

////////////////////////////////////

EINDRAPPORT

Onderzoek naar het relatieve belang van pre- en postnatale blootstelling bij het ontwikkelen van chronische aandoeningen zoals astma, allergie, diabetes, obesitas, ...

Koppen G, Reimann B, Voorspoels S, Jacobs G, Bastiaens M, Covaci A, Franken C, Den Hond E, Bruckers L, Plusquin M, Schoeters G, Remy S.

Opdracht OMG-VPO/2019/05

14.07.2021

////////////////////////////////////

Onderzoek naar het relatieve belang van pre- en postnatale blootstelling bij het ontwikkelen van chronische aandoeningen zoals astma, allergie, diabetes, obesitas, ...

Koppen G¹, Reimann B², Voorspoels S³, Jacobs G³, Bastiaens M⁴, Covaci A⁴, Franken C⁵, Den Hond E⁵, Bruckers L⁶, Plusquin M², Schoeters G^{1,7}, Remy S¹.

¹ VITO, Health unit, Mol

² UHasselt, Centrum voor Milieukunde, Diepenbeek

³ VITO, GOAL, Mol

⁴ UA, Departement farmaceutische wetenschappen, Antwerpen

⁵ PIH, dienst Gezondheid, Antwerpen

⁶ UHasselt, Data Science instituut, Diepenbeek

⁷ UA, Departement biomedische wetenschappen, Antwerpen

Opdracht OMG-VPO/2019/05

De auteurs danken Caroline Teughels en Karen Van Campenhout van het Departement Omgeving, Vlaams Planbureau Omgeving voor de deskundige begeleiding.



INHOUD

1	Nederlandse samenvatting algemeen publiek	4
	Wat is het belang van blootstelling aan milieuvervuilende stoffen tijdens de zwangerschap en tijdens de adolescentie voor de gezondheid van adolescenten?	4
2	Uitgebreide Nederlandse samenvatting	7
2.1	Situering van het onderzoek	7
2.2	Doel van het onderzoek	8
2.3	Relatie tussen de blootstelling bij de geboorte en de blootstelling in adolescentie	9
2.4	Effect van de blootstelling bij de geboorte en blootstelling in adolescentie op astma, allergie en infecties	12
2.5	Effect van de blootstelling bij de geboorte en blootstelling in adolescentie op neurocognitie	12
2.6	Conclusie	13
3	Internationale publicatie	14
4	Beleidsaanbevelingen	14
4.1	Concept van een longitudinale cohorte: belang van uniformiteit en continuïteit	14
4.2	Concept van een longitudinale cohorte: belang van follow-up en representativiteit	17
4.3	Longitudinaal onderzoek: omgaan met verschillen in de blootstelling doorheen de tijd 22	
4.4	Studieresultaten: belang van prenatale en postnatale blootstelling	26
4.5	De biobank: toegevoegde waarde	27
4.6	Regulering van chemische stoffen	29
4.7	Vergelijking blootstelling in Vlaanderen met internationale studies	30

1 NEDERLANDSE SAMENVATTING ALGEMEEN PUBLIEK

WAT IS HET BELANG VAN BLOOTSTELLING AAN MILIEUVERVUILENDE STOFFEN TIJDENS DE ZWANGERSCHAP EN TIJDENS DE ADOLESCENTIE VOOR DE GEZONDHEID VAN ADOLESCENTEN?

Humane biomonitoring (HBM) is het meten van milieuvervuilende stoffen in de mens, bijvoorbeeld in bloed, urine of haar. In het Steunpunt Milieu en Gezondheid wordt sinds 2001 HBM uitgevoerd in de Vlaamse algemene bevolking.

In het huidige onderzoek bestuderen we de invloed van chemische stoffen in het lichaam op de gezondheid van jongeren van 14-15 jaar oud. De moeders van 182 jongeren doneerden in de periode 2002-2004 een staaltje navelstrengbloed. Daarin konden we chemische stoffen meten, nl. **zware metalen: lood en cadmium; de persistente organochloorverbindingen: PCB's, DDT en hexachlorobenzeen; 12 poly- en perfluoro-alkylverbindingen (PFAS): o.a. PFOS en PFOA.** Op deze manier kregen we een beeld van de gehalten waaraan de 182 baby's waren blootgesteld tijdens de zwangerschap. Vijftien jaar later (2017-2018) gaven diezelfde jongeren hun toestemming voor een nieuw onderzoek. In hun bloed werden dezelfde chemische stoffen gemeten als bij de geboorte. Verder werden een hele set van gezondheidsmetingen uitgevoerd op de leeftijd van 14-15 jaar. Allereerst onderzochten we **effecten op het immuunsysteem.** De jongeren (en hun ouders) rapporteerden zelf over astma en allergie via een internationaal gestandaardiseerde vragenlijst. Ook werden ontstekingsmerkers gemeten in de adem en in het bloed; op deze manier onderzochten we of jongeren infecties hadden doorgemaakt of gevoelig zijn voor infecties. Als tweede, bestudeerden we **effecten op het neurologisch systeem.** Via computertesten berekenden we scores voor verschillende vaardigheden, nl. volgehouden en selectieve aandacht, vermogen om te focussen, bewuste en onbewuste controle van het gedrag.

Op deze manier bekwamen we een unieke set van gegevens over een periode van 15 jaar, en konden we verschillende onderzoeksvragen beantwoorden.



1) Is er een verband tussen de niveaus aan milieuvervuilende stoffen in navelstrengbloed en in het bloed tijdens de adolescentie, gemeten bij dezelfde groep van deelnemers?

We vonden een **matige correlatie** tussen gehalten in navelstrengbloed bij de geboorte en de concentraties in het bloed op 14-15 jaar. Dit wil zeggen dat baby's die bij de geboorte hogere waarden hadden een grotere kans hadden om tijdens de adolescentie nog in de hogere range te zitten. Omgekeerd, baby's met lage waarden bij de geboorte hadden vaker lage bloedgehalten op 14-15-jarige leeftijd.

Globaal gezien lagen **de waarden in navelstrengbloed hoger dan tijdens de adolescentie**. Hiervoor kunnen we verschillende verklaringen geven.

Allereerst zijn er voor (bijna) alle stoffen die we onderzoeken in de afgelopen 15 jaar maatregelen genomen om de gehalten in het milieu te verlagen, o.a. strengere wetgeving, sanering, preventieve maatregelen. We verwachten dus inderdaad lagere gehalten in de periode 2017-2018 in vergelijking met de periode 2002-2004. Daarnaast kunnen ook levensstijlfactoren een rol spelen en hebben gezinnen - bewust of onbewust - hun gedrag in de loop van de tijd aangepast om blootstelling te vermijden. Tot slot moeten we de vergelijking ook voorzichtig interpreteren omdat er in verschillende matrices werd gemeten (navelstrengbloed vs. perifere bloed).

2) Heeft de blootstelling bij de geboorte een invloed op de gezondheid tijdens de adolescentie?

We vonden verschillende **relaties tussen blootstelling bij de geboorte en immuun effecten**: baby's met hogere gehalten PCB118 in navelstrengbloed hadden op de leeftijd van 14-15 jaar meer kans op een verhoogd aantal neutrofielen, dit zijn witte bloedcellen die voorkomen bij infecties. Baby's met hogere gehalten PFOS, PFOA of PFNA hadden meer kans op astma of rhinitis (= ontsteking van het slijmvlies in de neus) tijdens de adolescentie. Deze resultaten tonen aan dat deze chemische stoffen het immuunsysteem verstoren.

