

Marek Sanak

(PRACA DOKTORSKA)

Czasowo-przestrzenna analiza wad wrodzonych u dzieci
w województwie miejskim krakowskim z uwzględnieniem
rozkładu zanieczyszczeń atmosferycznych metalami
ciężkimi

Praca zrealizowana w Zakładzie Genetyki Medycznej
Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii AM

Promotor:

Prof. dr hab. Jacek J. Pietrzyk

Kraków 1993

Bibl. Medyczna CM UJ



1816095378

Mojemu Promotorowi

**prof. dr hab. Jackowi J. Pietrzykowi pragnę podziękować
za cenne rady oraz pomoc okazaną w trakcie pisania tej
pracy.**

mgr inż Jerzemu Wertzowi

Dyrektorowi Wydziału Ochrony Środowiska
Urzędu Wojewódzkiego Miasta Krakowa

oraz

mgr Zdzisławowi Krzyżewskiemu

Kierownikowi Sekcji Sanitarnej Ochrony Powietrza
Atmosferycznego Wojewódzkiej Stacji Sanitarnej-
Epidemiologicznej w Krakowie dziękuję za
udostępnienie wyników pomiarowych
zanieczyszczenia atmosfery.

Spis treści

| | |
|--|----|
| I. Wstęp | 1 |
| 1. Wady cewy nerwowej..... | 2 |
| 2. Rozszczepy twarzowej części czaszki | 4 |
| 3. Wrodzone wady kończyn | 5 |
| 4. Udział czynników środowiskowych w etiologii wad wrodzonych | 6 |
| 5. Monitorowanie opadu atmosferycznego pierwiastków | 8 |
| II. Cel pracy..... | 11 |
| III. Materiał | 13 |
| 1. Rejestracja urodzeń dzieci z wadami wrodzonymi | 13 |
| 1.1 Wielokrotność rejestracji wad wrodzonych | 15 |
| 2. Pomiary zanieczyszczenie środowiska atmosferycznego województwa krakowskiego..... | 16 |
| 2.1 Siatka pomiarowa i sektory badawcze..... | 19 |
| IV. Metody statystyczne..... | 21 |
| 1. Liczba urodzeń dzieci z wadą i prawdopodobieństwa ich rejestracji..... | 21 |
| 2. Udział płci i ryzyko względne wad wrodzonych związane z płcią | 21 |
| 3. Zmienność czasowa częstości wad wrodzonych..... | 22 |
| 3.1. Test sezonowości wad wrodzonych | 22 |

| | |
|---|----|
| 3.2 Badanie zmienności długofalowej częstości wad | 23 |
| 4. Analiza skupisk przestrzennych i przestrzenno-czasowych wad wrodzonych | 24 |
| 5. Zmienność czasowa opadu atmosferycznego metali ciężkich i fluoru | 25 |
| 5.1. Sezonowość opadu atmosferycznego | 25 |
| 5.2. Trzyletnie tendencje czasowe opadu atmosferycznego | 25 |
| 7. Zależności statystyczne między liczbą wad wrodzonych a opadem metali ciężkich i fluoru | 26 |
| 7.1. Ryzyko względne wady związane z klasą zanieczyszczenia pierwiastkiem | 26 |
| 7.2. Analiza korelacyjna między opadem metali ciężkich i fluoru a liczbą wad wrodzonych w sektorach pomiarowych | 28 |
| 7.3. Analiza opadu atmosferycznego dla skupisk przestrzennych i przestrzenno-czasowych wad wrodzonych | 29 |
| V. Wyniki | 30 |
| 1. Rejestracja urodzeń dzieci z wadami wrodzonymi | 30 |
| 2. Częstości wad wrodzonych | 35 |
| 2.1. Udział płci w analizowanych grupach wad | 38 |
| 2.2. Ocena sezonowości wad | 39 |
| 2.3. Tendencje czasowe częstości wad wrodzonych | 41 |
| 3. Analiza skupisk wad wrodzonych | 43 |
| 3.1. Skupiska przestrzenno-czasowe po awarii reaktora w Czarnobylu | 47 |

| | |
|---|----|
| 4. Wyniki pomiarów opadu atmosferycznego metali ciężkich i fluoru | 51 |
| 4.1. Sezonowość opadu metali ciężkich i fluoru | 55 |
| 4.2. Tendencje czasowe opadu atmosferycznego pierwiastków | 58 |
| 5. Struktura demograficzna sektorów badawczych..... | 61 |
| 6. Poszukiwanie zależności statystycznych między liczbą wad wrodzonych a opadem metali ciężkich i fluoru..... | 65 |
| 6.1. Ryzyko względne wad wrodzonych dla dwóch klas opadu pierwiastków..... | 65 |
| 6.2. Próby korelacji między opadem metali ciężkich i fluoru a częstością wad wrodzonych | 69 |
| 6.3. Analiza opadu atmosferycznego dla skupisk przestrzennych i przestrzenno-czasowych wad wrodzonych..... | 72 |
| 6.4. Porównania opadu metali ciężkich i fluoru dla skupisk różnych wad..... | 75 |
| VI. Dyskusja | 81 |
| 1. Epidemiologia wad wrodzonych na terenie województwa krakowskiego | 81 |
| 1.1. Wady cewy nerwowej..... | 81 |
| 1.2. Rozszczepy twarzowej części czaszki..... | 84 |
| 1.3. Wady wrodzone kończyn..... | 86 |
| 2. Zróżnicowanie częstości wad wrodzonych na terenie województwa krakowskiego w latach 1986-1989 | 88 |

| | |
|--|-----|
| 2.1. Potencjał teratogeny pierwiastków uwzględnionych w analizie | 89 |
| 2.2. Wpływ zanieczyszczenia środowiska metalami ciężkimi i fluorem na występowanie wad wrodzonych | 93 |
| 2.3. Występowanie wad wrodzonych w województwie krakowskim po awarii elektrowni atomowej w Czarnobylu | 101 |
| VII. Wnioski | 104 |
| VIII. Podsumowanie | 106 |
| IX. Piśmiennictwo | 110 |

I. Wstęp

Wady wrodzone u dzieci pod względem modelu dziedziczenia dzielą się na choroby monogenowe, zespoły wad spowodowane aberracjami chromosomowymi oraz choroby o wieloczynnikowym modelu dziedziczenia. Osobną grupę wad niedziedzicznych stanowią embrio- i fetopatie o zdefiniowanej przyczynie odpowiedzialnej za efekt teratogeny. Zróżnicowanie geograficzne występowania wad wrodzonych będących chorobami monogenowymi zależy od częstości nosicielstwa zmutowanych alleli w populacji. Na częstość aberracji chromosomowych wpływa przede wszystkim powstawanie nowych mutacji chromosomowych. W sposób pośredni jest to zależne od struktury demograficznej populacji, ponieważ większość mutacji chromosomowych charakteryzuje się dodatnią korelacją między częstością a wiekiem matki. Częstość embrio- i fetopatii jest ściśle uzależniona od epidemiologii stanów i chorób, które wywołują te wady. Hipotetyczny model dziedziczenia określany jako dziedziczenie wieloczynnikowe skupia najczęstsze wady wrodzone u dzieci. Model wieloczynnikowy służy wyjaśnieniu zjawiska częściowej odziedziczalności pewnych wad, która nie jest zgodna z teoretycznymi wartościami ryzyka genetycznego. Wyjaśnienie zwiększonego rodzinnego ryzyka wystąpienia tych wad przy pomocy jednego genu byłoby możliwe przy założeniu, że obecność nieprawidłowego allela prowadzi do wystąpienia fenotypu choroby jedynie u bardzo małego odsetka jego nosicieli (niewielka penetracja), ponadto zakładając jednogenowy model dziedziczenia trudno jest uzasadnić jakościowy charakter obserwowanych cech w postaci obecności lub nieobecności wady. Posłużenie się wielogenowym modelem dziedziczenia natrafia na trudności w wyjaśnieniu zjawiska trendów i wahań sezonowych częstości wad. W założeniu modelu wieloczynnikowego dziedziczenia wariancja fenotypowa jest sumą wariancji genetycznej, reprezentowanej przez zmienność alleliczną i penetrację, oraz zmienności środowiskowej. Interakcja środowiska i dziedziczności może mieć charakter statystyczny, co zakłada istnienie funkcji zmiennych genetycznej i środowiskowej modyfikującej fenotyp. Zmienna środowiskowa może oddziaływać również na poziomie przyczynowym podobnie jak zmienna genetyczna. Na podstawie modeli eksperymentalnych należy sądzić, że efekt poligeniczny wraz z wpływem środowiskowym jest w stanie zmienić rozkład zmiennej fenotypowej w populacji, co jest rejestrowane jako zmiana częstości występowania wady. Większość modeli wieloczynnikowych dziedziczenia zakłada istnienie progów, po przekroczeniu których dochodzi do manifestacji wady. Jeżeli funkcja genetyczno-środowiskowa określana

jako podatność przekroczy wartość krytyczną, manifestuje się to cechą fenotypową w postaci wady wrodzonej. Podatność, jako suma efektów środowiskowych i genetycznych posiada w populacji rozkład normalny. Dla poszczególnych populacji mogą istnieć odmienne wartości krytyczne (progi), których przekroczenie warunkuje wystąpienie wady lub choroby [21]. Częstość wad jest określana funkcją gęstości prawdopodobieństwa rozkładu, licząc od wartości progowej. Modele matematyczne dziedziczenia wieloczynnikowego powstały na bazie eksperymentalnej. W klinice człowieka modele takie dają trafne określenie ryzyka choroby dla schorzeń typu niewydolności wieńcowej czy choroby nadciśnieniowej, w których dostatecznie liczny materiał kliniczny pozwala na ich wypracowanie. Wady wrodzone z wielu przyczyn stanowią trudniejszy materiał do analizy modelowej. Mała częstość niektórych wad nie pozwala na zgromadzenie dostatecznego materiału klinicznego. Wczesna śmiertelność dla innych wad oraz brak wykładników klinicznych i biochemicznych dziedziczności jest również przyczyną skąpej wiedzy o ich etiologii. Najważniejszą przyczyną utrudniającą modelowe ujęcie dziedziczenia wad jest retrospektywny charakter prowadzonych badań jak również trudny do precyzyjnego oszacowania efekt selekcji naturalnej we wczesnych okresach ontogenezy. Próby analizy wad wrodzonych metodą prospektywną natrafiają na zasadniczą barierę w postaci ingerencji w badaną populację przez sam fakt rejestracji przyszłych matek, który to uświadamia im wagę problemu i często skłania do poszukiwań korzystnych warunków dla planowanej prokreacji. Dla większości wad wrodzonych porzeczaje się zatem na empirycznych modelach dziedziczenia, posługując się wartościami ryzyka oszacowanymi dla danej populacji.

Poniżej została przedstawiona zwięzła charakterystyka trzech klas wad wrodzonych, których rejestracja posłużyła przeprowadzeniu niniejszej pracy.

