejavnikom iz okolja z izbranimi poglavji in praktičnimi primeri, I. del. Ljubljana: Nacionalni inštitut za javno zdravje: 40-65. Dostopno na https://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/publikacije-datoteke/navodila_nijz_za_oceno_tveganja_kem_in_mikrobiol_dejavnikov.pdf.
- Perharič, L., Fatur, T., Bolčič Tavčar, M., Vranac, S., Drofenik, J. 2018. Slovenian experience in setting up and developing plant protection product risk assessment for human health. V Matović, V (ur.). Book of abstracts. Belgrade, Serbian Society of Toxicology, 2018, 131-132.
- Stanjko, A., Snoj Tratnik, J., Kosjek, T., Mazej, D., Jagodic, M., Eržen, I., Horvat, M. 2020. Seasonal glyphosate and AMPA levels in urine of children and adolescents living in rural regions of Northeastern Slovenia. *Environment International*, 143:105985. doi: 10.1016/j.envint.2020.105985.

Tomšič, S., Zadnik, V., Lokar, K., Žagar, T., Kovačević, T., Kukec, A., Rejc, T., Blatnik, J. 2019
Incidenca raka na Dravskem polju. Geografska analiza incidence raka na Dravskem polju s
poudarkom na občini Rače-Fram in okoliških naseljih. Ljubljana: Onkološki Inštitut Ljubljana.
Epidemiologija in register raka Dostopno na [https://www.onko-
i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/Rak_Dravsko-polje_2019.pdf](https://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/Rak_Dravsko-polje_2019.pdf)