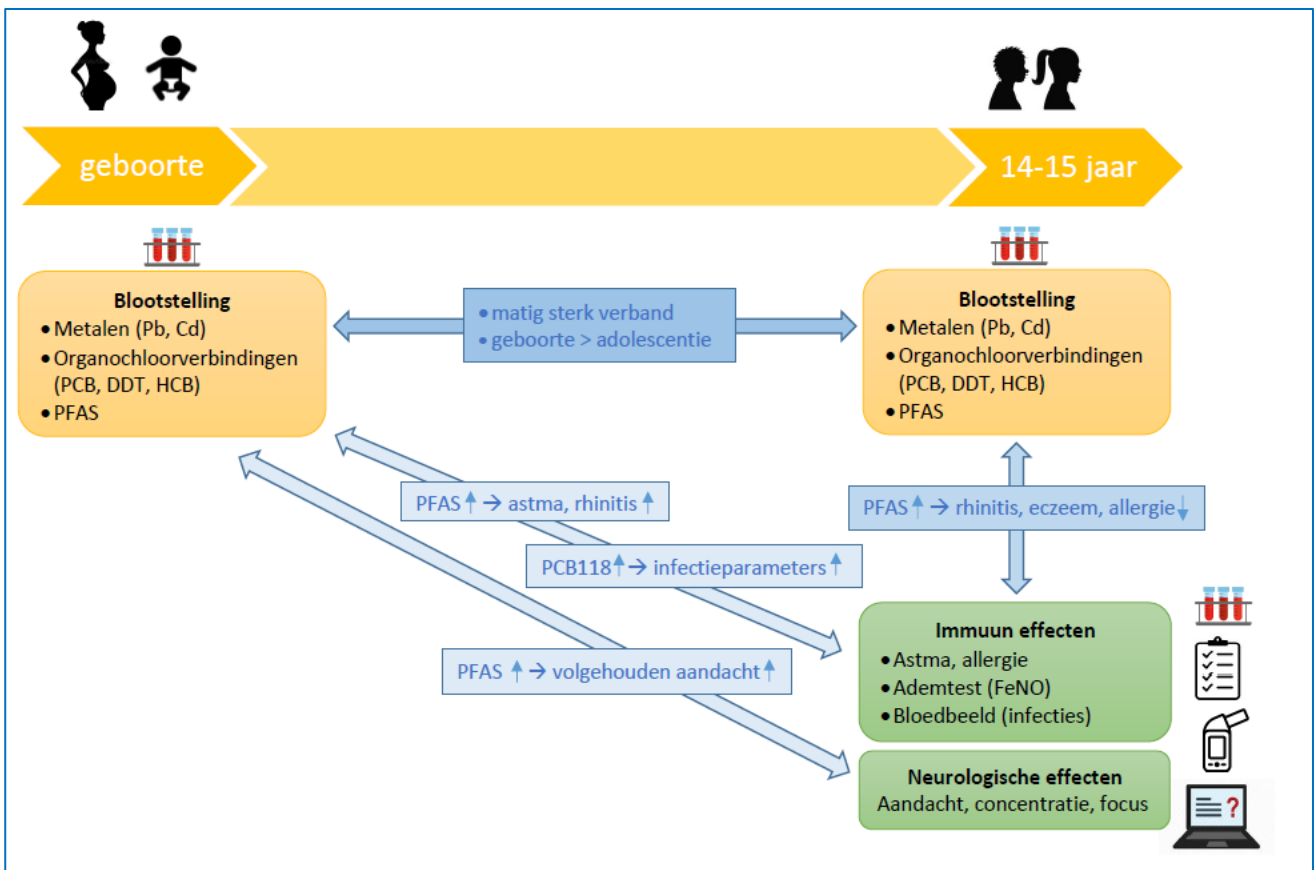
We vonden ook **effecten** van één van de perfluorverbindingen (PFHxS) **op de neurologische uitkomsten**. Baby's met hogere gehalten PFHxS in navelstrengbloed scoorden op 14-15 jaar beter op testen die volgehouden aandacht meten. Dit lijkt op het eerste zicht tegenstrijdig. Nochtans werd dit ook eerder door andere onderzoeksgroepen vastgesteld. De hypothese is dat PFAS tijdens de zwangerschap op kernreceptoren in de hersenen binden, met als gevolg anti-ontstekings-effect op het centraal zenuwstelsel.



3) Is er een verband tussen de blootstelling tijdens de adolescentie en de gezondheid tijdens de adolescentie?

Jongeren met hogere gehaltenes **PFAS in het bloed** (zowel afzonderlijke PFAS als de som van PFOS, PFOA, PFNA en PFHxS) hadden een lagere kans op rhinitis, eczeem en allergie in het algemeen. Ook hier zagen we dus een effect dat op het eerste zicht contradictorisch was. PFAS kunnen het **immuunsysteem beïnvloeden**. Bij allergie is er sprake van een overstimulatie van het immuunsysteem. Indien het immuunsysteem wordt onderdrukt door chemische stoffen, is er dus een kleinere kans op allergieën.

Het studie design en de onderzoeksresultaten worden samengevat Figuur 1.



Pb: lood; Cd: cadmium; PCB: polygechloreerde bifenyly; DDT: dichloor difenyl trichloorethaan; HCB: hexachlorobenzeen; PFAS: poly- en perfluoralkyl-verbindingen; FeNO: fractional exhaled nitric oxide (uitgeademd stikstofmonoxide).

Figuur 1: Overzicht van design en resultaten

Besluit: In deze studie konden we op basis van gegevens over een periode van 15 jaar effecten bestuderen tussen blootstelling aan milieuvervuilende stoffen en de gezondheid. Persistente stoffen zoals PCB's en PFAS hebben een invloed op de gezondheid. De sterkste relaties werden geobserveerd voor de blootstelling tijdens de zwangerschap. Dit was deels te wijten aan de hogere concentraties van deze stoffen bij de geboorte, maar ook doordat het tijdens de zwangerschap ontwikkelende kind gevoeliger is.

2 UITGEBREIDE NEDERLANDSE SAMENVATTING

2.1 SITUERING VAN HET ONDERZOEK

Blootstelling aan chemische stoffen zorgt voor een daling van het aantal gezonde levensjaren met bijhorende maatschappelijke kost. Dit geldt onder meer voor chemische stoffen die hormoonverstorend werken. Het verminderen van de blootstelling in het tijdsvenster waarin het meeste effect optreedt, zal leiden tot een gezondere Vlaamse bevolking en een lagere gezondheidskost.

In het kader van het Vlaams Humaan Biomonitoringonderzoek (FLEHS, Flemish Environment and Health Study) werden in de periode 2002-2004 (FLEHS-1) 1.196 moeders en pasgeborenen gerekruteerd, waarbij navelstrengbloed en urine van de moeder werd geïncubateerd. Tijdens FLEHS-4, nl. in de periode 2017-2018 werd een subset van deze deelnemers terug bemonsterd; bij 182 jongeren die op dat moment 14-15-jaar oud waren, werden bloed-, haar- en urinestalen geïncubateerd. In de stalen werden zowel biomerkers van blootstelling als biomerkers van effect bepaald. De reststalen werden in de biobank bewaard. Daarnaast werden op beide momenten uitgebreide vragenlijsten afgenomen, waarin informatie werd verzameld m.b.t. levensstijl, voeding en gezondheid. Het opvolgen van een pasgeborenencohort zorgt voor een wetenschappelijk unieke opportuniteit. Het geeft meer inzicht in het belang van blootstelling aan chemische stoffen in verschillende fasen van het leven in relatie tot het voorkomen van chronische aandoeningen op latere leeftijd.

De voornaamste karakteristieken van de onderzoeksgroep worden gegeven in Tabel 1.

Tabel 1: Populatiekenmerken van de FLEHS-4 jongeren in de opvolgstudie

FLEHS-4 jongeren in opvolgstudie (N=182)		
	N	Mediaan (P25-P75)
Leeftijd (jaar)	182	14,7 (14,4-15,2)
BMI (kg/m ²)	182	19,8 (18,0-21,7)
BC (µg/m ³)	182	0,98 (0,84-1,26)
	N	Aantal (%)
Geslacht	182	Vrouwelijk: 93 (51%)
Borstvoeding	182	134 (74%)
Roken tijdens zwangerschap	180	7 (4%)
Roken bij jongeren	182	3 (2%)
Passief roken bij jongeren	178	30 (16%)
Alcohol consumptie bij jongeren	182	52 (29%)
Allergie in de familie	180	122 (67%)
RURA indicator	182	Landelijk: 76 (42%)
		Randstedelijk: 30 (16%)
		Stedelijk: 76 (42%)
Opleiding van de moeder (ISCED classificatie)	182	Laag: 6 (3%)
		Midden: 47 (26%)
		Hoog: 129 (71%)
Opleiding van de jongere	178	ASO: 115 (65%)
		TSO: 54 (30%)
		BSO: 9 (5%)

P: percentiel; BMI: body-mass index; BC: gemiddelde jaarlijkse black carbon concentratie op het thuisadres; ISCED: International Standard Classification of Education; ASO: algemeen secundair onderwijs; TSO: technisch secundair onderwijs; BSO: beroeps secundair onderwijs.

2.2 DOEL VAN HET ONDERZOEK

Epidemiologisch onderzoek toont aan dat blootstelling aan zware metalen, organochloorverbindingen en per- en polyfluoroalkylverbindingen (PFAS), zowel bij de geboorte als op latere leeftijd, in verband kunnen worden gebracht met neurologische en immuno-modulerende effecten¹.

Bij 182 jongeren die gerekruteerd werden in FLEHS-1, en opnieuw onderzocht in FLEHS-4, werd dezelfde set van chemische stoffen gemeten in het

¹ <https://www.eea.europa.eu/publications/emerging-chemical-risks-in-europe>

navelstrengbloed bij de geboorte én in het perifeer bloed op de leeftijd van 14-15 jaar. Dit waren de zware metalen lood en cadmium; de persistente organochloorverbindingen (POP's), nl. polygechloreerde bifenylyls (PCB's), hexachloorbenzeen (HCB) en dichlorodiphenyldichloroethylene (p,p'-DDE, afbraakproduct van DDT); en een set van poly- en perfluoralkylverbindingen (PFAS), o.m. PFOS, PFOA, PFNA en PFHxS. Gezondheidseffecten die op de leeftijd van 14-15 jaar werden gemeten zijn cognitieve prestatie parameters (neurologische effecten), uitgedaemde stikstofmonoxide (FeNO), witte bloedceltypes en zelfgerapporteerde vragenlijstgegevens over astma, rhinitis, eczeem, allergieën en luchtweginfecties.

Met behulp van deze gegevens werd:

1. de relatie onderzocht tussen de blootstelling bij de geboorte en op de leeftijd van 14-15 jaar aan de hand van Spearman rank correlaties. Dit geeft een indicatie in welke mate het algemene blootstellingsprofiel al dan niet constant blijft over de tijd.
2. het effect van de blootstelling bij de geboorte en op 14-15 jaar nagegaan op de gezondheid. Dit gebeurde via lineaire en logistische regressie analyses waarbij zowel de blootstellingsmerkers bij de geboorte als de blootstellingsmerkers tijdens de adolescentie getest werden als verklarende factor, en dit na correctie voor de relevante covariaten en confounders. Als eindpunt werd de gezondheid bestudeerd, met de focus op neurologische en immunologische effecten.