1. Wady cewy nerwowej

Ośrodkowy układ nerwowy człowieka rozwija się z zarodkowej laminarnej struktury neuroepidermalnej zwanej pierwotną płytką nerwową, która ulega sfałdowaniu w cewę nerwową. Powstała w wyniku neurulizacji jednowarstwowa cewa nerwowa w czasie dalszego rozwoju poprzez podział i migrację komórek tworzy w części głowowej zarodka mózgowie, w części ogonowej rdzeń kręgowy. Prawidłowe zamknięcie cewy nerwowej jest konieczne dla poprawnej indukcji struktur mezenchymalnych tworzących powłoki ośrodkowego układu nerwowego w postaci opon i łuków kręgowych. Wady cewy

nerwowej powstają pod koniec 4 tygodnia życia płodowego w wyniku niepełnego zamykania się pierwotnej cewy nerwowej. Obraz kliniczny wad cewy nerwowej jest zależny od anatomicznej lokalizacji zaburzenia neurulizacji. Zaburzenie rozwoju części kranialnej płytki nerwowej powoduje bezmózgowie (cranium bifidum totalis), wadę, w której prymitywnej budowie tkanki nerwowej nieukształtowanego mózgowia towarzyszy rozszczep lub całkowity brak powłok mózgowcowej. Zaburzenia migracji komórek nerwowych zlokalizowane bardziej w kierunku kaudalnym prowadzą do powstania przepuklin mózgowych (encephalocoele - cranium bifidum partialis) oraz rozszczepów kręgosłupa (myelocoele - spina bifida). Embriologiczny podział wad cewy nerwowej wyróżnia zaburzenia neurulacji i zaburzenia kanalizacji pierwotnej cewy nerwowej. Klinicznie podział ten odpowiada bezmózgowiu oraz przepuklinom mózgowym i rdzeniowym. Bezmózgowie jest wadą powodującą niezdolność do życia pozałonowego. Rozszczepy kręgosłupa oraz przepukliny mózgowie w większości przypadków kojarzą się z zaburzeniami budowy anatomicznej podstawy czaszki (objaw Arnold-Chiari) oraz z zaburzeniami krążenia płynu mózgowo-rdzeniowego, w 80% przypadków prowadzącymi do rozwoju wodogłowia. Następstwa rozszczepu kręgosłupa są zależne od anatomicznej lokalizacji wady i sprowadzają się do różnego stopnia porażenia kończyn, nietrzymania moczu i stolca, braku czucia oraz wtórnych deformacji kończyn. Zaburzenie budowy łuków kręgowych noszące nazwę tarni dwudzielnej (spina bifida occulta) w większości przypadków nie należy do zespołu wad cewy nerwowej, aczkolwiek w 2% przypadków stwierdzenie obecności znamienia skórniego na poziomie nieprawidłowych łuków kręgowych, a także poszerzenia kanału kręgowego skłania do traktowania tej anomalii jako postaci poronnej wady cewy nerwowej.

Częstość wad cewy nerwowej wykazuje dużą zmienność geograficzną. Największa częstość jest rejestrowana w Irlandii (8:1000), najmniejszą stwierdza się u rasy czarnej (0,2:1000). Podwyższone wartości względnego ryzyka ponownego urodzenia dziecka z wadą w rodzinach obciążonych wadą cewy nerwowej skłaniają do przyjęcia udziału zmiennej dziedzicznej w etiologii tej wady. Badania epidemiologiczne ujawniają trend czasowy w postaci powolnego spadku częstości wad cewy nerwowej, co jest szczególnie wydatne w grupach społecznych o niższym standardzie socjalnym, a także stopniowe zmniejszanie ryzyka względnego wystąpienia wady w populacji wiejskiej w stosunku do miejskiej. Należy sądzić, że zmiany te świadczą o modyfikacji czynnika środowiskowego współdziałającego w rozwoju wady. Pomimo tych powolnych zmian nadal obserwuje się sezonowość wad cewy nerwowej przejawiającą się zwyżką liczby wad w ciążach poczętych w miesiącach wiosennych.

Przedstawiona charakterystyka epidemiologiczna wad cewy nerwowej skłania do przyjęcia modelu wieloczynnikowego jako najlepiej opisującego ich dziedziczenie. Modele matematyczne zakładające mendelowski charakter dziedziczenia wad cewy nerwowej przemawiają przeciwko istnieniu jednego genu odpowiedzialnego za powstawanie wady. Brak markerów genetycznych pośrednio sugeruje bardziej złożony mechanizm dziedziczenia wady cewy nerwowej.

2. Rozszczepy twarzowej części czaszki

Podczas rozwoju ontogenetycznego człowieka powstawanie struktur anatomicznych twarzoczaszki trwa do końca 3 miesiąca życia płodowego. Pierwotne struktury noszące nazwę łuków skrzelowych poprzez zawiązki mezodermalne tworzące guzki policzkowe i szczękowe oraz fałdy podniebienne płodu formują podniebienie pierwotne i wtórne. Zahamowanie migracji komórek tworzących te zawiązki prowadzi do przetrwania anatomicznych stanów płodowych, co klinicznie opisywane jest jako rozszczep wargi, wyrostka zębodołowego, podniebienia kostnego i podniebienia miękkiego. Podział embriologiczny rozszczepów twarzoczaszki wyróżnia rozszczepy podniebienia pierwotnego (wargi, wyrostka zębodołowego i podniebienia do otworu przysiecznego) oraz rozszczepy podniebienia wtórnego (kostnego, począwszy od otworu przysiecznego, podniebienia miękkiego i języczka). Analiza kliniczna oraz genetyczna sugeruje podział na dwie grupy wad: rozszczepy wargi z lub bez rozszczepu podniebienia oraz izolowane rozszczepy podniebienia. Rozszczepy wargi i podniebienia występują sporadycznie, jako jedyne wady u dzieci (izolowane) w 74% przypadków. W 25% izolowane rozszczepy twarzowej części czaszki występują rodzinnie. Rozszczep podniebienia obserwowany jest jako wada izolowana sporadyczna w 80% przypadków, w 12% występuje natomiast rodzinnie. Obie postaci rozszczepów mogą występować łącznie z innymi wadami wrodzonymi jako zespoły wad co stwierdza się w 1% przypadków rozszczepów wargi i podniebienia oraz w 8% przypadków rozszczepów podniebienia. Odmienny rozkład płci u dzieci dotkniętych rozszczepami twarzowej części czaszki sugeruje udział czynników genetycznych w powstawaniu tej wady. W makroregionie Polski południowej mniejsze, w porównaniu do danych innych autorów, wskaźniki odziedziczalności wad tej grupy skłaniają do przyjęcia większego niż w innych populacjach wpływu środowiska na ich zmienność fenotypową [67].

3. Wrodzone wady kończyn

Wrodzone wady kończyn obejmują szereg zaburzeń rozwoju embriologicznego kończyn związanych z nieprawidłową indukcją zawiązków kończyn (amelie, fokomelie) oraz zaburzeniami różnicowania części dystalnych kończyn w postaci polidaktylii, oligodaktylii i palczostów. Do grupy tej zalicza się również wrodzone zaburzenia budowy układu kostno-stawowego, które manifestują się jako wrodzone dysplazje i deformacje stawowe, szczególnie w zakresie kończyn dolnych. Najczęstszymi spośród tych wad są wrodzone zwichnięcie stawów biodrowych oraz deformacje stóp w postaci szpotawości lub koślawości stawów skokowych. Częstości tych wad wykazują zmienność geograficzną. Dla rasy białej częstość wrodzonych zwichnięć stawów biodrowych wynosi 0,6:1000 i charakteryzuje się sezonowością, ze wyższą wad u dzieci urodzonych w zimie. W tej grupie deformacji stawowych szczególnie dobrze widoczny jest efekt modyfikacji fenotypu pod wpływem prawidłowej opieki i pielęgnacji dziecka, nie ma on jednak wpływu na częstość wad badanych w populacji noworodkowej. Obserwuje się podobny rozkład ryzyka względnego powtórzenia się omawianej wady; zależnego od stopnia pokrewieństwa z probantem, jak dla wad cewy nerwowej i rozszczepów twarzoczaszki. W tabeli 1 przedstawione zostało zestawienie ryzyka empirycznego urodzenia się dziecka z wadą wrodzoną należącą do omawianych grup, zależnego od stopnia pokrewieństwa z probantem. Wartości ryzyka zaczerpnięto z podręcznika genetyki [8].

Tabela 1. Ryzyko względne powtórzenia się wady u członków rodziny probanta

| Rodzaj wady | Rozszczepy twarzoczaszki | Wady kończyn (stóp) | Wady cewy nerwowej |
|------------------|--------------------------|---------------------|--------------------|
| Częstość | 1 : 1000 | 1,2 : 1000 | 1,4 : 1000 |
| | Względne ryzyko | | |
| 1' pokrewieństwa | 40 | 30 | 15 |
| 2' pokrewieństwa | 7 | 5 | - |
| 3' pokrewieństwa | 3 | 2 | 2 |

Ryzyko empiryczne charakterystyczne dla każdej z wymienionych wad określa częstość występowania wady u noworodków. Dane dotyczące letalności wad wrodzonych

w okresie płodowym do niedawna były znane jedynie dla grupy zaburzeń chromosomowych. Dokonując badań kariotypowych tkanek jaja płodowego stwierdzono, że częstość tych wad obserwowana u płodów do 3 miesiąca ciąży jest co najmniej o rząd wielkości większa niż u noworodków. Różnica ta znajduje wytłumaczenie w zjawisku letalności tych wad w okresie wczesnego życia płodowego, nazywanym teratotanazją [111]. Badania dotyczące częstości wad niechromosomowych, w tym również wad będących przedmiotem pracy, wskazują na podobnie dużą śmiertelność płodów obarczonych tymi wadami we wczesnym okresie ciąży [100, 101]. W grupie zarodków dotkniętych wadą cewy nerwowej częstość poronień w pierwszym trymestrze ciąży jest szacowana na 98,4%. Wśród zarodków z rozszczepem twarzowej części czaszki na 95,7%, a z wadami kończyn na 94,7%. W badaniu histologicznym zarodków ludzkich poronionych samoistnie częstość wad cewy nerwowej sięgała 6,7% [74]. Przypadki tych wad nie są uwzględniane w opracowaniach epidemiologicznych z racji niewykonywania rutynowych badań fetopatologicznych jaja płodowego w poronieniach samoistnych. Można zatem przyjąć, że częstości wad wrodzonych szacowane na podstawie urodzeń są wypadkową procesu teratogenezy, odpowiedzialnego za powstanie wady, oraz efektywności selekcji naturalnej. Mechanizm teratotanazji nie jest znany, należy zatem sądzić, że wnioskowanie statystyczne oparte na rejestrowalnej częstości wad wrodzonych może opisywać proces teratogenezy pod warunkiem braku wariacji teratotanazji. Dla wybranych wad co dwudziesty przypadek jest rejestrowany, ponieważ płód przeżywa pierwsze dwa trymestry ciąży. Stwierdzenie, że częstość tych wad w dużej mierze wynikać może z modyfikowania zjawiska teratotanazji pod wpływem środowiska wydaje się być uzasadnione.

4. Udział czynników środowiskowych w etiologii wad wrodzonych

Udział środowiska w etiologii wad wrodzonych został poznany na podstawie badań nad czynnikami teratogennymi [5]. Nazwą teratogeny określa się substancje chemiczne, czynniki biologiczne oraz fizyczne, które w wyniku oddziaływania na rozwój zarodka wywołują wady wrodzone. Wśród teratogenów chemicznych człowieka najlepiej zostały poznane związki chemiczne jak alkohol etylowy, metaloorganiczne związki rtęci, a także leki jak talidomid, cytostatyki, estrogeny, które wywołują typowe zespoły wad. Szereg zakażeń wirusami różyczki, herpes czy też cytomegalii, a także zarodźcowych jak toksoplazmoza wywołuje typowe zespoły wad wrodzonych. Promieniowanie jonizujące również może być przyczyną wad wrodzonych, zarówno na skutek oddziaływania mutagennego jak i embriotoksycznego. Teratogeny środowiskowe powodują wady u płodu poprzez zmiany wzrostu tkanek, zaburzenia w procesie różnicowania lub spowodowanie obumarcia grup

komórek. Wśród czynników, które są odpowiedzialne za dużą zmienność fenotypową wywołaną działaniem teratogenu należy wymienić wrażliwość indywidualną, czas ekspozycji oraz dawkę teratogenu, a także jego oddziaływanie z innymi czynnikami środowiskowymi. Najlepiej poznane teratogeny wywołują charakterystyczne wzorce wad. Od czynników, które nie wywołują łatwo rozpoznawalnego zespołu wad wrodzonych oczekuje się, że populacja, która jest narażona na te czynniki wykaże zwiększoną częstość wad, niemniej precyzyjne zdefiniowanie zmienności fenotypowej pod wpływem takich teratogenów jest trudne i często możliwe jedynie pod postacią testowania hipotez statystycznych [15].

Wśród substancji chemicznych, które wykazują działanie teratogenne należy wymienić metale ciężkie. Rtęć jest jedynym metalem ciężkim, którego działanie teratogenne zostało udokumentowane u człowieka na podstawie obserwacji embriotoksyczności związków rtęci zawartych w pożywieniu matki [68]. Bogata bibliografia dotycząca eksperymentalnego oddziaływania embriotoksycznego na modelach zwierzęcych [118] dokumentuje potencjał teratogeny wielu metali ciężkich. Wady wrodzone u zarodków zwierzęcych były obserwowane w następstwie podaży enteralnej i parenteralnej takich metali jak kadm, chrom, miedź, nikiel i ołów. Dawki metali wywołujące wady wrodzone płodu, w przeliczeniu na masę ciała ciężarnej samicy mieściły się w granicach 2 - 30 mg/kg na dobę, przekraczały zatem o kilka rzędów wielkości normalną podaż tych pierwiastków w diecie. Dobowe zapotrzebowanie człowieka na metale ciężkie zostało oszacowane jedynie dla tych pierwiastków, które są uznane za pierwiastki śladowe. Biologiczne znaczenie pierwiastków śladowych polega najczęściej na ich udziale w przemianach metabolicznych organizmu w charakterze składników aktywnych ośrodków enzymów. Żelazo, którego zapotrzebowanie dzienne wynosi 10 - 20 mg bierze udział w transporcie tlenu, stanowiąc aktywny składnik oksydoreduktaz. Dzienna podaż cynku powinna wynosić 15 - 20 mg, metal ten jest niezbędny dla metabolizmu kwasów nukleinowych, białek i hormonów, będąc aktywnym składnikiem transferaz, hydroksylaz, liaz, ligaz i izomeraz. Zapotrzebowanie dobowe na miedź wynosi 2 - 6 mg. Pierwiastek ten jest niezbędny dla syntezy hemoglobiny i metabolizmu tkanki łącznej, wchodząc w skład oksydoreduktaz. Nikiel, którego zapotrzebowanie nie jest znane, wchodzi w skład oksydoreduktaz i hydrolaz oraz przypuszczalnie stabilizuje strukturę DNA. Chrom niezbędny w ilości 0,005 - 0,2 mg na dobę uczestniczy w metabolizmie glukozy wiążąc insulinę z receptorami komórek. Należy podkreślić, że stany chorobowe mogą być związane z niedoborem, nadmiarem lub zaburzeniem równowagi pomiędzy pierwiastkami śladowymi, do których zalicza się również kobalt, mangan, molibden, selen, jod, fluor oraz krzem [102]. Pierwiastki takie jak ołów, kadm, rtęć, arsen czy tal

znane są jedynie z efektów toksycznych, powodowanych najczęściej przez inaktywację enzymów. Zapotrzebowanie ani działanie fizjologiczne tych pierwiastków nie jest znane. O ile toksykologia ostrych zatruc wymienionymi pierwiastkami jest dobrze znana, a dla niektórych z nich również przewlekłe zatrucia są zdefiniowane jako odrębne jednostki chorobowe, to epidemiologia chorób związanych z nadmiarem pierwiastków śladowych jest znana jedynie dla żelaza, ołowiu, kadmu, jodu i fluoru. System obrony organizmu przed nadmiarem metali ciężkich oparty jest na możliwości ich wydalania, głównie z moczem, oraz lokalnej inaktywacji w tkankach. Dla ołowiu buforem o dużej pojemności jest kośćiec, w którym odkładają się jego nierozpuszczalne sole. Żelazo deponowane jest w postaci nierozpuszczalnych złogów hemosyderyny. Dla wielu metali ciężkich odpowiednikiem hemosyderyny są metalotioneiny, białka o niskiej masie cząsteczkowej (6-7 kD), prawie nie zawierające aminokwasów aromatycznych, natomiast bogate w cysteinę. Aminokwas ten tworzy trwałe, nierozpuszczalne połączenia z wieloma metalami umożliwiając ich odkładanie głównie w wątrobie i nerkach. Ekspozycja środowiskowa na kilka metali może dawać odmienne efekty biologiczne ze względu na interakcje na etapie ich wchłaniania oraz syntezy metalotioneiny. Przykładowo wapń i magnez zmniejszają wchłanianie jelitowe wielu metali ciężkich. Duża podaż cynku, stosunkowo łatwo wydalanego z moczem, indukuje syntezę metalotionein zwiększając w ten sposób ich działanie ochronne. Na modelach zwierzęcych udokumentowano ochronne działanie cynku w przypadku zwiększonej ekspozycji na kadm. Efekt toksyczny kadmu występował jedynie w grupie zwierząt otrzymujących dietę niedoborową w cynk, co było związane ze zmniejszoną syntezą metalotionein [94].

5. Monitorowanie opadu atmosferycznego pierwiastków

Zanieczyszczenia atmosfery mają swoje źródło w naturalnych zjawiskach przyrody jak i w działalności człowieka. Naturalna emisja pierwiastków śladowych do atmosfery stanowi około 46% emisji globalnej i jest spowodowana erozją gleby, aktywnością wulkaniczną, tworzeniem się arezoli morskich oraz pożarami. Spośród źródeł antropogennych emisji pierwiastków śladowych do atmosfery największy udział ma spalanie węgla, metalurgia, cementownie i rolnictwo. Należy dodać, że przemiana gazów do cząsteczek w wyniku reakcji chemicznych zachodzących w atmosferze istotnie zwiększa udział zanieczyszczeń antropogennych. Porównania ilości emitowanych do atmosfery metali ciężkich dla różnych gałęzi przemysłu wskazują na największe ilości tych metali

zawarte w popiołach cementowni i hut, ale także na ich dużą ilość uwalnianą do atmosfery przy spalaniu odpadów komunalnych.

Zestawienia wyników pomiaru zawartości metali ciężkich w powietrzu wskazują na znaczne zróżnicowanie między terenami wiejskimi a uprzemysłowionymi. Zawartość kadmu, cynku, żelaza, niklu i chromu w środowisku miejskim jest od 3 do 20 razy wyższa niż w środowisku wiejskim. Dla ołowiu różnice te sięgają 200 krotnie wyższej koncentracji tego pierwiastka w powietrzu miejskim. Porównując "odległe" tereny o nieskażonym środowisku gdzie stwierdza się zawartość metali ciężkich w powietrzu rzędu pikogramów/m³ z regionami przemysłowymi stwierdzono, że w tych ostatnich koncentracja jest większa blisko 4000 razy [82].

Charakterystyczną cechą zanieczyszczenia powietrza miejskiego metalami ciężkimi jest względnie stała wielkość cząsteczek, spowodowana sedymentacją drobin o średnicy powyżej 0,25 μm [105]. Mniejsze cząsteczki są utrzymywane w areozolu dzięki ruchom Browna. W sprzyjających warunkach meteorologicznych (mgły) dochodzi do kondensacji zanieczyszczeń w cząsteczkach wody. Zjawisko koncentracji zanieczyszczeń w aerozolu dla wszystkich metali ciężkich powoduje co najmniej dziesięciokrotny wzrost ich stężenia. W przypadku kadmu i ołowiu ich zawartość w powietrzu może wzrosnąć nawet kilka tysięcy razy [82].

Tradycyjny sposób oszacowania zanieczyszczenia atmosfery polega na pomiarze opadu pyłu. Ścisłe określenie frakcji emitowanych zanieczyszczeń, które stają się opadem jest trudne, ponieważ opad pyłu jest nie tylko wynikiem procesu sedymentacji, lecz także kondensacji i adsorpcji podczas opadów atmosferycznych. Można jednak założyć istnienie ścisłego związku pomiędzy stężeniem pyłu i zawartych w nim metali ciężkich w powietrzu a opadem tych substancji, który odzwierciedla wartość skumulowaną stężenia. W normach dopuszczalnego zanieczyszczenia powietrza opad lub stężenie pyłu jest określone bardzo ogólnie a metale ciężkie są ujęte cząstkowo [78]. Warto podkreślić, że najczęściej stosowane wskaźniki zanieczyszczenia atmosfery oparte są jedynie na pomiarach zawartości gazów (CO, SO₂ i NO₂) i ewentualnie substancji smołowych [109].

Ilość pyłu zawartego w powietrzu wynosi zazwyczaj 0,1 - 0,2 mg/m³, rzadko przekraczając wartość 0,5 mg/m³. Wartości maksymalne opadu pyłu wynoszą odpowiednio dla terenów wiejskich i zurbanizowanych 0,65 i 1,3 g/m² na dzień w skali miesięcznej lub 0,42 - 0,85 g/m² na dzień w skali rocznej [65]. Wahania sezonowe opadu pyłu atmosferycznego, występowanie nasilonego opadu podczas bezwietrznej pogody,

niezależność od kierunków wiatrów; to cechy charakteryzujące zanieczyszczenie atmosferyczne środowiska miejskiego [26], pomimo poznania których nie zostały dotychczas opracowane zadowalające modele matematyczne opisujące rozkład zanieczyszczeń w atmosferze miast. Jest wiadome z obserwacji, że akceptowalny dla mieszkańców pułap opadu pyłów wynosi około $0,13 \text{ g/m}^2$ na dzień [18]. Opad pyłu w większości dużych miast przekracza tę wartość, w Paryżu notowano opad pyłu co najmniej dwukrotnie większy od tej wartości w 60% obszaru miasta [89]. Średni dzienny opad pyłu na terenie województwa krakowskiego w ciągu 13 kwartałów pomiarowych wynosił $0,336 \text{ g/m}^2$ na dzień, co jest wartością większą od rejestrowanej w 1958 roku ($0,310 \text{ g/m}^2$ na dzień) oraz w 1970 roku ($0,271 \text{ g/m}^2$ na dzień) na terenie Paryża. Na podstawie kwartalnych pomiarów stwierdzono kilkakrotnie przekroczenia wartości maksymalnych opadu pyłu w rejonie Nowej Huty, sięgające $3,3 \text{ g/m}^2$ na dzień. Podobna wielkość opadu jest podawana w źródłach francuskich [89] jako maksymalna wartość dzienna opadu zarejestrowana na terenie kraju (Havr, 1971, $3,23 \text{ g/m}^2$).

Skład chemiczny osadzanego pyłu zależy od źródeł emisji. Zawiera on ciała organiczne, w tym substancje smołowe (1,6%) oraz cząsteczki węgla i pyłki roślinne (10,2%). Wśród związków chemicznych zawartych w pyłe najliczniej reprezentowane są sole w postaci siarczanów i chlorków (37,7% i 15,7%) z wapniem jako głównym kationem (8,7%). Inne połączenia chemiczne metali, wliczając w to związki metali ciężkich stanowią około $\frac{1}{4}$ ilości osadzanego pyłu.

II. Cel pracy

Roczna emisja pyłów i gazów na obszarze województwa miejskiego krakowskiego sięga 200 ton na kilometr kwadratowy, co pod względem emisji zanieczyszczeń atmosferycznych stawia krakowskie na drugim miejscu po katowickim. Poczucie zagrożenia ekologicznego, bardzo silne w Krakowie [28] znajduje wyraz w poszukiwaniu jego niekorzystnych skutków biologicznych. Wśród nich baczna uwaga skierowana jest na wady wrodzone u dzieci, wiodącą przyczynę zgonów niemowlęcych. Ze względu na nieznaną etiologię najczęstszych wad wrodzonych, których wieloczynnikowy model dziedziczenia zakłada istotny wpływ zmiennej środowiskowej na częstość ich występowania, województwo miejskie krakowskie stanowiło szczególnie interesujący obiekt badań. Prowadzona rejestracja wad wrodzonych u dzieci oraz dostęp do danych pomiarowych opadu zanieczyszczeń atmosferycznych pozwoliły na dokonanie porównań oraz weryfikację szeregu hipotez epidemiologicznych.

Jako cel pracy przyjęto:

- określenie częstości występowania wad wrodzonych u dzieci na obszarze badanym oraz zestawienie ich z innymi dostępnymi danymi epidemiologicznymi,
- zbadanie zmienności czasowej częstości analizowanych wad,
- poszukiwanie zróżnicowania terenowego (geograficznego) badanego obszaru pod względem częstości wad wrodzonych,
- analizę związków statystycznych pomiędzy częstościami wad wrodzonych a poziomem zanieczyszczenia atmosferycznego.

Podstawowe hipotezy statystyczne, których weryfikację podjęto w ramach celu pracy zakładały:

- brak różnic pomiędzy teoretycznym rozkładem przestrzennym częstości analizowanych wad, określonym na podstawie gęstości zaludnienia, a rozkładem empirycznym,
- nie występowanie skupisk przestrzennych i przestrzenno-czasowych wad wrodzonych na analizowanym obszarze, które mogłyby reprezentować hipotetyczne ogniska epidemiologiczne,
- brak różnic w zanieczyszczeniu metalami ciężkimi środowiska, które zamieszkiwały rodziny dzieci z analizowanymi grupami wad,
- brak związków statystycznych między opadem atmosferycznym metali ciężkich a częstością analizowanych wad,
- dodatkowa hipoteza badawcza zakładała brak różnic w częstościach wad wrodzonych w okresie bezpośrednio przed oraz po awarii reaktora atomowego w Czarnobylu.