2.3 RELATIE TUSSEN DE BLOOTSTELLING BIJ DE GEBOORTE EN DE BLOOTSTELLING IN ADOLESCENTIE

In deze opvolgstudie werden er hogere blootstellingsniveaus van metalen, organochloorverbindingen en PFAS (behalve de lange-keten PFNA) geobserveerd in het navelstrengbloed bij de geboorte in vergelijking met het perifeer bloed tijdens adolescentie (Tabel 2).

Tabel 2: Beschrijvende statistiek van de blootstellingsmerkers

Blootstelling	Bij de geboorte (navelstrengbloed)							Tijdens adolescentie (perifeer bloed 14-15 jaar)						
	N	KL	% >KL	GM (95%BI)	P25	P50	P75	N	KL	% >KL	GM (95%BI)	P25	P50	P75
METALEN (µg/l)														
Cadmium	107	0,09	100	0,56 (0,48-0,66)	0,28	0,59	1,05	107	0,022	100	0,17 (0,16-0,19)	0,14	0,17	0,23
Lood	153	2	100	14,86 (13,11-16,85)	9,22	15,10	26,07	153	0,159	100	8,77 (8,10-9,48)	6,61	8,86	11,95
Organochloorverbindingen (ng/l)														
HCB	153	20	75	36,82 (32,77-41,38)	20,00	40,00	60,00	153	2	100	39,28 (36,88-41,84)	31	40	51
p,p'-DDE	160	20	98	228,8 (199,2-262,7)	140,0	222,4	390,0	160	4	100	209,6 (185,8-236,5)	123,7	193,00	311,00
PCB118	154	20	56	20,54 (18,38-22,96)	12,72	20,00	31,57	154	2	100	12,49 (11,54-13,52)	9,25	12,00	16,00
PCB138	153	20	71	31,50 (27,77-35,73)	18,30	35,00	52,00	153	2	100	32,56 (29,74-35,84)	22,00	32,00	46,00
PCB153	155	20	86	57,50 (50,32-65,70)	39,50	65,00	109,0	155	2	100	55,28 (49,69-61,51)	33,00	57,00	85,00
PCB180	155	20	86	44,51 (39,84-49,72)	30,00	50,00	70,00	155	2	100	25,97 (23,00-29,33)	15,00	25,00	43,00
Σ3 PCBs	153			139,7 (125,2-155,8)	90,00	148,0	236,0	153			115,5 (103,9-128,3)	72,00	116,00	172,00
PFAS (µg/l)														
PFOA	99	0,2	100	1,40 (1,25-1,57)	0,90	1,5	2,1	99	0,2	100	0,96 (0,90-1,01)	0,81	0,97	1,15
PFHxS	99	0,2	92	0,47 (0,41-0,54)	0,31	0,47	0,71	99	0,2	98	0,42 (0,39-0,46)	0,30	0,42	0,57
PFOS	99	0,2	100	2,77 (2,41-3,18)	1,70	3,0	4,6	99	0,2	100	2,20 (1,91-2,53)	1,30	2,10	3,65
PFNA	99	0,2	49	0,18 (0,16-0,20)	0,10	0,10	0,28	99	0,2	77	0,27 (0,25-0,30)	0,21	0,28	0,37

KL: kwantificatielimiet; GM: geometrisch gemiddelde; BI: betrouwbaarheidsinterval; P: percentiel; HCB: hexachlorobenzeen; p,p'-DDE: dichloor difenyl dichloorethyleen; PCB: polygechloreerde bifenylys; Σ3 PCBs = PCB138 + PCB153 + PCB180; PFAS: poly- en perfluoralkyl-verbindingen; PFOA: perfluorooctaan-10-ol; PFHxS: perfluorohexaansulfonzuur; PFOS: perfluorooctansulfonzuur; PFNA: perfluornonaansulfonzuur; Σ4 PFAS = PFOS + PFOA + PFNA + PFHxS.

Voor lood en cadmium zien we een graduele daling in het milieu omwille van een diverse reeks van maatregelen, o.m. het invoeren van loodvrije benzine, verbod op lood in verf, vervangen van loden drinkwaterleidingen, rookstopmaatregelen, vervangen van cadmium in batterijen, enz...

De persistente organochloorverbindingen werden grotendeels verboden sinds de jaren '70.

De perfluorverbindingen PFOS en PFOA werden sinds 2000 steeds minder geproduceerd. Ze werden opgenomen in de lijst van *persistent organic pollutants (POP's)*. Het gebruik van PFOS werd sinds 2006 sterk beperkt door een 'phase-out' beleid van de producenten. PFOS en PFOA werden opgenomen in de United Nations Stockholmconventie in 2010². Als gevolg van regelgeving daalden de niveaus in de omgeving. Voor PFNA zien we hogere waarden bij de jongeren in vergelijking met het navelstrengbloed. Deze PFAS is nog niet gereguleerd.

Levensstijl en blootstelling kunnen behoorlijk verschillen tussen zwangere vrouwen en adolescenten. Toch kunnen we de daling in de gehalten tussen geboorte en adolescentie in belangrijke mate toeschrijven aan de evolutie van blootstelling in de tijd. Er zit namelijk 15 jaar tussen beide meetpunten. We zien vergelijkbare tijdstrends in de vier opeenvolgende cross-sectionele FLEHS-campagnes, uitgevoerd tussen 2003 en 2018 bij 14-15 jarige adolescenten³.

Niet alleen de blootstelling, maar ook de mate waarin chemische stoffen doorheen de placenta migreren van de moeder naar het kind, bepaalt de concentratie in het navelstrengbloed. We vonden in deze studie correlaties tussen de blootstellingsniveaus bij de geboorte en adolescentie voor de PFAS en de organochloorverbindingen. Deze stoffen zijn persistent, wat maakt dat ze langere tijd in het lichaam blijven. Lood en cadmium hebben een halfwaardetijd in het bloed van enkele maanden; voor de organochloorverbindingen ligt dit in de grootte-orde van een 2 tot 10 jaar; voor PFAS van 3 tot 8 jaar. Gezien de tijdspanne van 15 jaar tussen beide metingen, is de lichaamsbelasting van de eerste levensjaren deels of grotendeels verwerkt. De bloedwaarden op 14-15-jarige leeftijd worden voor sommige stoffen nog (deels) beïnvloed door de niveaus bij de geboorte, maar daarnaast heeft recente blootstelling ook een invloed op de bloedwaarden op 14-15-jarige leeftijd.

² <http://chm.pops.int/Implementation/IndustrialPOPs/PFOS/Overview/tabid/5221/Default.aspx>

³ Schoeters G, Govarts E, Bruckers L, Den Hond E, Nelen V, De Henauw S, Sioen I, Nawrot TS, Plusquin M, Vriens A, Covaci A, Loots I, Morrens B, Coertjens D, Van Larebeke N, De Craemer S, Croes K, Lambrechts N, Colles A, Baeyens W. Three cycles of human biomonitoring in Flanders - Time trends observed in the Flemish Environment and Health Study. *Int J Hyg Environ Health* 2017; 220:36-45. doi: 10.1016/j.ijheh.2016.11.006.

2.4 EFFECT VAN DE BLOOTSTELLING BIJ DE GEBOORTE EN BLOOTSTELLING IN ADOLESCENTIE OP ASTMA, ALLERGIE EN INFECTIES

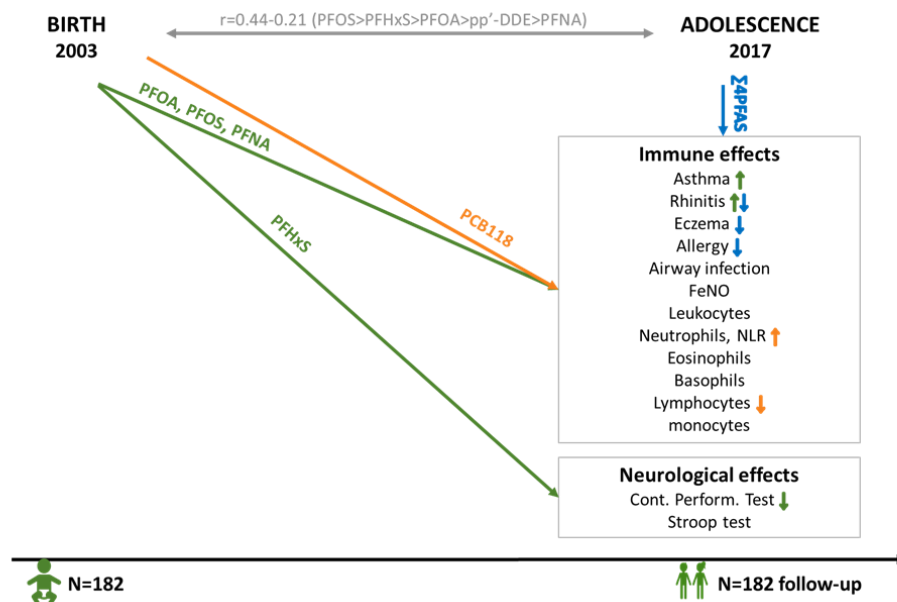
Blootstelling aan PFAS bij de geboorte was geassocieerd met een verhoogd voorkomen van astma en rhinitis op 14-15 jarige leeftijd. Anderzijds werd een omgekeerd verband weergenomen tussen PFAS blootstelling tijdens adolescentie en het voorkomen van rhinitis en allergie op dezelfde leeftijd (Figuur 2). Ook in de literatuur worden associaties in beide richtingen waargenomen. Op basis hiervan werd door EFSA volgend wetenschappelijk advies afgeleid: "Het beschikbare bewijs is onvoldoende om te suggereren dat blootstelling aan PFAS geassocieerd is met allergie en astma bij kinderen en volwassenen". Toch bevestigt de huidige studie wat ook andere studies aantoonde, dat PFAS het immuunsysteem kunnen onderdrukken, maar ook overstimuleren, m.a.w. ze hebben immuno-modulerende effecten.