III. Materiał

1. Rejestracja urodzeń dzieci z wadami wrodzonymi

Podstawą pracy była rejestracja urodzeń dzieci z wadami wrodzonymi należącymi do grupy wad cewy nerwowej, rozszczepów twarzowej części czaszki oraz wad kończyn. Założono, że rejestracja będzie dotyczyć jedynie tych urodzeń, w których wymienione defekty wystąpiły jako wady odosobnione, co oznacza, że nie współistniały z wadami wrodzonymi innych narządów w formie zespołów wad mnogich, ani też nie należały do znanych zespołów dysmorficznych. Ze względu na rodzaj dokumentacji medycznej służącej za źródło rejestracji jako podstawę określenia liczby porodów przyjęto kryterium urodzeniowego ciężaru noworodka powyżej 600g. W grupie wad cewy nerwowej deformacje kończyn były traktowane jako następstwo zaburzeń unerwienia i nie stanowiły podstawy do wyłączenia tych przypadków z analizowanej grupy. Letalność ciężkich postaci wad cewy nerwowej została uwzględniona poprzez rejestrację urodzeń martwych płodów z anencefalią. W tych przypadkach nie stosowano kryterium ciężaru ciała, ponieważ płody z anencefalią często nie osiągają 600g. Do tej grupy zaliczono również przypadki przerwania ciąży w następstwie prenatalnego rozpoznania wady cewy nerwowej u płodu. Do grupy wad wrodzonych kończyn zostały wliczone przypadki wrodzonej dysplazji stawów biodrowych oraz wrodzone deformacje stawów skokowych. Jako kryterium kwalifikacji pozwalające odróżnić przypadki płodowych przykurczów stawowych od przejawiających się zmianami anatomicznymi dysplazji przyjęto arbitralnie obecność zmian stawowych na zdjęciach RTG. W nielicznych przypadkach, w których w dokumentacji pacjenta brak było opisu badania radiologicznego jako potwierdzenie wady przyjęto fakt dłuższego niż 6 tygodni leczenia ortopedycznego poduszką Frejki dysplazji stawów biodrowych oraz opatrunków redresyjnych w przypadku deformacji stóp. Rejonizacja leczenia rozszczepów twarzowej części czaszki spowodowała, że dzieci z tego typu wadami były prowadzone w Poradni Wad Rozwojowych Twarzy i Jamy Ustnej oraz Poradni Genetycznej Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii. Klasyfikacja przeważającej większości przypadków tych wad została dokonana zatem na podstawie badania pacjentów.

Rejestrację wad wrodzonych przeprowadzono w populacji dzieci urodzonych w okresie od 1 stycznia 1986r do 31 grudnia 1989 na terenie województwa miejskiego

krakowskiego. Zastosowano wielokrotny sposób selekcji wykorzystując następujące źródła informacji.

1. Ankiety zgłoszeń urodzenia noworodka z wadą wrodzoną nadsyłane z Oddziałów Noworodkowych szpitali województwa miejskiego krakowskiego:

Instytutu Ginekologii i Położnictwa Akademii Medycznej w Krakowie

Specjalistycznego Szpitala Dziecięcego IMiD w Krakowie

Specjalistycznego ZOZ Szpitala im. G. Narutowicza

Specjalistycznego ZOZ Szpitala im. S. Żeromskiego

Zarządu Zdrowia i Spraw Socjalnych Policji

ZOZ Szpitala w Myślenicach

ZOZ Szpitala w Proszowicach

2. Rejestr ambulatoryjny pacjentów Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii AM w Krakowie, obejmujący wszystkie dzieci zgłaszające się do poradni pediatrycznej, chirurgicznej a także do poradni specjalistycznych

3. Dokumentacja szpitalna oddziałów klinicznych Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii dotycząca pacjentów hospitalizowanych

4. Dokumentacja Zakładu Patomorfologii Instytutu dotycząca pacjentów zmarłych w Instytucie

5. Dokumentacja Zakładu Genetyki Medycznej Instytutu Pediatrii dotycząca pacjentów skierowanych do Poradni Genetycznej z rozpoznaniem wad wrodzonych, a także porad prenatalnych udzielonych w przypadku ciąż o zwiększonym ryzyku genetycznym wad wrodzonych

6. Księgi urodzeń Szpitali wymienionych w p.1, posiadających oddziały położnicze.

Charakter dokumentacji źródłowej określił rodzaj informacji, które zostały zgromadzone w komputerowej bazie danych. Każdy przypadek dziecka z wadą wrodzoną zawierał dokładną informację dotyczącą płci, daty urodzenia, charakterystyki wady, jej

opisu oraz kodu według międzynarodowej klasyfikacji chorób. Uwzględniono możliwość przypisania każdemu przypadkowi dowolnej liczby kodów - rozpoznań wad towarzyszących. Dane obejmowały również informację o miejscu zamieszkania matki dziecka, kolejności ciąży a także o źródle zgłoszenia przypadku. Odnotowano fakt wielokrotnego zgłoszenia wady z kilku niezależnych źródeł rejestracji. W przypadku urodzeń martwych płodów lub zgonów u noworodków odnotowano odpisy badania sekcyjnego. Rejestr komputerowy pozwolił na wielokrotne aktualizowanie danych w miarę gromadzenia informacji, a także na kontrolę i usuwanie przypadków podwójnych zgłoszeń, gdy zmienione lub zniekształcone zostało nazwisko pacjenta. Rejestr wad wrodzonych był prowadzony na bieżąco na podstawie zgłoszeń - ankiet. Dokumentację Instytutu Pediatrii, która posiada unikatowe dla każdego pacjenta numery identyfikacyjne, oraz jest prowadzona w porządku chronologicznym, przeanalizowano z opóźnieniem 2 letnim w stosunku do daty urodzenia pacjenta. Księgi urodzeń szpitali zostały przejrane jednokrotnie.

Miesięczny rozkład liczby porodów został ustalony na podstawie danych pochodzących z dokumentacji wszystkich szpitali w których znajdowały się Oddziały Noworodkowe. Zostały w nim uwzględnione urodzenia noworodków oraz płodów martwych o ciężarze ciała powyżej 600g, a także wliczono wszystkie przypadki płodów z anencefalią pomimo mniejszego ciężaru ciała. Wykorzystane źródła informacji uwzględniały również porody mające miejsce w domu, stacjach Pogotowia Ratunkowego i nielicznych Izbach Porodowych z racji przyjmowania lub rejestracji tych noworodków w rejonowych oddziałach Położniczo-Noworodkowych.

1.1 Wielokrotność rejestracji wad wrodzonych

Podstawowym problemem w analizie statystycznej wad wrodzonych jest oszacowanie liczby przypadków w kohorcie. Zastosowanie bezpośredniej metody zliczenia jest niewykonalne ze względu na konieczność przebadania wszystkich urodzonych w analizowanym okresie dzieci. Pomimo weryfikacji dokumentacji szpitalnej oddziałów noworodkowych część przypadków nie jest rejestrowana na skutek nierozpoznania wady wrodzonej w okresie noworodkowym. Osobną grupę stanowią przypadki urodzeń płodów martwych, kiedy nie zawsze wykonywane jest badanie anatomopatologiczne płodu (fetopsja).

W przypadku badań rodzinnych mających na celu weryfikację hipotez genetycznych określających model dziedziczenia wady wrodzonej prawdopodobieństwo rejestracji probanta może zostać oszacowane na podstawie rejestracji kilku chorych osób w rodzinie (multiplex) w odniesieniu do rodzin, w których stwierdzono jeden przypadek wady (simplex) [79]. Badania rodzinne nie mają zastosowania w analizie epidemiologicznej prowadzonej metodą obserwacji populacji zamkniętej ze względu na szeroki profil czasowy, a nawet wielopokoleniowość takich rodzin, co nadmiernie przedłużyłoby niezbędny okres obserwacji.

Źródłami informacji o dzieciach z wadami wrodzonymi, które wykorzystano w niniejszej pracy były różnorodne rejestry i zgłoszenia, zawierające niekiedy dane dotyczące tych samych chorych. Plan badań z wykorzystaniem list administracyjnych pochodzących z różnych źródeł i w założeniach będących niekompletnymi nosi nazwę badań ramowych wielokrotnych (multiply frame survey). Metoda ta była wykorzystywana wielokrotnie do oszacowania częstości występowania wad wrodzonych [9, 50]. W tabeli 2 zamieszczono dane liczbowe dotyczące rejestracji wad według źródeł, oraz wielokrotności zgłoszeń.

Tabela 2. Źródła rejestracji wad wrodzonych oraz wielokrotność zgłoszeń

| Rodzaj wady | O. Noworodkowe (w nawiasie weryfikacja) | Instytut Pediatrii | Poradnia Genetyczna | O.N i I.P. | O.N. i P.G. | I.P. i P.G. | O.N. i I.P. i P.G. | Łączna liczba przypadków |
|--------------------------|---|--------------------|---------------------|------------|-------------|-------------|--------------------|--------------------------|
| Wady cewy nerwowej | 58 (4) | 38 | 12 | 21 | 6 | 2 | 5 | 87 |
| Rozszczepy twarzoczaszki | 42 (0) | 67 | 10 | 28 | 5 | 5 | 4 | 92 |
| Wady kończyn | 281 (140) | 491 | 10 | 39 | 3 | 5 | 3 | 736 |

2. Pomiary zanieczyszczenie środowiska atmosferycznego województwa krakowskiego

Do oceny zanieczyszczenia środowiska atmosferycznego wykorzystano dane pochodzące z monitoringu ekologicznego prowadzonego przez Wojewódzką Stację Sanitarno-Epidemiologiczną w Krakowie na zlecenie Wydziału Ochrony Środowiska Urzędu

Wojewódzkiego Miasta Krakowa. Uzyskano formalną zgodę Dyrektora Wydziału Ochrony Środowiska na wykorzystanie wyników pomiarów. Badania zanieczyszczenia atmosferycznego metalami ciężkimi były realizowane metodą sedymentacyjną. W 53 punktach pomiarowych obejmujących 70% obszaru województwa miejskiego krakowskiego próbki opadu atmosferycznego były gromadzone w pojemnikach osadowych. Konstrukcja i umocowanie pojemników zapewniały osad pyłu atmosferycznego pochodzącego z emisji pierwotnej, zabezpieczając tym samym przed gromadzeniem się pyłu dostającego się do atmosfery z emisji wtórnej, na przykład wzbijanego przez wiatr. Analiza kwartalnych próbek opadu pyłu została wykonana przy użyciu metody atomowej absorpcji spektrofotometrycznej. Technika ta pozwala na ilościowe oznaczanie zawartości metali ciężkich w próbkach bez względu na charakter ich połączeń chemicznych z dokładnością rzędu 1 na 10 miliardów analizowanych atomów. Dla każdego pierwiastka oznaczane były dwie wartości; całkowita zawartość pierwiastka w próbce, oraz ilość pierwiastka w próbce wchodząca w skład połączeń chemicznych rozpuszczalnych w 1N roztworze kwasu solnego (1N roztworze wodorotlenku sodowego dla związków fluoru), określona jako frakcja rozpuszczalna pierwiastka. Dla celów pracy wykorzystano pomiary opadu kadmu (Cd), chromu (Cr), miedzi (Cu), niklu (Ni), ołowiu (Pb), cynku (Zn) oraz żelaza (Fe). Uwzględniono również opad fluoru (F) z racji znacznego udziału tego toksycznego pierwiastka w emisji zanieczyszczeń przemysłowych oraz łatwości z jaką tworzy on połączenia chemiczne z metalami. Dla wszystkich wymienionych pierwiastków do analizy statystycznej wykorzystano zarówno opad całkowity jak i frakcję rozpuszczalną opadu. Ilość poszczególnych metali w opadzie atmosferycznym została przeliczona na wartość kwartalną opadu na kilometr kwadratowy powierzchni. Rozmieszczenie stanowisk pomiarowych opadu pyłu atmosferycznego zostało przedstawione w tabeli 3.

Tabela 3. Rozmieszczenie stanowisk pomiarowych opadu atmosferycznego metali ciężkich i fluoru

| Numer stanowiska | Lokalizacja | Współrzędna X | Współrzędna Y | Numer sektora |
|------------------|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|
| 1185 | Radziszów Leśnictwo | 61 | 227 | 33 |
| 1186 | Polanka Haller, Z. Dośw. UJ | 53 | 225 | 23 |
| 1187 | Niepołomice, Szarów 144 | 130 | 253 | 74 |
| 1188 | Chobot Szałas AR | 155 | 265 | 85 |
| 1189 | Niedary 15 | 175 | 288 | 96 |
| 1190 | Oś Pleszów Suchy Jar | 112 | 262 | 65 |
| 1191 | Tropiszów 107 | 125 | 270 | 65 |

Tabela 3. cd.

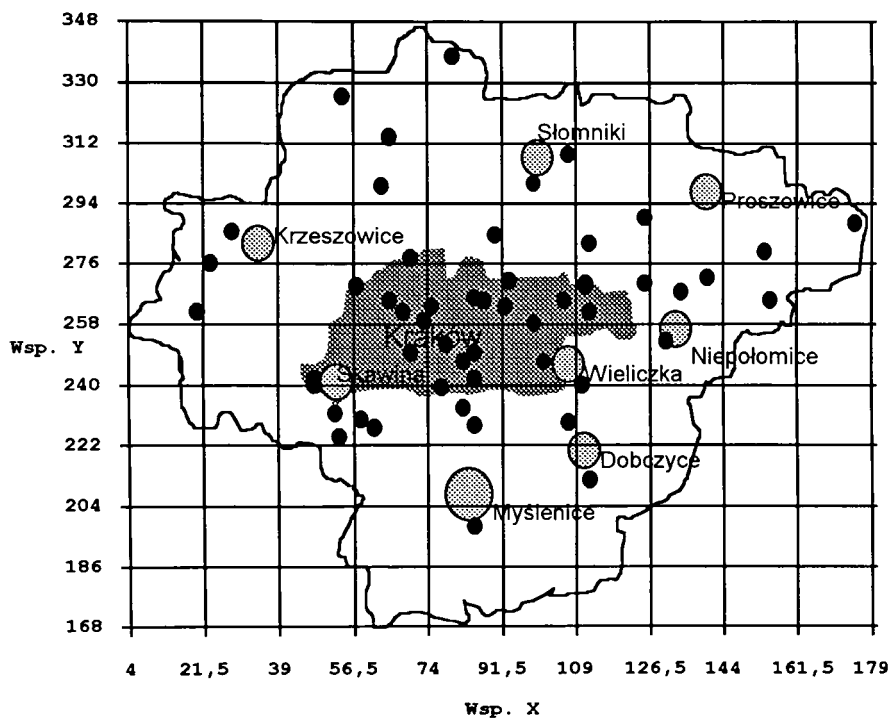
| Numer stanowiska | Lokalizacja | Współrzędna X | Współrzędna Y | Numer sektora |
|------------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| 1192 | Igołomia Zofipole 64 | 134 | 268 | 75 |
| 1193 | Wawrzeńczyce 17 | 140 | 272 | 75 |
| 1194 | Nowe Brzesko ul.Nekanowicka | 154 | 280 | 86 |
| 1195 | Łyszkowice 47 | 125 | 290 | 66 |
| 1196 | Wesoła 23 | 99 | 300 | 57 |
| 1197 | Cieplice 29 | 80 | 338 | 49 |
| 1198 | Kraków ul.Piastowska | 75 | 263 | 45 |
| 1199 | Grzybów Gajówka | 57 | 269 | 35 |
| 1200 | Kraków Ogród Zoologiczny | 68 | 262 | 35 |
| 1201 | Grójec 32 | 20 | 262 | 5 |
| 1202 | Wola Filipowska | 23 | 276 | 16 |
| 1203 | Ojców Dyrekcja OPN | 63 | 299 | 37 |
| 1204 | Popowiec Leśniczówka | 65 | 314 | 38 |
| 1205 | Trzyciąż 54 | 54 | 326 | 28 |
| 1211 | Dąbrowa Szlachecka | 47 | 240 | 24 |
| 1212 | Zagacie | 47 | 242 | 24 |
| 1213 | Świątniki Górne | 85 | 228 | 43 |
| 1214 | Myślenice Zarabie ul.Zdrojowa | 85 | 198 | 41 |
| 1215 | Dobczyce ul.Dębowa | 112 | 212 | 62 |
| 1216 | Raciborsko | 107 | 229 | 53 |
| 1217 | Kocmyrzów | 112 | 282 | 66 |
| 1218 | Michałowice I 88 | 90 | 285 | 46 |
| 1219 | Sosnowka Prandocin Ily 70 | 107 | 309 | 57 |
| 1220 | Modlnica DPT UJ | 70 | 278 | 36 |
| 1221 | Czerna 41 | 28 | 286 | 16 |
| 1222 | Kraków Księcia Józefa 111 | 73 | 259 | 35 |
| 1223 | Chełm AR | 65 | 265 | 35 |
| 1224 | Kraków Golikówka 35 | 99 | 258 | 55 |
| 1225 | Kraków ul.Rakowicka | 87 | 265 | 45 |
| 1226 | Kraków Al.Pokoju | 92 | 263 | 55 |
| 1227 | Kraków N.Huta Nad Dłubnią | 106 | 265 | 55 |
| 1228 | Kraków Powstanców | 93 | 271 | 55 |
| 1229 | Kraków os.Wadów | 111 | 270 | 65 |
| 1230 | Kraków Drożdżownia | 101 | 247 | 54 |
| 1231 | Kraków ul.Fredry 4 | 85 | 250 | 44 |
| 1232 | Kraków ul.Jugowicka | 82 | 247 | 44 |
| 1233 | Kraków ul.Helclów | 85 | 266 | 45 |
| 1234 | Libertów Brzyczyna42 | 77 | 239 | 43 |
| 1235 | Swoszowice ul.Muszczyńskiego | 85 | 242 | 44 |
| 1236 | Zalesie Przemiaraki 10 | 78 | 252 | 44 |
| 1237 | Ruszcza O.HiL | 111 | 269 | 65 |
| 1238 | Wieliczka ul.Kraszewskiego 8 | 110 | 240 | 64 |
| 1244 | Korabniki 152 | 82 | 233 | 43 |
| 1245 | Rzozów 151 | 58 | 230 | 33 |
| 1246 | Borek Szlachecki 109 | 52 | 232 | 23 |
| 1247 | Skotniki 21 | 70 | 250 | 34 |

2.1 Siatka pomiarowa i sektory badawcze

Analiza zróżnicowania przestrzennego częstości wad wrodzonych oraz zanieczyszczenia atmosferycznego została wykonana przy użyciu siatki pomiarowej. Obszar województwa miejskiego krakowskiego został podzielony na sektory na podstawie arbitralnie przyjętego układu współrzędnych ortogonalnych tworzących kwadraty o boku 7,4 km. Określenia współrzędnych miejsca zamieszkania rodziców lub matki dziecka z wadą wrodzoną oraz punktów pomiarowych opadu dokonano na podstawie założonej komputerowej bazy danych adresowych. W bazie tej zapisano współrzędne narzuconej siatki pomiarowej wraz z adresami. Do jej utworzenia posłużyły: plan miasta Krakowa, mapa województwa krakowskiego w podziałce 1:100 000 oraz plany i mapy turystyczne Krakowa i okolic. Na podstawie wielokrotnych porównań i pomiarów dokładność wyznaczonych współrzędnych została określona na 300m. O przyjęciu takiej podziałki siatki zadecydowały następujące fakty: 1. lokalizację punktów pomiarowych oraz miejsca zamieszkania rodzin dzieci z wadami można było przeprowadzić z dokładnością około 300 metrów na podstawie dostępnych planów i map województwa, 2. umiejscowienie dwóch punktów pomiarowych na terenie tego samego sektora siatki pozwoliło na uśrednienie wyników pomiarów opadu atmosferycznego, 3. posłużenie się danymi demograficznymi pozwoliło na oszacowanie populacji zamieszkującej sektory, 4. otrzymana liczebność 30 sektorów była dostateczna do przeprowadzenia analizy statystycznej. Do analiz statystycznych posłużono się opadem pierwiastków wyliczonym dla poszczególnych sektorów, uśredniając wyniki pomiarów dla sektorów, w których znajdowało się kilka punktów pomiarowych (rycina 1). Dla porównań liczebności wad w poszczególnych sektorach siatki posłużono się liczbą mieszkańców sektorów jako wskaźnikiem standaryzacji. Założono, że liczba urodzeń, a ogólnie liczba ciąż (rodność) jest wprost proporcjonalna do liczby mieszkańców sektora pomiarowego i nie wykazuje zmienności czasowej ani geograficznej. Oszacowania populacji sektorów dokonano posługując się metodą planimetryczną. Na podstawie liczby mieszkańców poszczególnych gmin województwa miejskiego krakowskiego przy użyciu siatki milimetrowej z naniesionymi konturami granic administracyjnych gmin, miejscowości oraz granicami sektorów oszacowane zostały populacje każdego z sektorów. Dokonano kontroli zgodności rozkładu populacji sektorów z łączną liczbą mieszkańców województwa a rachunek błędu pozwolił ocenić niedokładność na około 3%. Należy zaznaczyć, że z powodu niekompletności sieci pomiarowej zanieczyszczenia atmosferycznego liczba analizowanych przypadków wad uległa

zmniejszeniu do 68 (72.2%) dla wad cewy nerwowej, 66 (71.7%) dla rozszczepów twarzowej części czaszki oraz 429 (58.3%) dla wad kończyn.

Rycina 1. Rozmieszczenie punktów pomiarowych w sektorach



IV. Metody statystyczne

1. Liczba urodzeń dzieci z wadą i prawdopodobieństwa ich rejestracji

Oszacowanie liczby urodzeń z wadą zostało przeprowadzone przy pomocy rachunku prawdopodobieństwa *a posteriori* (Bayesa) wielokrotności rejestracji dla każdej z grup wad [103]. Funkcja określająca gęstość prawdopodobieństwa względnego rejestracji wady z (t) list, z których każda zawiera (x_t) przypadków pozwala oszacować populację (N) dzieci z wadami (równanie 1.1).

$$f(\{x_t\}|N) \propto \frac{N!}{(N - Mt)!} \left\{ \prod_{i=1}^t \frac{\Gamma(N - x_i - \beta)}{\Gamma(N + \alpha + \beta)} \right\}; 1.1$$

W równaniu tym (Mt) oznacza łączną liczbę przypadków rejestrowanych z list po odliczeniu zgłoszeń wielokrotnych, a (α) i (β) są parametrami rozkładu beta opisującego prawdopodobieństwo rejestracji każdej z list t . (Γ) oznacza funkcję gamma Eulera. Maksimum tej funkcji względem N ; przy założeniu, że α i β są równe jedności, jest estymatorem populacji N .

2. Udział płci i ryzyko względne wad wrodzonych związane z płcią

W celu zbadania udziału płci w grupach wad wrodzonych wyliczono frakcje płci wśród noworodków urodzonych w województwie miejskim krakowskim w latach 1986 - 1989. Udział płci męskiej w łącznej liczbie urodzeń wynosił 51,002%, a płci żeńskiej 48,998%. Stwierdzone różnice w liczbie przypadków dzieci z wadami płci męskiej i płci żeńskiej zostały zbadane testem χ^2 . Zestawienia w formie kwadratu łacińskiego zawierały liczbę urodzeń płci męskiej bez wady, liczbę urodzeń płci żeńskiej bez wady w pierwszym wierszu, liczbę przypadków wady płci męskiej i liczbę przypadków wady płci żeńskiej w drugim wierszu. Ponieważ statystyka χ^2 miała jeden stopień swobody, przy jej obliczeniu zastosowano poprawkę Yates'a. Jako znamieny poziom ufności przyjęto wartość graniczną błędu 1 stopnia ($\alpha < 0,05$).