Blootstelling aan PCB118 bij de geboorte was geassocieerd met een verhoogd percentage neutrofielen op de leeftijd van 14-15 jaar (Figuur 2). Het verhoogd aantal neutrofielen wijst erop dat een infectieroute werd geactiveerd. Het vermoeden dat organochloorverbindingen kunnen inwerken op immuunregulatie (door o.a. interactie met arylkoolwaterstofreceptor (AhR)) kan onze bevinding extra ondersteunen.

2.5 EFFECT VAN DE BLOOTSTELLING BIJ DE GEBOORTE EN BLOOTSTELLING IN ADOLESCENTIE OP NEUROCOGNITIE

Onze resultaten gaven aan dat een hogere blootstelling aan PFHxS bij de geboorte geassocieerd was met een verhoogde reactiesnelheid in de Continuous Performance Test (volgehouden aandacht test) op de leeftijd van 14-15 jaar (Figuur 2). Omgekeerd tonen *in vivo* en *in vitro* modellen dat blootstelling aan PFAS ook neurotoxische effecten hebben. Het versnellen van de reactietijd zou kunnen verklaard worden doordat ze binden aan de peroxisoom proliferator-geactiveerde receptoren (PPAR γ). Van stoffen die binden aan de PPAR γ wordt aangenomen dat ze neuroprotectieve effecten hebben vanwege ontstekingsremmende invloeden op het centrale zenuwstelsel. Dat alleen blootstelling aan PFHxS bij de geboorte en niet tijdens adolescentie dit effect vertoonde op de cognitieve prestaties in ons onderzoek, kan te wijten zijn aan specifieke pathways in de neurologische ontwikkeling van de foetus die door deze stof worden beïnvloed.





Figuur 2: Samenvatting van resultaten

2.6 CONCLUSIE

In deze studie bestudeerden we de blootstelling aan milieuvervuilende stoffen, nl. zware metalen (lood, cadmium), organochloorverbindingen (PCB's, DDT-metaboliet, hexachlorobenzeen) en per- en polyalkylfluorverbindingen (PFAS) bij 182 jongeren. De blootstellingsniveaus bij de geboorte waren hoger in vergelijking met de gehalten op 14-15-jarige leeftijd. Gezondheid tijdens de adolescentie, nl. het voorkomen van astma en allergie en de neurocognitieve prestaties, was geassocieerd met blootstelling aan deze stoffen bij de geboorte en/of tijdens adolescentie.

Vooral de blootstelling bij de geboorte beïnvloedt de gezondheid op de leeftijd van 14-15 jaar. Uit ons onderzoek kunnen we niet achterhalen of dit te wijten is aan de hogere niveaus in navelstrengbloed of aan het gevoelige tijdsvenster tijdens de zwangerschap. Een beperkende factor voor het onderzoek is de relatief kleine groep van jongeren die opgevolgd werden. De bevindingen vereisen bevestiging in meerdere studies of in grotere groepen. Omwille van de veranderende gehalten van milieupolluenten over de tijd zal het steeds een uitdaging blijven om de impact van gevoelige tijdsvensters te onderzoeken in longitudinale studies, maar bij

grotere onderzoeksgroepen is het mogelijk om krachtiger onderzoek te doen, en kan er mogelijk wel gedifferentieerd worden tussen tijdstrends en tijdsvenster.

Onze gegevens bevestigen de DOHaD hypothese (*Developmental Origin of Health and Disease*)^{4,5}, die stelt dat de zwangerschap een kritische periode is voor de ontwikkeling van gezondheidseffecten later in het leven. We adviseren om deze gevoelige doelgroep verder te beschermen door blootstelling aan milieuvervuilende stoffen tijdens de zwangerschap te beperken.

3 INTERNATIONALE PUBLICATIE

De resultaten van deze studie worden gepubliceerd in de internationale literatuur. Er is momenteel een manuscript in voorbereiding, getiteld '*Neuro- and inflammatory effects observed in teenagers, in relation to pre- and postnatal exposure to chemicals*' door volgende co-auteurs: Koppen G, Reimann B, Voorspoels S, Jacobs G, Bastiaens M, Covaci A, Franken C, Den Hond E, Bruckers L, Plusquin M, Schoeters G, Remy S.

4 BELEIDSAANBEVELINGEN

4.1 CONCEPT VAN EEN LONGITUDINALE COHORTE: BELANG VAN UNIFORMITEIT EN CONTINUÏTEIT

In deze studie hadden we een longitudinale databank beschikbaar met gegevens van blootstelling aan chemische stoffen bij de geboorte (maat voor blootstelling tijdens de zwangerschap) en tijdens de adolescentie (maat voor blootstelling van de voorafgaande maanden tot jaren), in combinatie met biobankstalen, gezondheidsmetingen en een ruime set van vragenlijstgegevens op beide tijdstippen. Dit is een waardevolle en krachtige databank omwille van de relatief lange opvolgtijd (15 jaar) en de uniformiteit en consistentie van de data. Aangezien de verschillende FLEHS studies doorheen de tijd steeds werden uitgevoerd door hetzelfde

⁴ <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2796.2007.01809.x>

⁵ <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19711249/>

onderzoeksconsortium is er continuïteit in de vragenlijsten en zijn er kwaliteitscontroles uitgevoerd die garanderen dat de chemische metingen vergelijkbaar zijn doorheen de tijd. Dit is een grote meerwaarde voor prospectief onderzoek.

De metingen bij de geboorte (in navelstrengbloed) en op de leeftijd van 14-15 jaar (perifeer bloed) waren in de huidige studie methodologisch perfect vergelijkbaar, wat een essentiële vereiste is om de analyses uit de huidige studie te kunnen uitvoeren. Om dit te garanderen werd sterk ingezet op kwaliteitsgaranties via herhalingscontrolestaten en interne hoge standaarden van ervaren laboratoria. We adviseren voor de toekomst om deze hoge standaard te behouden. Het is dus belangrijk om dit mee op te nemen in offertes en budgetbegrotingen.

Voor de vragenlijstgegevens werd getracht om de continuïteit doorheen de tijd maximaal te garanderen. Echter, omwille van voortschrijdend inzicht, internationale trends en kennis over nieuwe variabelen, werden sommige indicatoren in de loop van de tijd aangepast. Hierbij is het zoeken naar een goede balans tussen maximale continuïteit en nood aan verbetering. Dit geldt zowel voor de gezondheidsindicatoren als voor de confounders/covariaten.

Concreet, nemen we volgende lessen mee uit de huidige studie:

- Uniforme bevraging confounder/covariaten: opleiding, roken, passief roken, drankgebruik, medicijngebruik. Deze vragen zijn doorheen de tijd goed vergelijkbaar.
- Immunologische eindpunten:
 - o Voor de definitie van astma en sommige allergieën (hooikoorts, rhinitis, eczeem) werd steeds gebruikt gemaakt van de ISAAC vragenlijst; dit is een internationaal gevalideerde vragenlijst die constant is gebleven over de tijd.
 - o Wat ontbreekt in de ISAAC vragenlijst is de informatie over huisstofmijtallergie; dit werd in de Vlaamse HBM in de loop van de tijd toegevoegd aan de standaard bevraging van allergie. Het is belangrijk om de vragen over huisstofmijtallergie in de toekomst ook verder mee op te nemen.
 - o Infecties zijn een belangrijk gezondheidseindpunt. Het voorkomen van infecties is doorheen de tijd niet altijd consequent bevraagd in de Vlaamse HBM studies. Ook werd de vraag vaak te algemeen gesteld. Als advies kunnen we geven om specifiek te vragen naar periodes met koorts, antibioticagebruik, bezoek aan arts voor infectie over een periode van een jaar.
 - o Verder is het belangrijk om de recente literatuur op te volgen en bij te sturen waar nodig. Voor astma en allergie is er een

grote consensus dat de ISAAC vragenlijst valide antwoorden geeft; voor infecties is bevraging een stuk moeilijker. In een EFSA rapport van 2020⁶ wordt gesteld dat "objective measures of infections (not self-reports) are needed". In de Vlaamse HBM wordt ook het bloedbeeld mee bepaald. Sommige bloedcellen zijn een maat voor systemische inflammatie, maar enkel op korte termijn. De literatuur wordt opgevolgd om te bekijken of een eenvoudige, niet-invasieve merker voor lange-termijn inflammatie in de toekomst kan worden toegevoegd.

Beleidsadvies: Prospectieve cohorten leveren een belangrijke meerwaarde om de relatie tussen milieublootstelling en gezondheid te onderzoeken. Een geboortecohorte heeft nog een extra sterkte omdat er gestart wordt vanuit de meest gevoelige periode in het leven, nl. de ontwikkeling van de foetus tijdens de zwangerschap.

Bij het werken met (geboorte)cohorten is het belangrijk om te zorgen voor **continuïteit en uniformiteit**. Het blijven opvolgen van dezelfde deelnemers en opbouwen van een prospectieve databank over meerdere jaren / meerdere decennia is noodzakelijk om de lange termijn gevolgen van blootstelling aan chemische stoffen te kunnen opvolgen. Hierbij is een gestandaardiseerde en uniforme methodiek essentieel, o.m. voor de chemische analyses (controle van vergelijkbaarheid), voor de gezondheidseindpunten (gestandaardiseerde en gevalideerde metingen) en voor de vragenlijstgegevens die gebruikt worden als confounder/covariaat. Binnen de FLEHS-studies van het Vlaams humaan biomonitoringsprogramma is deze uniformiteit altijd goed bewaard, omdat de onderzoeken worden uitgevoerd door eenzelfde onderzoeksconsortium. Het is belangrijk om dit in de toekomst te blijven doen, en tegelijkertijd ook aandacht te hebben voor bijsturing en verbetering indien de wetenschappelijke kennis evolueert.

Concreet adviseren we om de bestaande geboortecohorten (FLEHS-1 tot FLEHS-3) in de toekomst maximaal verder op te volgen voor relevante eindpunten, en voldoende tijd en budget te voorzien om de beschikbare gegevens diepgaand te analyseren, m.a.w. om de huidige analyse opnieuw uit te voeren voor relevante milieupolluenten en/of gezondheidseindpunten in de volgende jaren.

⁶ <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/6223>

4.2 CONCEPT VAN EEN LONGITUDINALE COHORTE: BELANG VAN FOLLOW-UP EN REPRESENTATIVITEIT

De pasgeborenencohorte van FLEHS-1 werd gestart in 2002-2004 bij 1.169 moeder-kind koppels, maar niet met als doel om de geboortecohorte uit te bouwen. In een subgroep was een opvolging voorzien (neurologie & astma en allergie) tot 3 jaar, maar verdere engagementen werden vooraf van de moeders niet gevraagd. Doorheen de jaren werd de cohorte op verschillende momenten opnieuw bevraagd of uitgenodigd voor sub-studies (Tabel 3). We zien in deze cohorte een goede respons, bijv. de vragenlijst op 8 jaar werd door bijna 600 deelnemers (~50%) ingevuld; de oproep op 14-15 jaar voor een nieuw HBM onderzoek gaf een respons van bijna 200 deelnemers (~15% van oorspronkelijke cohorte en ~25% van aangeschreven cohorte). Dit is mede te danken aan het 'contact houden' met de cohorte. Door hen op regelmatige basis uit te nodigen voor bijkomende onderzoeken en ook resultaten te bezorgen van de onderzoeken, blijft de studie herkenbaar, en is er een relatief grote respons.

Indien de cohorte van bij de start gekaderd was als opvolgstudie, was de respons mogelijk nog groter geweest. In structureel opgezette geboortecohorten, zoals de 3xG studie⁷ of het Limburgs geboortecohort⁸, waar bij de start wel duidelijk het belang van een lange termijn traject wordt uitgelegd, bedraagt de respons voor opvolgonderzoek ongeveer 70% op de leeftijd van 5-8 jaar (eigen ervaring PIH/VITO voor 3xG en UHasselt voor het Limburgs geboortecohort). Een factor die bij de Vlaamse humane biomonitoringsstudies de lange termijn engagementen bemoeilijkt is gelinkt aan het feit dat de Steunpunten telkens opgericht worden voor periodes van 4 tot 5 jaar, waardoor het moeilijk is om naar de deelnemers toe uitspraken te doen over een concrete tijdslijn op langere termijn.

Tabel 3: Overzicht van de FLEHS-1 cohorte en opvolgmomenten

STUDY name		FLEHS-1 newborn cohort 2002-2006
Starting year	2002	
Number of participants at start	1196 mother-child pairs	
Recruitment via	Maternities	
Age at start	Birth	
Follow-up time points	Delivery; subsets: 2, 3, 5, 7, 10, 11, 15y	
Follow-up: info & samples		
	Age	birth

⁷ <https://studie3xg.be/nl>

⁸ <https://www.uhasselt.be/Algemene-Informatie-Limburgs-Geboortecohort>

1st follow-up time point	Number of participants participating in follow-up	1196
	Questionnaire life style & SES	mother: SES, indoor, smoking, pesticide use, alcohol, smoking, consumption of local food, diet, occupation, traffic, living environment
	Exposure	cord blood: metals (incl. Pb), p,p'- DDE, HCB, PCBs
	Effect biomarkers/omics	cord blood: methylation arrays for subset of N=99
	Clinical data	cord blood: lipids newborn: weight, length, Apgar score mother: weight, length, asthma/allergy & fertility questionnaires
	Biological samples still available	cord blood
2nd follow-up time point	Age	3wks, 6m, 1y, 1.5y, 2y
	Number of participants participating in follow-up	N=150: asthma/allergy follow-up (A&A cohort) N=200: neurodevelopment follow-up (ND cohort)
	Questionnaire life style & SES	A&A cohort: growth, diet, pets, diseases, allergy symptoms, hygiene, indoor ND cohort: behaviour (IBQ, CBCL, C-TRF), Milestones
	Exposure	
	Effect biomarkers/omics	A&A cohort: 6m and 1y microbiome in stool
	Clinical data	
	Biological samples still available	
3th follow-up time point	Age	3y
	Number of participants participating in follow-up	A&A cohort: N=150 ND cohort: N=200
	Questionnaire life style & SES	A&A cohort: growth, diet, pets, diseases, allergy symptoms, hygiene, indoor ND cohort: child: behaviour (CBCL, C-TRF, CSBI), Milestones, Development (BSID-II-NL, RTOS, NES3), intelligence (SON-R 2.5-7), toy preference; mother: mother: intelligence (WASI), HOME, anxiety (STAI), stress (PSS), life events (NEO-PI-R)
	Exposure	
	Effect biomarkers/omics	A&A cohort: N=40: EBC proteomics, EBC pH, breath VOC, eNO N=150: 8-oxodG (urine)

	Clinical data	A&A cohort: N=150: SPT: IgE egg, milk, house dust mite, grasses ND cohort: cortisol in saliva of mother
	Biological samples still available	
4th follow-up time point	Age	4y, 5y, 6y
	Number of participants participating in follow-up	A&A cohort: N=108 (at 4y), N=96 (at 5y), N= 90 (6y)
	Questionnaire life style & SES	A&A cohort: growth, diet, pets, diseases, allergy symptoms, hygiene, swimming, indoor
	Exposure	
	Effect biomarkers/omics	
	Clinical data	
	Biological samples still available	
5th follow-up time point	Age	7y
	Number of participants participating in follow-up	A&A cohort (N=86) + N=65 others of FLEHS 1 cohort
	Questionnaire life style & SES	
	Exposure	
	Effect biomarkers/omics	spirometry, eNO, EBC pH, Growth, waist/head/chest circumference, fat/fat free mass (impedance), arm/back fold
	Clinical data	
	Biological samples still available	
6th follow-up time point	Age	8y
	Number of participants participating in follow-up	N=282 of all
	Questionnaire life style & SES	allergy symptoms, asthma, growth and (sexual) development, diet, physical activity, neurodevelopment (SDQ)
	Exposure	
	Effect biomarkers/omics	0-8y: growth curve, (puberty onset)
	Clinical data	length, weight, circumference, skinfold
	Biological samples still available	
	Age	10-11y



7th follow-up time point	Number of participants participating in follow-up	N=592 of all
	Questionnaire life style & SES	allergy symptoms, asthma, infections, growth en (sexual) developm, diet , physical activity, early exposures
	Exposure	
	Effect biomarkers/omics	N=99: saliva+blood: DNA methylation pyrosequencing in subset of N=46: 450K Methylation array+IPLEX Mass array
	Clinical data	plasma: specific IgEs
	Biological samples still available	
8th follow-up time point	Age	14y
	Number of participants participating in follow-up	N=182
	Questionnaire life style & SES	
	Exposure	blood/serum: metals, POPs, brominated flame retardants PCB, DDT, perfluorinated compounds urine: As, metals (incl. Pb), benzene, PAH, pesticides, glyphosate, bisphenols, phthalates, organophosphates, emerging chemicals (suspected screening
	Effect biomarkers/omics	blood: comet assay hair: cortisol breath: eNO urine: 8oxodG, Creatinin neurological test (107 of 108 participants): Continuous performance, Stroop test
	Clinical data	blood: blood cell types (blood formula) weight, height measured blood pressure
Biological samples still available	RNA (3 mL) DNA (from 3 mL blood)	

Een grote uitdaging bij het opzetten van longitudinale cohorten is de representativiteit, zowel bij de rekrutering van de deelnemers als bij de opvolging. Een bijzonder aandachtspunt is de inclusie van deelnemers uit kwetsbare doelgroepen, bijv. lager opgeleide groepen, groepen met een andere etnische achtergrond of financieel zwakkere doelgroepen. Naast de complexiteit van het milieugezondheidsonderzoek (veel vaktermen, bijv.