Ryzyko względne wystąpienia wady związane z płcią dziecka w każdym z przypadków opisuje proporcje ryzyka stwierdzenia wady u płci, dla której wada jest częstsza do ryzyka u płci przeciwnej. Obliczenia ryzyka względnego (RW) dokonano na podstawie wzoru (2.1), który znajduje zastosowanie dla chorób rzadkich [92].

$$RW = \frac{(N_{mw})(N_{zb})}{(N_{mb})(N_{zw})}; 2.1$$

N_{mw} , mb , zw , zb - liczba dzieci płci męskiej i żeńskiej z wadą (mw , zw) i bez wady (mb , zb)

3. Zmienność czasowa częstości wad wrodzonych

3.1. Test sezonowości wad wrodzonych

Istotą przeprowadzonego testu było porównanie rozkładu miesięcznego różnic pomiędzy obserwowaną a oczekiwaną liczebnością wad w stosunku do rozkładu teoretycznego. Zmienną sezonową funkcji opisującej rozkład teoretyczny była suma sinusa i kwadratu sinusa kąta (ϕ) przypisanego każdemu z miesięcy (równanie 3.1). Przy założeniu, że rok kalendarzowy stanowi pełny okres sezonowości (360^0) przypisano każdemu z miesięcy $1/12$ tej wartości. Zaletą przyjętej funkcji sezonowości była możliwość zbadania rozkładu wykazującego niesymetryczne zmiany okresowe, bez typowych dla prostej funkcji trygonometrycznej maksimów i minimów o równych wartościach bezwzględnych. Różnice pomiędzy rozkładem obserwowanym a teoretycznym zostały zbadane testem analizy wariancji.

Analizę rozkładu występowania wad wrodzonych w poszczególnych miesiącach kalendarzowych przeprowadzono przy pomocy zmodyfikowanej metody Edwardsa [31, 93]. Liczba przypadków wad wrodzonych rejestrowana miesięcznie (R) została wystandaryzowana (K) w stosunku do miesięcznej liczby urodzeń. Oczekiwane miesięczne liczebności przypadków wad (E) zostały wyliczone ze średniej czteroletniej i standaryzowane w stosunku do miesięcznej liczby porodów. Przy obliczeniach błędu aproksymacji posłużono się normalizowanym na podstawie dwukrotności pierwiastka kwadratowego miesięcznym rozkładem liczebności wad (równanie 3.2).

$$T(\phi_m) = \alpha \sin(\phi_m) + \beta \sin^2(\phi_m); 3.1$$

Funkcja sezonowości, $\phi_m = \phi + \phi_w$ - wartość kąta funkcji sinus minimalizująca błąd aproksymacji

$$\delta = 2\sqrt{K} - 2\sqrt{E}; 3.2$$

δ błąd aproksymacji; K - standaryzowana, E - oczekiwana miesięczna liczba wad

$$\alpha = \frac{1}{6} \sum (\delta \sin(\phi + \phi_w)) - \text{parametr } \alpha \text{ rozkładu teoretycznego}$$

$$\beta = \frac{2}{9} \sum (\delta \sin^2(\phi + \phi_w)) - \text{parametr } \beta \text{ rozkładu teoretycznego}$$

$$\sum \delta_{H_0}^2 = \left(2(\sqrt{K} - \sqrt{E})\right)^2, 11 \text{ stopni swobody}$$

H_0 - hipoteza zerowa; nie stwierdza się sezonowości, wariancja została wyliczona na podstawie rozkładu standaryzowanej i oczekiwanej liczby urodzeń

$$\sum \delta_{H_1}^2 = \sum T^2 - \frac{1}{6} \left(\sum T \sin(\phi_w)\right)^2 - \frac{2}{9} \left(\sum T \sin^2(\phi_w)\right)^2, 9 \text{ stopni swobody}$$

H_1 - hipoteza alternatywna; występują wahania sezonowe, które można opisać funkcją sezonowości

Wnioskowanie statystyczne jest oparte na badaniu znamienności różnicy wariancji rozkładów podanych hipotez opisaną statystyką F Snedecora:

$$F_{2,9} = \frac{9}{2} \left(\frac{\sum \delta_{H_0}^2 - \sum \delta_{H_1}^2}{\sum \delta_{H_1}^2} \right); 2 \text{ i } 9 \text{ stopni swobody}$$

Wyliczona wartość statystyki po porównaniu z wartością graniczną dla obranego poziomu ufności może pozwolić na odrzucenie hipotezy mówiącej o braku sezonowości.

3.2 Badanie zmienności długofalowej częstości wad

Wstępną analizę trendów częstości wad wrodzonych przeprowadzono na podstawie liczby przypadków wad zarejestrowanych w poszczególnych czterech latach obserwacji w odniesieniu do rocznej liczby urodzeń. Różnice w rocznych częstościach wad wrodzonych zbadano testem nieparametrycznym χ^2 .

Dokładniejsza ocena tendencji generalnej częstości wad w okresie czteroletniej rejestracji została dokonana na podstawie przeprowadzonej analizy korelacyjnej miesięcznych częstości wad. Zmienną niezależną równania regresji liniowej były numery porządkowe kolejnych miesięcy rejestracji (M) a zmienną zależną miesięczne częstości wad na 10000 urodzeń (fWK, fRT i fWCN). Trend liniowy opisany równaniem regresji testowano w oparciu o znamienność standardowego błędu regresji, który posiada rozkład (t) Studenta.

Przy założeniu istnienia ewentualnych ognisk epidemiologicznych wad lub też wahań ich częstości, które powodowały znaczną skośność rozkładu miesięcznego przeprowadzono również obliczenia tendencji ogólnej metodą korelacji nieparametrycznej (korelacji rang Kendalla). Podobnie jak w metodzie regresji liniowej posłużono się miesięcznymi częstościami wad na 10000 urodzeń uporządkowanymi według kolejnych 48 miesięcy rejestracji. Wartość S statystyki Kendalla aproksymowana do rozkładu normalnego była podstawą do testowania znamienności korelacji testem jednostronnym.

4. Analiza skupisk przestrzennych i przestrzenno-czasowych wad wrodzonych

Dla danych parametrycznych, jakimi są współrzędne geograficzne oraz daty kalendarzowe istnieje kilka metod statystycznych pozwalających na poszukiwanie i testowanie znamienności skupisk. Do przeprowadzonej analizy wybrano algorytm K-średnich [46]. Algorytm K-średnich polega na odszukaniu takiego podziału obiektów (wad) opisanych przy pomocy zmiennych parametrycznych (współrzędna X, współrzędna Y, data urodzenia liczona w dniach od 1 stycznia 1986) na skupiska, by suma wariancji zmiennych określających obiekty zliczone do skupisk, była najmniejsza. Jest to typowy algorytm iteracyjny, co oznacza, że dla znalezienia najlepszego rozdziału zbioru wad wymagane jest wielokrotne przeprowadzenie operacji podziału wstępnego, prób przeniesienia każdej z wad do sąsiedniego skupiska, obliczenia błędu podziału (ilorazu sumy wariancji zmiennych obiektów wewnątrz skupisk do sumy wariancji zmiennych reprezentujących środki skupisk). Dla osiągnięcia tego celu został napisany pakiet programów komputerowych w języku PASCAL (KAMEA), który pozwolił na szybkie przeprowadzenie obliczeń. Parametry wstępne analizy skupisk zostały wybrane doświadczalnie. Stwierdzono, że zmienne przestrzenne i czasowa muszą być normalizowane. Jako najlepszy podział

wstępny przyjęto istnienie liczby skupisk równej $\frac{1}{3}$ liczby przypadków wad, z możliwością eliminacji skupiska, z którego wady zostały przeniesione do innego klastra. Jako próg lepszego dopasowania przypadku do skupiska innego niż aktualne przyjęto zmniejszenie cząstkowego błędu podziału o więcej niż 5%. Przyjęcie tych kryteriów pozwoliło na uzyskanie powtarzalności podziału na skupiska.

5. Zmienność czasowa opadu atmosferycznego metali ciężkich i fluoru

5.1. Sezonowość opadu atmosferycznego

Testy sezonowości opadu metali ciężkich przeprowadzone zostały w odmienny sposób niż w przypadku wad wrodzonych ze względu na kumulacyjny charakter pomiarów kwartalnych. Ponieważ próbki ze wszystkich stanowisk odpowiadają tym samym okresom kalendarzowym posłużono się metodą analizy wariancji w celu sprawdzenia, czy ilość każdego z pierwiastków jest taka sama w próbkach pochodzących z różnych kwartałów roku kalendarzowego. Do przeprowadzenia obliczeń posłużyły bezpośrednie dane pomiarowe określające opad każdego z pierwiastków w kilogramach na km na kwartał w każdym ze stanowisk pomiarowych. Uwzględniono jedynie ilość całkowitą pierwiastków. Ponieważ dysponowano danymi pomiarowymi z 13 kwartałów liczebność pomiarów dla pierwszego kwartału roku jest większa niż dla pozostałych. Ze względu na znaczną asymetrię rozkładu wyników pomiarowych zastosowano test Kruskala-Wallisa jako nieparametryczny odpowiednik analizy wariancji.

5.2. Trzyletnie tendencje czasowe opadu atmosferycznego

Badanie trendów rocznych opadu atmosferycznego metali ciężkich i fluoru zostało przeprowadzone na podstawie nieparametrycznej analizy wariancji wyników pomiarowych pogrupowanych według lat kalendarzowych. Ze względu na niekompletne wyniki pomiarowe z roku 1989 obliczenia zostały przeprowadzone jedynie dla lat 1986 - 1988. Podobnie jak przy obliczeniu zmienności sezonowej opadu posłużono się ilościami całkowitymi pierwiastków w próbkach pomiarowych.

Dokonano również analizy korelacyjnej dla kolejnych kwartałów pomiarowych na podstawie uprzednio wyliczonych średnich kwartalnych opadu pierwiastków. Uśredniony

opad każdego z pierwiastków dla kolejnych 13 kwartałów pomiarowych zbadano przy pomocy regresji liniowej, przyjmując porządkowy numer kwartału jako drugą zmienną.

7. Zależności statystyczne między liczbą wad wrodzonych a opadem metali ciężkich i fluoru

7.1. Ryzyko względne wady związane z klasą zanieczyszczenia pierwiastkiem

Jako wstępną metodę pozwalającą oszacować zależności pomiędzy opadem poszczególnych metali ciężkich a liczebnościami wad wrodzonych w sektorach badawczych przyjęto nieparametryczny test ryzyka względnego ekspozycji stosowany dla danych epidemiologicznych w układzie przypadek - populacja.

Przyjmując globalną średnią arytmetyczną opadu każdego z pierwiastków w analizowanym okresie na całym obszarze za wartość graniczną dokonano podziału sektorów badawczych na dwie grupy. Grupę, w której średni opad pierwiastka w obszarze sektora był mniejszy od wartości średniej globalnej nazwano nieeksponowaną, wartość opadu równa lub większa od średniej globalnej była podstawą do klasyfikacji sektora do grupy eksponowanej. Powyższy rozdział został przeprowadzony dla każdego z analizowanych pierwiastków z osobna. Uwzględniono zarówno całkowity opad pierwiastka jak i frakcję rozpuszczalną opadu.