chemische stoffen, medische termen, enz.) is ook het uitgebreide onderzoeksdesign (collectie van bloed, urine; uitgebreide vragenlijsten) een drempel. In de FLEHS-studies zijn in het verleden met succes maatregelen toegepast om ook kwetsbare deelnemers in het onderzoek te betrekken (o.a. werken met buddy's, lokale contactpersonen, teksten op maat, enz.). Toch is dit een blijvend aandachtspunt. Specifiek in FLEHS-1 was er bij de geboorte een lage drempel om in het onderzoek te stappen, waardoor er een goede mix werd bekomen van de verschillende socio-economische groepen. In de opvolgcohorten echter, zien we een grotere proportie van hoger opgeleide ouders. Er is dus een selectiebias ontstaan doorheen de tijd. Voor wat betreft de statistische analyse in de huidige studie lijkt dit op het eerste zicht geen probleem omdat er nog steeds een brede range van blootstelling wordt geobserveerd (hoger opgeleiden zijn doorgaans meer blootgesteld aan organochloorverbindingen en PFAS); ook de proportie van aandoeningen (bijv. astma, allergie, infecties) ligt in de range die we in een algemene Vlaamse bevolking verwachten. Aangezien we dosis-respons relaties bestuderen in een relatief kleine groep, is het feit dat het onderzoek wordt uitgevoerd in een homogene groep eerder een voordeel, omdat correctie voor veel confounders de power van het onderzoek vermindert. Anderzijds is het toch belangrijk om dosis-effectrelaties te onderzoeken bij een heterogene groep om voldoende brede uitspraken te kunnen doen voor wat betreft beleidsmaatregelen. Indien sommige sociale klassen in het onderzoek niet voorkomen, kunnen de overeenkomstige risicofactoren niet in kaart worden gebracht, en dus niet worden opgepikt voor toekomstig beleid. Daarom is streven naar een goede sociale mix belangrijk in humaan biomonitoringsonderzoek.

Beleidsadvies: Bij analyses op longitudinale geboortecohorten is het belangrijk om voldoende deelnemers te behouden in de follow-up periode. Dit is nodig om de gewenste power te hebben voor de statistische analyses. Om de resultaten te kunnen vertalen naar een algemene bevolking is het essentieel dat de cohorten zowel bij de basis als in de follow-up periode representatief is voor de populatie die we willen beschermen.

Bij het werken met (geboorte)cohorten is het belangrijk om te zorgen voor een **goede follow-up, zonder selectie bias**. Er is vooral speciale aandacht nodig om sociaal kwetsbare populaties te betrekken bij het onderzoek, zowel bij de rekrutering als tijdens de follow-up periode. Een nieuwe, grote geboortecohorte zou een grote meerwaarde zijn, maar vergt ook een grote financiering; deze kost dient afgewogen te worden tegenover de meerwaarde van andere leeftijdsgroepen.

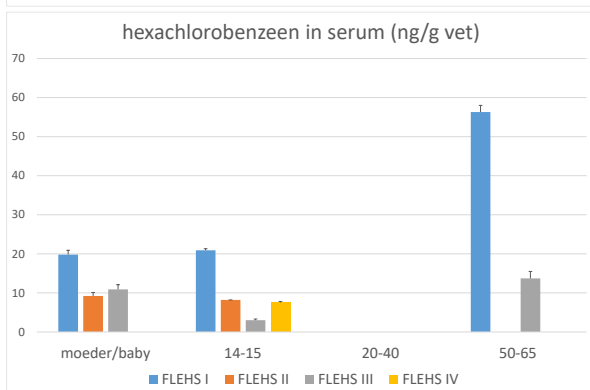
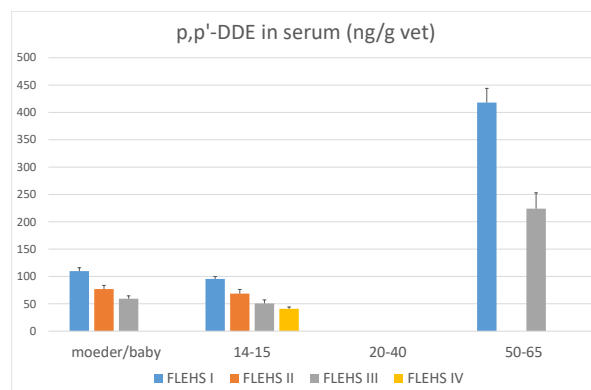
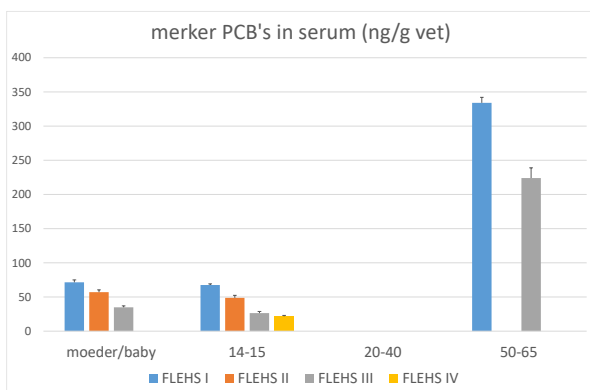
4.3 LONGITUDINAAL ONDERZOEK: OMGAAN MET VERSCHILLEN IN DE BLOOTSTELLING DOORHEEN DE TIJD

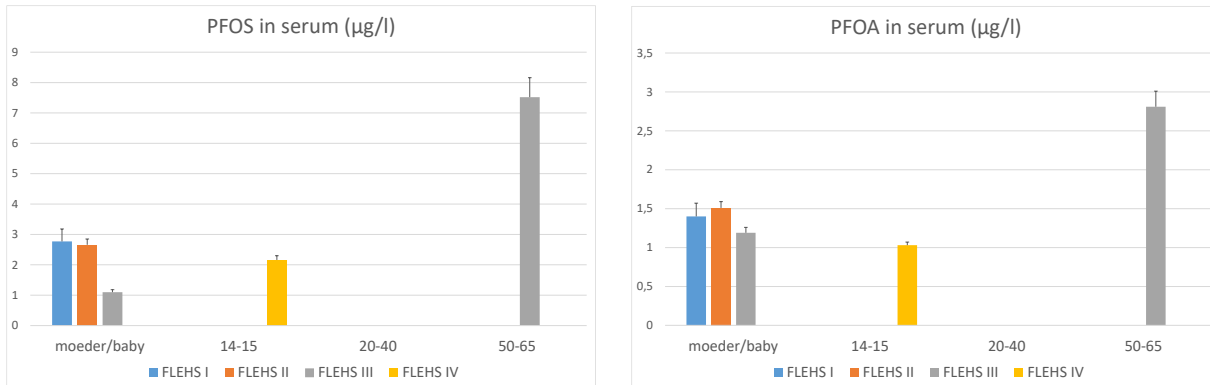
In deze studie werd geobserveerd dat de niveaus van zware metalen, organochloorverbindingen en PFAS (behalve de lange keten PFNA) in navelstrengbloed dat werd geïncubated in 2002-2004 hoger lagen dan de niveaus in perifere bloed op 14-15 jarige leeftijd in 2017-2018. Bij de vergelijking van de niveaus zijn er verschillende factoren die een rol spelen. Enerzijds is er een **cohort effect**: voor de meeste chemische stoffen die we meten zijn er in de afgelopen 15 jaar beleidsmaatregelen genomen die resulteren in dalende concentraties in de omgeving, en bijgevolg ook in de mens. Anderzijds gaat het om persistente stoffen die zich opstapelen in het lichaam, waardoor we een **leeftijdseffect** kunnen verwachten, nl. een toename van de interne dosis met de leeftijd. Tot slot, is er een **matrix effect** mogelijk, aangezien gehalten in navelstrengbloed kunnen verschillen van gehalten in perifere bloed. De netto verschillen van al deze factoren samen zijn moeilijk in kaart te brengen maar we kunnen de afzonderlijke factoren wel apart bekijken voor de Vlaamse situatie.

Cohorte effect. Voor alle gemeten pollutanten zien we dalende tijdstrends in de opeenvolgende cross-sectionele FLEHS-1, -2, -3 en -4 studies uitgevoerd bij 14-15 jarige adolescenten tussen 2003 en 2018 (gerapporteerd in: Steunpunt M&G, 2020). Over die verschillende FLEHS-onderzoeken was de daling duidelijk te zien. In de periode van FLEHS-1 (2003-2004) tot FLEHS-4 (2017-2018) daalde cadmium in bloed met 44% (van 0,36 µg/l naar 0,20 µg/l), lood in bloed daalde met 65% (van 22,4 naar 7,8 µg/l), HCB in serum daalde met 63% (90,4 tot 33,4 ng/l), p,p'-DDE in serum met 55% (412 tot 183 ng/l), en merker-PCB's in serum met 66% (291 tot 98 ng/l). PFAS werden gemeten in navelstrengbloed in FLEHS-2 (2008-2009) en FLEHS-3 (2013-2014). Voor PFOS werd een daling van 58% vastgesteld (van 2,64 naar 1,12 µg/l) en voor PFOA een daling van 21% (van 1,51 naar 1,19 µg/l).