Dalszą analizę przeprowadzono w oparciu o obliczenia ilorazu szans [58], będącego estymatorem ryzyka względnego urodzenia z wadą w sektorach o zwiększonym opadzie pierwiastka. Zastosowano modyfikację analizy statystycznej ryzyka względnego, która opiera się na następujących założeniach:

- populacja podstawowa (B) jest zdefiniowana, i można w jej składzie wyodrębnić subpopulację eksponowaną (B_1) i nieeksponowaną (B_0)
- grupa analizowanych przypadków wad (C) jest sumą przypadków (C_1) i (C_0), które wystąpiły w subpopulacji eksponowanej B_1 i w subpopulacji nieeksponowanej B_0
- ryzyko względne wystąpienia wady w subpopulacji eksponowanej w odniesieniu do populacji nieeksponowanej wyraża się wzorem (7.1):

$$\frac{R_1}{R_0} = \frac{\frac{C_1}{B_1}}{\frac{C_0}{B_0}}; 7.1$$

- wielkość subpopulacji B_1 i B_0 są oszacowane na podstawie prób losowych populacji (b_1 i b_0)
- liczebności grup przypadków C_1 i C_0 są oszacowane na podstawie prób losowych przypadków wady (c_1 i c_0)
- estymator wartości ryzyka z równania (7.1) wyraża się wzorem (7.2):

$$\hat{RW} = \frac{\frac{c_1}{b_1}}{\frac{c_0}{b_0}}; 7.2$$

W przeprowadzonej analizie przyjęto, że łączna liczba ciąż u kobiet zamieszkałych w obszarze objętym siatką pomiarową w analizowanym okresie reprezentuje nieznaną populację B . Podział na subpopulację eksponowaną i nieeksponowaną jest możliwy do przeprowadzenia na podstawie średniej opadu pierwiastka w sektorze. Ponieważ do oszacowania ryzyka względnego w równaniu (równanie 7.1) potrzebna jest, poza liczebnościami wad, wartość ilorazu (b_1/b_0) prób populacji podstawowej B , posłużono się liczebnościami mieszkańców analizowanych sektorów. W określonej granicami administracyjnymi populacji kobiet w badanym przedziale czasu liczba ciąż nie jest znana. Zakładając jednolitą strukturę demograficzną województwa krakowskiego oraz brak innych różnic w reprodukcji można przypuszczać, że liczba ciąż ściśle koreluje z liczbą kobiet w okresie płodności (płodność), a w sposób bardziej pośredni z liczbą mieszkańców (rodność). Szacuje się [112], że 30 - 35% ciąż ulega wczesnemu poronieniu samoistnemu, nie podlegając w ten sposób rejestracji. Około 94 - 98% przypadków ciąży obarczonych analizowanymi wadami kończy się obumarciem płodu w pierwszym trymestrze ciąży. Przyjęto, że urodzenia z wadami stanowią próbę (c) ogólnej nieznannej liczby zapłodnień (C), w swoim rozwoju prowadzących do powstania wady, a związanych z łączną liczbą ciąż (B). Założenie to możliwe jest do przyjęcia, jeżeli zjawisko teratogenezji, mające

główny udział w poronieniach samoistnych ma charakter losowy. Znikoma liczba porad prenatalnych w analizowanym okresie nie mogła zmienić uwarunkowanej nie w pełni poznanyymi mechanizmami biologicznymi teratogenezą. W oparciu o funkcję ryzyka względnego (RW), która przyjmuje rozkład χ^2 dokonano weryfikacji grupy hipotez statystycznych dotyczących braku różnic ryzyka wystąpienia ciąży obciążonej wadą (H_0 : RW = 1), dla każdego typu wady oraz dla każdego pierwiastka, pomiędzy grupą ryzyka a grupą kontrolną.

Wartość statystyki χ^2 oraz granice przedziału ufności obliczono na podstawie wzorów (7.3, 7.4) zaproponowanych przez Nurminena [83]. Metoda ta pozwala na dokładniejsze oszacowanie przedziału ufności ryzyka względnego niż stosowana tradycyjnie metoda Mantel-Haenszela.

$$\chi^2 = \frac{(\hat{RW} - 1)^2}{(\hat{RW}) \left(\frac{1}{c_1} + \frac{1}{c_2} \right)}; \quad 7.3$$

$$RW_{2,5\%}, RW_{97,5\%} = (\hat{RW}) \left[A \pm \sqrt{(A^2 - 1)} \right]; \quad A = 1 + \chi_{0,05}^2(1) \frac{\left(\frac{1}{c_1} + \frac{1}{c_2} \right)}{2}; \quad 7.4$$

RW_{2,5-97,5%} - granice przedziału ufności RW dla $\alpha = 0,05$

7.2. Analiza korelacyjna między opadem metali ciężkich i fluoru a liczbą wad wrodzonych w sektorach pomiarowych

Jako wstępną metodę analizy korelacyjnej zastosowano wielokrotną regresję liniową, przyjmując jako zmienną zależną liczebności wad wrodzonych, a jako zmienne niezależne średnie wartości opadu 7 metali ciężkich oraz fluoru w tych samych sektorach. Oczekiwano, że próba równoczesnej korelacji 8 pierwiastków pozwoli wyłonić spośród nich te, które wykazują znamienne zależności statystyczne, a ponadto będzie możliwe uchwycenie interakcji pomiędzy pierwiastkami.

Obliczenia te zostały powtórzone dla standaryzowanej na podstawie zaludnienia liczby przypadków wad w sektorach. Większa gęstość zaludnienia regionów silniej uprzemysłowionych jest typowa dla struktury demograficznej województwa krakowskiego. Standaryzacja liczby przypadków wad pozwoliła na wyeliminowanie tej zależności.

Kolejną próbą weryfikacji wpływu zanieczyszczenia atmosferycznego metalami ciężkimi na częstość wad wrodzonych było przeprowadzenie serii regresji liniowych pomiędzy standaryzowaną częstością wad w sektorach a średnim opadem poszczególnych pierwiastków lub ich frakcji rozpuszczalnych. Posłużono się tym samym zestawem danych jak dla regresji wielokrotnej.

7.3. Analiza opadu atmosferycznego dla skupisk przestrzennych i przestrzenno-czasowych wad wrodzonych

Próba alternatywnej analizy epidemiologicznej było porównanie poziomu zanieczyszczenia atmosferycznego terenów województwa krakowskiego, na których kilkakrotnie zarejestrowanie przypadków wady mogło sugerować obecność ogniska epidemiologicznego. Ponownie odwołano się do algorytmu skupisk w celu identyfikacji tych sektorów pomiarowych, na obszarze których przypadki wad wrodzonych zostały zarejestrowane w sposób sugerujący ich zwiększoną częstość. Grupę hipotez statystycznych zakładających brak różnic w opadzie poszczególnych pierwiastków pomiędzy obszarami województwa krakowskiego, na których stwierdzono różniczne skupiska wad przetestowano przy pomocy nieparametrycznego testu rang Manna-Whitney'a ze względu na rozkład opadu pierwiastków w sektorach znacznie różniący się od rozkładu normalnego. Testowany był średni trzyletni opad każdego z pierwiastków w odniesieniu do klasy określonej na podstawie liczebności skupiska, w skład którego zaliczono przypadek. Średnia opadu została wyliczona dla każdego z przypadków wad na podstawie pomiarów kwartalnych w odpowiednich sektorach. Przyjęto dwie klasy liczebności skupisk, biorąc medianę rozkładu liczby przypadków w skupiskach za granicę ich podziału. Jako definicję skupiska przyjęto zbiór liczący co najmniej dwa przypadki wad. Zgodnie z algorytmem K-średnich błąd kwadratowy odległości przypadków od teoretycznego środka skupiska wykazywał mniej niż 5% szansy ich losowej koincydencji.

V. Wyniki

1. Rejestracja urodzeń dzieci z wadami wrodzonymi

W okresie od 1 stycznia 1986 do 31 grudnia 1989 zarejestrowano 87 przypadków wad cewy nerwowej, 92 przypadki rozszczepów twarzoczaszki oraz 736 przypadków wad kończyn. W grupie wad cewy nerwowej 10,3% urodzeń stanowiły płody martwe, a łączna śmiertelność w okresie niemowlęcym wyniosła 55,2% (tabela 4).

Tabela 4. Śmiertelność dzieci z wadami wrodzonymi w pierwszym roku życia

| Rodzaj wady | Liczba przypadków | Martwo urodzone | Zgony w 1 roku życia | Wykonane autopsje | Śmiertelność |
|--------------------------|-------------------|-----------------|----------------------|-------------------|--------------|
| Wady cewy nerwowej | 87 | 9 | 39 | 18 | 55,2% |
| Rozszczepy twarzoczaszki | 92 | 1 | 4 | 1 | 5,4% |
| Wady kończyn | 736 | 0 | 3 | 1 | 0,4% |

Zarejestrowano 1 przypadek urodzenia martwego płodu z rozszczepem twarzoczaszki (1,1%), a śmiertelność niemowląt w tej grupie wyniosła 5,4%. W grupie wad kończyn zarejestrowano 0,5% zgonów w okresie niemowlęcym, nie obserwowano urodzeń martwych płodów z tymi wadami. Łączna liczba urodzeń żywych i martwych w analizowanym okresie wyniosła 73140.

Podział zarejestrowanych wad na podgrupy z uwzględnieniem płci dziecka przedstawiono w tabelach 5, 6 i 7. Liczba przypadków rozszczepów twarzoczaszki została wyszczególniona według anatomicznego podziału wady w tabeli 6a, w tabeli 6b przedstawiono podział genetyczny. Wrodzone złożone wady kończyn zostały dodatkowo zamieszczone w tabeli 8, dla której wspólną cechą przypadków wad kończyn było współwystępowanie wrodzonego zwichnięcia stawów biodrowych.

Tabela 5. Wady cewy nerwowej; liczba przypadków wad w podgrupach z uwzględnieniem płci dziecka

| Wady cewy nerwowej | Liczba przypadków | Płeć | | |
|--------------------------------|-------------------|-------|--------|--------------|
| | | męska | żeńska | nieokreślona |
| bezmózgowie | 34 | 9 | 24 | 1 |
| spina bifida / cranium bifidum | 53 | 25 | 28 | 0 |

Liczbę dzieci z przepuklinami oponowo-mózgowymi i oponowo-rdzeniowymi podano łącznie ze względu na stwierdzone w 9 spośród 21 podwójnych rejestracji rozbieżności w klasyfikacji typów wady.

Tabela 6a. Rozszczepy twarzoczaszki; liczba przypadków, podział oparty na opisie anatomicznym wady

| Rozszczepy twarzoczaszki | Liczba przypadków | Płeć | |
|--------------------------------|-------------------|-------|--------|
| | | męska | żeńska |
| rozszczip wargi | 33 | 22 | 11 |
| rozszczip podniebienia | 23 | 10 | 13 |
| rozszczip wargi i podniebienia | 36 | 22 | 14 |

Tabela 6b. Rozszczepy twarzoczaszki; liczba przypadków według genetycznego kryterium podziału na rozszczepy podniebienia pierwotnego z lub bez rozszczepu podniebienia wtórnego i rozszczepy podniebienia wtórnego

| Rozszczepy twarzoczaszki | Liczba przypadków | Płeć | |
|---|-------------------|-------|--------|
| | | męska | żeńska |
| rozszczip podniebienia pierwotnego ± wtórnego | 69 | 44 | 25 |
| rozszczip podniebienia wtórnego | 23 | 10 | 13 |

Tabela 7. Wady kończyn; liczba przypadków według klasyfikacji najczęściej spotykanej w opracowaniach o charakterze genetyczno-epidemiologicznym

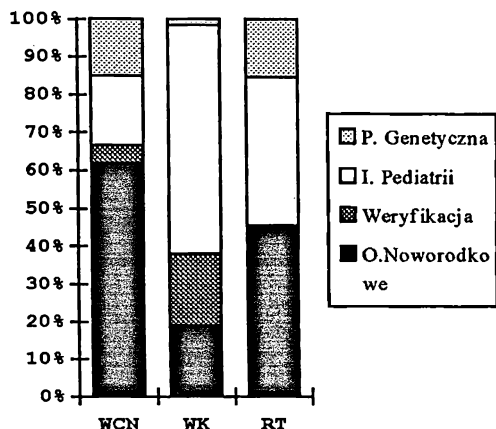
| Wady kończyn | Liczba przypadków | Płeć | |
|---|-------------------|-------|--------|
| | | męska | żeńska |
| wrodzone zwinięcie stawu biodrowego | 327 | 66 | 261 |
| wady stóp (koślawość, szpotawość) | 216 | 103 | 113 |
| wielopalczastość | 60 | 31 | 29 |
| palczosty | 34 | 20 | 14 |
| wady redukcyjne kończyn górnych | 28 | 17 | 11 |
| wady redukcyjne kończyn dolnych | 8 | 4 | 4 |
| wady redukcyjne kończyn górnych i dolnych | 11 | 8 | 3 |
| złożone wady kończyn | 52 | 27 | 25 |

Tabela 8. Wady kończyn złożone; liczba przypadków wad współwystępujących z wrodzonym zwinięciem stawów biodrowych

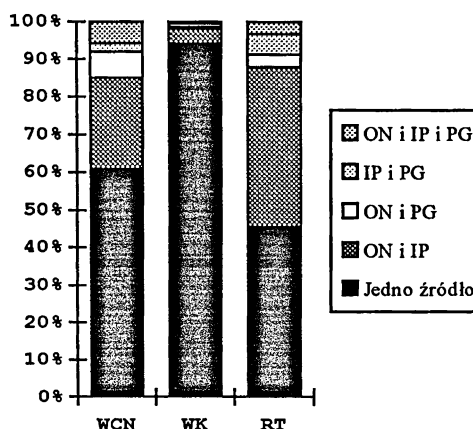
| Złożone wady kończyn | Liczba przypadków | Płeć | |
|---|-------------------|-------|--------|
| | | męska | żeńska |
| zwinięcie stawów biodrowych i wady stóp | 7 | 3 | 4 |
| zwinięcie stawów biodrowych i wady redukcyjne | 5 | 2 | 3 |
| zwinięcie stawów biodrowych i palczosty | 6 | 5 | 1 |

Największą zgłaszalność ze źródła pierwotnego, za jakie przyjęto Oddziały Noworodkowe, stwierdzono dla wad cewy nerwowej (62,1%). Zgłaszalność rozszczeptów twarzoczaszki wyniosła 45,6% a wad kończyn zaledwie 19,2%. Dla wad kończyn najważniejszym źródłem rejestracji była dokumentacja Instytutu Pediatrii w Krakowie, źródło, z którego zgłaszalność pierwszorazowa wad tej grupy wyniosła 60,3%. Odsetek zgłoszeń pierwszorazowych wad cewy nerwowej z Instytutu Pediatrii wyniósł 18,4% a dla rozszczeptów twarzoczaszki 39,1% (rycina 2).