Leeftijdseffect. De chemische stoffen die in deze studie werden gemeten behoren tot de groep van moeilijk afbreekbare (=persistente) stoffen. D.w.z. deze stoffen stapelen zich op in het lichaam met de leeftijd. Zo werden in de FLEHS-studies, waarin meerdere leeftijdsgroepen werden onderzocht, steeds hogere blootstellingsniveaus geobserveerd bij volwassenen dan bij jongeren. Voor de gehalten in navelstrengbloed ligt dit complexer omdat navelstrengbloed de geaccumuleerde blootstelling van de moeder weerspiegelt (op de leeftijd van 18-40 jaar). Echter, ook de transfer doorheen de placenta speelt een rol, waardoor concentraties in navelstrengbloed kunnen verschillen van die in het perifere bloed van de

moeder. Het effect van leeftijd kan dus niet volledig los worden gezien van het matrixeffect. In Figuur 3 wordt een overzicht gegeven van de biomerkers van blootstelling per leeftijdsgroep in de verschillende campagnes (FLEHS-1 tot FLEHS-4). Voor de stoffen die doorheen de tijd werden gemeten zien we praktisch altijd een dalende tijdstrend. Indien we de impact van leeftijd bekijken, valt op dat de gehalten in navelstrengbloed vaak in de buurt liggen van de gehalten van de jongeren, terwijl de niveaus van de oudere volwassenen (50-65 jaar) steeds veel hoger liggen. Dit bevestigt dus dat het om geaccumuleerde blootstelling gaat. In de leeftijdsgroep 20-40 jaar zijn geen metingen beschikbaar. Deze groep werd onderzocht in FLEHS-2, maar er werden geen metingen van blootstellingsmerkers in bloed uitgevoerd, enkel in urine.





Bronnen: Eindrapport Volwassenen FLEHS III (PFOA/PFOS volwassenen); Eindrapport FLEHS IV (alle data van FLEHS-4); huidige studie (PFOS/PFOA in FLEHS-1), Schoeters et al. 2017⁹ (alle andere data). Gegevens zijn geometrisch gemiddelde van de referentiepopulatie + 95% betrouwbaarheidsinterval.

Figuur 3: Biomerkers van blootstelling volgens leeftijdsgroep en volgens campagne (FLEHS-1 tot FLEHS-4)

Matrix effect. Voor zware metalen werden in de pasgeborene cohorte van FLEHS-2 gecombineerde metingen uitgevoerd in navelstrengbloed en in perifere bloed bij de moeder (genomen op dag 1 tot 4 na de bevalling). De niveaus van lood en cadmium liggen duidelijk lager in navelstrengbloed, nl. voor cadmium was het geometrische gemiddelde 0,073 µg/l (95% BI 0,066-0,081; n=241) in navelstrengbloed tegenover 0,312 µg/l (95% BI 0,291-0,334; n=235) bij de moeders; voor lood waren de respectieve cijfers 8,6 µg/L (95% BI 8,1-9,2 n=241) tegenover 11,1 µg/l (95% BI 10,6-11,7; n=235)¹⁰.

In de Vlaamse humane biomonitoringsstudies werd consequent gekozen voor het rekruteren van jongeren van 14-15 jaar als 'rode draad' doorheen de tijd. Aanvullend werden ook andere leeftijdsgroepen gerekruteerd, nl. 1) pasgeborenen als meest gevoelige periode, waarbij de blootstelling bij de start van het leven in kaart wordt gebracht; 2) volwassenen van 20-40 jaar waarbij vooral aandacht is het belang van de vruchtbaarheid; 3) volwassenen van 50-65 jaar die geaccumuleerde blootstelling over de tijd weerspiegelen, samen met chronische gezondheidseffecten die pas later in het leven zichtbaar zijn. Deze leeftijdsgroepen werden afwisselend gerekruteerd maar niet systematisch op ieder tijdstip. Al deze cohorten hebben hun specifieke sterktes en beperkingen. Ze zijn onderling niet uitwisselbaar. Jongeren hebben als sterkte dat ze nog niet zijn blootgesteld aan beroepsblootstelling; ze wonen vaak hun hele leven op hetzelfde adres en

⁹ Schoeters G, Govarts E, Bruckers L, et al. Three cycles of human biomonitoring in Flanders - Time trends observed in the Flemish Environment and Health Study. *Int J Hyg Environ Health* 2017; 220:36-45. doi: 10.1016/j.ijheh.2016.11.006.
¹⁰ Baeyens W, Vrijens J, Gao Y, et al. Trace metals in blood and urine of newborn/mother pairs, adolescents and adults of the Flemish population (2007-2011). *Int J Hyg Environ Health* 2014; 217:878-90. doi: 10.1016/j.ijheh.2014.06.007.

zijn daarom een goede maat voor de lokale omgeving; puberteit is een gevoelige periode en dus interessant om gezondheidseffecten te bestuderen. De reden waarom in het verleden werd gekozen voor de leeftijdsgroep van het 3^e secundair onderwijs is omdat Vlaamse jongeren op dat moment een uitgebreid CLB-onderzoek ondergaan, en deze gegevens ook opgevraagd kunnen worden voor milieugezondheidsonderzoek.

Indien de Vlaamse HBM in de toekomst wil aansluiten bij de Europese cohortes, is mogelijk een uitbreiding voor de jongerencampagnes naar de leeftijdsklasse van 12-19 jaar gewenst. Dit heeft als voordeel dat er meer invloedsfactoren bestudeerd kunnen worden en dat de doelgroep groter wordt (wat een voordeel kan zijn in een beperkt geografisch gebied bijv. een hotspotonderzoek). Het nadeel is dat er een stuk ruis zal komen op de tijdstrends aangezien er meer variabiliteit zal optreden in de biomerkers van blootstelling bij een bredere leeftijdsdistributie. Verder zullen dosis-effect relaties omwille van de leeftijdsvariatie ook diffuser worden, en dus grotere aantallen vereisen om tot valide resultaten te komen. Een mogelijke optie voor de toekomst is de combinatie van een 12-19 jarige cohorte als doelgroep voor de Europese HBM in combinatie met een representatieve subcohorte van 14-15 jarige deelnemers om de vergelijking met het verleden in de Vlaamse HBM te behouden.

Beleidsadvies: Het opvolgen van verschillende leeftijdsgroepen doorheen de tijd voor het meten van de blootstelling aan milieuvervuilende stoffen in de algemene Vlaamse bevolking is een grote meerwaarde voor het Vlaams milieugezondheidsbeleid.

De Vlaamse humane biomonitoringstudies (FLEHS-1 tot FLEHS-4) hebben hier tot nu toe goed aan voldaan. De **rode draad** doorheen alle campagnes zijn **jongeren van 14-15 jaar oud**. De leeftijdsgroep zou kunnen uitgebreid worden tot 12-19 jaar voor betere aansluiting met Europese studies. Door deze leeftijdsgroep consequent en continu als doelgroep te rekruteren, is het mogelijk om op een gestandaardiseerde en goed gecontroleerde manier tijdstrends op te volgen. Door **afwisselend andere leeftijdsgroepen te rekruteren**, zowel jongere (pasgeborenen) als oudere (jong volwassenen, oudere volwassenen) leeftijdsgroepen, is het ook mogelijk om een goed inzicht te krijgen in de effecten van leeftijd op de blootstelling. Het scenario om systematisch alle leeftijdsgroepen te rekruteren, zou vanuit methodologisch standpunt ideaal zijn, maar deze keuze werd in het verleden niet gemaakt omwille van budgettaire redenen.

////////////////////////////////////

4.4 STUDIERESULTATEN: BELANG VAN PRENATALE EN POSTNATALE BLOOTSTELLING

In vergelijking met adolescentie werden de meeste blootstelling-effectrelaties in deze studie geobserveerd met blootstelling aan chemische stoffen bij de geboorte. Dit wijst erop dat blootstelling bij de geboorte de ontwikkeling op de latere leeftijd sterk beïnvloedt en dat de zwangerschap een zeer gevoelig tijdsvenster blijkt te zijn voor het individu. Dit resultaat is in overeenstemming met de DOHaD hypothese^{11,12}, de hypothese over *Developmental Origins of Health and Disease*. Onderzoek bij pasgeborenen in combinatie met metingen op latere leeftijd blijft dus zeer relevant voor toekomstige studies. De cross-sectionele dosis-effect associaties, nl. tussen blootstelling en effect op hetzelfde tijds punt (14-15 jaar), waren minder sterk.

In de huidige studie waren data beschikbaar van 182 adolescenten. Dit is een relatief kleine groep. Bovendien waren de aantallen bij sommige sub-analyses nog lager omwille van ontbrekende stalen in de biobank en/of informatie uit de vragenlijst die niet beschikbaar was voor alle deelnemers. Het aantal deelnemers per analyse varieerde tussen 99 en 180 individuen. De blootstellings-effectrelaties die op basis van het kleine aantal deelnemers konden afgeleid worden, geven een grotere onzekerheid. De cross-sectionele dosis-effectrelaties op de totale cohorte van de Vlaamse referentiepopulatie (N=428) vertoonde significante resultaten die in de subgroup van de FLEHS-1 geboortecohorte niet bevestigd konden worden. Dit illustreert dat er mogelijk een power probleem is. Om het vereiste aantal deelnemers te definiëren kunnen vooraf power berekeningen worden uitgevoerd. Uit ervaringen binnen de FLEHS studies blijkt dat een onderzoeksgroep van 200 à 300 deelnemers voor de meeste eindpunten een voldoende groot aantal is.

¹¹ <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2796.2007.01809.x>

¹² <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19711249/>

Beleidsadvies: De zwangerschap is één van de meest gevoelige periodes van het leven. Longitudinale geboortecohortes zijn daarom essentieel in beleidsvoorbereidend, wetenschappelijk onderzoek.

Perinatale blootstelling koppelen aan gezondheidseffecten later in het leven heeft een grote meerwaarde in dosis-effect onderzoek. Uit de huidige studie blijkt dat zowel de zwangerschap en de adolescentie gevoelige periodes zijn. Het is belangrijk dat de informatie die bekomen wordt, doorstroomt naar het beleid en dat de kennis over risico's gebruikt wordt om **preventieve maatregelen** uit te werken, met als doel om toekomstige generaties te beschermen. Een extra aandachtspunt is om deze informatie niet enkel te laten doorstromen naar vrouwen die zwanger zijn, maar ook naar iedereen met een kinderwens, zodat de bescherming al kan starten vóór conceptie.

4.5 DE BIOBANK: TOEGEVOEGDE WAARDE

Biobankstalen bieden de opportuniteit om retrospectief nieuwe onderzoeksvragen te beantwoorden en om nieuwe opkomende biomerkers te meten, die op moment van staalafname nog niet geselecteerd waren, bijv. omdat de meting nog niet beschikbaar was, of omdat het geen prioriteit was voor de onderzoeksvragen bij de start, of omdat er onvoldoende budget was en dus keuze gemaakt moesten worden.

De huidige studie is hiervan een goed voorbeeld. In FLEHS-1 (2002-2004) werd een set van goed gevalideerde biomerkers geselecteerd, nl. zware metalen en organochloorverbindingen. De methodiek voor het meten van PFAS in serum stond op dat moment nog niet op punt. Dankzij de beschikbaarheid van biobankstalen was het mogelijk om 15 jaar later ook PFAS te meten in navelstrengbloed. Dit levert niet enkel informatie op over tijdstrends van PFAS in de Vlaamse bevolking, maar laat ook toe om dosis-effectrelaties te onderzoeken, vertrekkende van gehalten in serum van 15 jaar voordien.

Bij het ontwerpen van een onderzoeksdesign voor het bewaren van de biobankstalen is het belangrijk om rekening te houden met verschillende factoren, waarbij soms conflicterende elementen een rol spelen. Enerzijds is het belangrijk om voldoende grote volumes te stockeren zodat nog meerdere analyses mogelijk zijn in de toekomst. Anderzijds is de beschikbaarheid van staal beperkt, bijv. voor navelstrengbloed, maar ook voor bloedvolumes bij jongeren of ouderen. Verder is er ook een belangrijk kostenplaatje verbonden aan het registeren en bewaren van de stalen en het

////////////////////////////////////

uitvoeren van tussentijdse kwaliteitscontroles. Er is dus een gebalanceerde keuze nodig van het aantal stalen en de volumes. Technische aspecten zoals het type anti-coagulans, keuze van de tube, keuze van volume, bewaartemperatuur, enz. spelen ook een rol. In de huidige studie was de 15 jaar bewaring van het serum in een polypropyleentube bij -80°C kwalitatief in orde voor metingen van PFAS.

Verder dient voldoende aandacht uit te gaan naar de ethische aspecten, zoals het correct informeren van de deelnemer en een strategie voor het communiceren van de resultaten (individueel of collectief). In de FLEHS studies worden deelnemers op een passieve manier geïnformeerd over nieuwe metingen via de website, maar iedere deelnemer heeft uitdrukkelijk het recht om nieuwe persoonlijke resultaten op te vragen. Verder wordt het principe gehanteerd dat klinische metingen met een mogelijke relevante gezondheidsimpact voor de deelnemers om ethische redenen niet retrospectief gemeten kunnen worden. Het is immers vanuit ethisch perspectief niet te verantwoorden om een belangrijke klinische merker (bijv. een tumormerker) jaren later nog te gaan rapporteren.

Een ander aspect dat belangrijk is om vooraf op te nemen in het studie design is de optie om deelnemers opnieuw aan te schrijven, bijv. om belangrijke confounders te bevragen voor nieuwe merkers. Dit vereist toestemming van de deelnemer bij het initiële consent. Hierbij dient wel rekening te worden gehouden met de tijdsfactor. Niet alle vragen kunnen retrospectief beantwoord worden, bijv. antwoorden over leefstijlfactoren van jaren geleden zijn mogelijk niet altijd accuraat. Zo was het bijv. voor de huidige studie relevant om voor de neurologische effecten te kunnen corrigeren voor visconsumptie van de moeders tijdens de zwangerschap, maar dit was niet bevraagd, en is 15 jaar later ook niet meer mogelijk. De vragenlijsten van de verschillende FLEHS-campagnes bevragen wel typische bronnen (bijv. vis in blik indien bisfenol A wordt gemeten), maar meten geen algemeen voedingspatroon.

In de huidige studie was het meten van PFAS in navelstrengbloed slechts mogelijk bij 99 van de 182 deelnemers; voor de overige deelnemers was er onvoldoende volume. We dienen hierbij wel rekening te houden met het feit dat de biobank al 15 jaar oud is, en reeds voor meerdere doeleinden werd aangesproken. Een biobank is dus eindig. Anderzijds is er ook een beperking op de houdbaarheid en de investeringskost.



Beleidsadvies: Biobankstalen zijn een grote meerwaarde, vooral om retrograde bijkomende metingen uit te voeren.

Bij nieuwe studies is het belangrijk om het bewaren van biobankstalen in te plannen. In de FLEHS studies wordt hier reeds veel aandacht aan besteed. Het is essentieel om dit in de toekomst te blijven doen, en mogelijk nog bij te sturen op basis van nieuwe technische kennis of veranderende ethische aspecten.

4.6 REGULERING VAN CHEMISCHE STOFFEN

Voor de historische goedgekeerde pollutanten (o.a. Pb, Cd, PCB's, HCB, DDT, PFOA, PFOS) is er zowel in Vlaanderen als in Europa een wetgevend kader om de aanwezigheid van vervuilende stoffen in de omgeving te verminderen of zelfs uit onze omgeving te verbannen.

Echter, niet alle verontreinigende stoffen zijn gereguleerd. De PFAS verbindingen zijn hier een goed voorbeeld van. PFOS en PFOA zijn opgenomen in lijst van persistente stoffen (Stokholmconventie) en het gebruik ervan wordt gelimiteerd onder de EU POPs Regulation¹³. In de huidige studie werd in tegenstelling tot de gereguleerde PFAS verbindingen PFOA en PFOS een hogere concentratie van PFNA geobserveerd op 14-15 jaar t.o.v. de geboorte. PFNA is een verbinding die nog niet is gereguleerd en dus vrij geproduceerd kan worden. Verschillende landen in Europa hebben momenteel een voorstel uitgewerkt om de productie van verschillende geperfluoreerde carbonzuren (C9-14 PFCA's), waaronder PFNA, te verbieden¹⁴.

Beleidsadvies: Het opvolgen van tijdstrends via humane biomonitoringstudies is een belangrijke tool voor het beleid.

Voor het opvolgen van de effecten van beleidsmaatregelen is het belangrijk om tijdstrends op te volgen. Een dalende trend in de blootstelling bevestigt de efficiëntie en impact van de genomen maatregelen. Een stijgende trend toont aan dat nieuwe of bijkomende maatregelen nodig zijn.

¹³ Regulation (EU) 2019/1021 of the European Parliament and of the Council of 20 June 2019 on Persistent Organic

¹⁴ <https://echa.europa.eu/nl/hot-topics/perfluoroalkyl-chemicals-pfas>

4.7 VERGELIJKING BLOOTSTELLING IN VLAANDEREN MET INTERNATIONALE STUDIES

Omdat de kans groot is dat het studieopzet en de analytische meetmethoden tussen landen verschillen, is het niet evident om blootstellingswaarden met elkaar te vergelijken. De vergelijking en vervolgens interpretatie dient dus met voorzichtigheid te gebeuren:

- Voor cadmium en lood lagen de blootstellingsniveaus bij de Vlaamse jongeren hoger dan bijv. in de Verenigde Staten en Canada.
- De gehalten van PCB's en de meeste organochloorpesticiden (o.a. HCB en DDT) daalden in de tijd.
- Voor PFAS waren de meetwaarden bij de Vlaamse jongeren vergelijkbaar of lager dan deze van buitenlandse studies.

Het Vlaams humaan biomonitoringsprogramma helpt om de blootstelling aan chemische stoffen in Vlaanderen te kaderen ten opzichte van andere landen. Echter, vergelijking van landen onderling is relatief omdat de resultaten sterk beïnvloed worden door de methodologische aspecten zoals doelgroep (leeftijd, gebiedsdekking, enz.), sampling (nuchter of niet, ochtend of spot urine, enz.), analytische aspecten (meetmethode), meetperiode, statistische analyse (welke confounders, welke maten, bijv. 90^e, 95^e, 97,5^e percentiel) en zovele factoren meer. Daarom is harmonisatie tussen landen onderling heel belangrijk. In projecten zoals COPHES, HBM4EU en het toekomstige PARC wordt hieraan hard gewerkt. Vlaanderen speelde/speelt in deze initiatieven een sleutelrol. Het is belangrijk om dit in de toekomst te blijven doen.

Beleidsadvies: Humane biomonitoringstudies zijn een belangrijke tool voor het beleid om Vlaanderen te kaderen ten opzichte van andere landen in Europa en in de wereld.

Om landen onderling te vergelijken is **harmonisatie** heel belangrijk. Het is dus aan te bevelen om vanuit Vlaanderen mee te stappen in Europese en internationale consortia om informatie uit te wisselen en op te bouwen. Vlaanderen kan terugvallen op veel expertise en een lange historiek, en kan dus een sleutelrol opnemen in Europese consortia.