Rycina 2. Udział pierwszorazowych źródeł zgłoszenia



Rycina 3. Udział wielokrotnych źródeł zgłoszenia



Po przeprowadzeniu działań zmierzających do aktywnej rejestracji (przejrzenie ksiąg szpitalnych, kart rejestracyjnych oraz ksiąg urodzeń) ujawniono dodatkowo 4,6% uprzednio niezgłoszonych przypadków wad cewy nerwowej oraz 19% urodzeń dzieci z wadami kończyn (tabela 2). Dla wad cewy nerwowej były to przypadki bezmózgowia u martwo urodzonych płodów. Niezgłoszone wady kończyn dotyczyły najczęściej wrodzonych podwichnięć stawów biodrowych oraz szczątkowych heksadaktylii. Nie stwierdzono urodzeń dzieci z rozszczepami twarzowej części czaszki, które nie zostały uprzednio zarejestrowane.

Wielokrotna rejestracja miała miejsce w 39,1% wad cewy nerwowej, 54,3% rozszczepów twarzoczaszki oraz 5,7% wad kończyn. W analizie zgłaszalności zaskakująco niewielka jest liczba przypadków wad wrodzonych skierowanych bezpośrednio do Poradni Genetycznej. Dla wad cewy nerwowej 14,9% przypadków było kierowane równocześnie do Poradni Neurochirurgicznej i do Genetycznej, wśród pozostałych grup wad 15,2% rozszczepów twarzoczaszki i jedynie 1,8% wad kończyn skierowano do Poradni Genetycznej równocześnie z wizytą w odpowiedniej poradni konsultacyjnej (rycina 3).

Wyniki obliczeń matematycznych określających szacunkową populację dzieci z wadami na podstawie wielokrotności rejestracji, granice 95% przedziału ufności dla wyników oraz prawdopodobieństwo rejestracji zostały przedstawione w tabeli 9.

Tabela 9. Oszacowanie liczby przypadków wad i prawdopodobieństwa rejestracji

| Rodzaj wady | N szacowane | N _{2,5%} | N _{97,5%} | Π łączne rejestracji | Π rejestracji z ON | Π rejestracji z IP | Π rejestracji z PG |
|--------------------------|-------------|-------------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Wady cewy nerwowej | 125 | 107 | 165 | 0,696 | 0,552 | 0,352 | 0,104 |
| Rozszczepy twarzoczaszki | 120 | 106 | 150 | 0,768 | 0,425 | 0,375 | 0,117 |

Dla wad kończyn zastosowanie metody proponowanej przez Smitha nie było możliwe ze względu na ograniczenia numeryczne w obliczeniach matematycznych, można jednak stwierdzić, że oszacowana wartość N była większa od 1750, co daje łączne prawdopodobieństwo rejestracji Π mniejsze od 0,42.

Informacje dotyczące tempa rejestracji zostały zamieszczono w tabeli 10. Tabela ta uwzględnia przedział czasu upływający między urodzeniem się dziecka z wadą wrodzoną a pierwszym zgłoszeniem wady do rejestru.

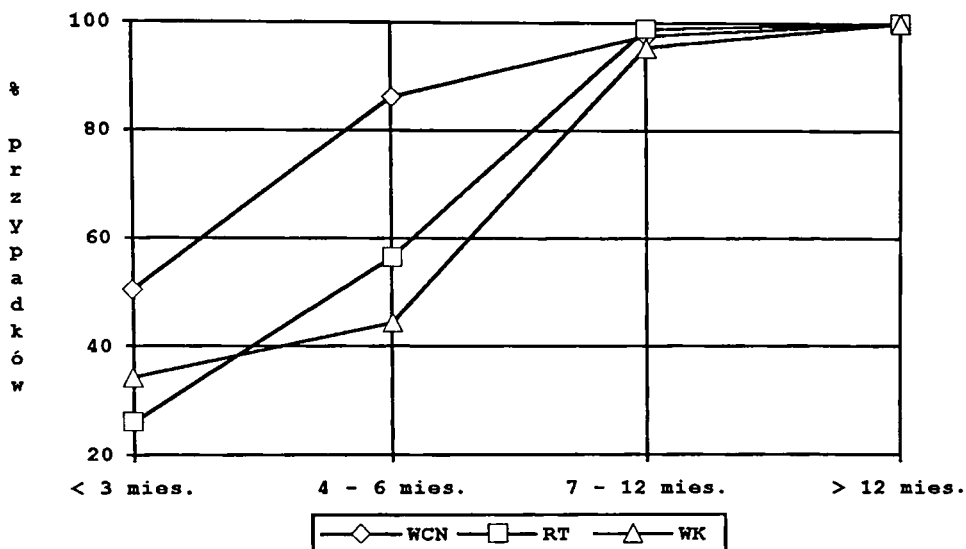
Tabela 10. Tempo rejestracji wad wrodzonych

| Rodzaj wady | < 3 miesiąca | 4 - 6 miesiąc | 7 - 12 miesiąc | > 12 miesiąca |
|--------------------------|--------------|---------------|----------------|---------------|
| Wady cewy nerwowej | 44 | 31 | 10 | 2 |
| Rozszczepy twarzoczaszki | 24 | 28 | 39 | 1 |
| Wady kończyn | 252 | 75 | 376 | 34 |

Najkrótszy okres czasu między urodzeniem się dziecka z wadą, a zgłoszeniem wady do rejestru stwierdzono dla wad cewy nerwowej (WCN); (50,7% do 3 miesiąca od urodzenia, 86,2% do 6 miesiąca i 97,7% do roku). Rozszczepy twarzoczaszki (RT) charakteryzowały się równomiernym tempem rejestracji (26,1% do 3 miesiąca, 56,6% do 6

miesiąca i 90,2% do roku). Dla wad kończyn (WK) stwierdzono bimodalny rozkład tempa rejestracji (34,2% do 3 miesięcy, 44.4% do 6 miesięcy i 95,5% do roku) (rycina 4).

Rycina 4. Kumulacyjny rozkład rejestracji wad wrodzonych ze źródeł pierwszorazowych



2. Częstości wad wrodzonych

Częstości rozpatrywanych wad wrodzonych wyliczone na podstawie 4 letniej obserwacji wyniosły dla wad cewy nerwowej 11,89 na 10000 porodów, dla rozszczepów twarzoczaszki 12,58 na 10000 porodów a dla wad kończyn 100,63 na 10000 porodów (tabela 11). Ze względu na znaczne różnice w częstościach miesięcznych tych wad (tabela 11, rycina 5) w tabeli 12 przedstawiono granice 95% przedziału ufności dla średniej częstości wad na 10000 porodów oraz błąd standardowy średniej. W tabeli 13 przedstawiono częstości w poszczególnych podgrupach wad wrodzonych.

Tabela 11. Rozkład miesięczny liczby porodów oraz urodzeń wad wrodzonych;
miesięczne częstości wad na 10 000 urodzeń

| Rok | Miesiąc | Liczba porodów | WCN | WK | RT | częstość WCN | częstość WK | częstość RT |
|------|---------|----------------|-----|----|----|--------------|-------------|-------------|
| 1986 | 1 | 1841 | 2 | 17 | 0 | 10,86 | 92,34 | 0,00 |
| | 2 | 1534 | 0 | 8 | 0 | 0,00 | 52,15 | 0,00 |
| | 3 | 1694 | 1 | 14 | 1 | 5,90 | 82,64 | 5,90 |
| | 4 | 1627 | 1 | 16 | 0 | 6,15 | 98,34 | 0,00 |
| | 5 | 1639 | 1 | 11 | 0 | 6,10 | 67,11 | 0,00 |
| | 6 | 1661 | 1 | 19 | 2 | 6,02 | 114,39 | 12,04 |
| | 7 | 1639 | 0 | 17 | 3 | 0,00 | 103,72 | 18,30 |
| | 8 | 1750 | 2 | 15 | 0 | 11,43 | 85,71 | 0,00 |
| | 9 | 1572 | 1 | 17 | 0 | 6,36 | 108,14 | 0,00 |
| | 10 | 1505 | 1 | 11 | 2 | 6,64 | 73,09 | 13,29 |
| | 11 | 1443 | 5 | 10 | 4 | 34,65 | 69,30 | 27,72 |
| | 12 | 1229 | 2 | 11 | 1 | 16,27 | 89,50 | 8,14 |
| 1987 | 1 | 1385 | 0 | 19 | 3 | 0,00 | 137,18 | 21,66 |
| | 2 | 1381 | 2 | 7 | 4 | 14,48 | 50,69 | 28,96 |
| | 3 | 1479 | 2 | 16 | 0 | 13,52 | 108,18 | 0,00 |
| | 4 | 1509 | 2 | 19 | 3 | 13,25 | 125,91 | 19,88 |
| | 5 | 1668 | 1 | 13 | 3 | 6,00 | 77,94 | 17,99 |
| | 6 | 1602 | 4 | 16 | 4 | 24,97 | 106,12 | 24,97 |
| | 7 | 1726 | 2 | 13 | 1 | 11,59 | 75,32 | 5,79 |
| | 8 | 1603 | 2 | 13 | 2 | 12,48 | 81,10 | 12,48 |
| | 9 | 1501 | 1 | 11 | 1 | 6,66 | 73,28 | 6,66 |
| | 10 | 1429 | 4 | 10 | 2 | 27,99 | 69,98 | 14,00 |
| | 11 | 1360 | 3 | 14 | 1 | 22,06 | 102,94 | 7,35 |
| | 12 | 1448 | 2 | 12 | 5 | 13,81 | 82,87 | 34,53 |
| 1988 | 1 | 1545 | 1 | 21 | 2 | 6,47 | 135,92 | 12,94 |
| | 2 | 1489 | 1 | 11 | 0 | 6,72 | 73,88 | 0,00 |
| | 3 | 1746 | 1 | 16 | 3 | 5,73 | 91,64 | 17,18 |
| | 4 | 1510 | 1 | 14 | 2 | 6,62 | 92,72 | 13,25 |
| | 5 | 1832 | 3 | 23 | 2 | 16,38 | 131,00 | 10,92 |
| | 6 | 1627 | 1 | 20 | 3 | 6,15 | 122,93 | 18,44 |
| | 7 | 1720 | 5 | 18 | 3 | 29,07 | 104,65 | 17,44 |
| | 8 | 1620 | 2 | 19 | 4 | 12,35 | 117,28 | 24,69 |
| | 9 | 1668 | 0 | 21 | 0 | 0,00 | 125,90 | 0,00 |
| | 10 | 1403 | 1 | 15 | 2 | 7,13 | 106,91 | 14,26 |
| | 11 | 1301 | 4 | 22 | 1 | 30,75 | 169,10 | 7,69 |
| | 12 | 1284 | 4 | 16 | 2 | 31,15 | 124,61 | 15,58 |
| 1989 | 1 | 1509 | 1 | 20 | 3 | 6,63 | 132,54 | 19,88 |
| | 2 | 1467 | 2 | 11 | 3 | 13,63 | 74,98 | 20,45 |
| | 3 | 1393 | 0 | 17 | 1 | 0,00 | 122,04 | 7,18 |
| | 4 | 1420 | 1 | 19 | 2 | 7,04 | 133,80 | 14,08 |
| | 5 | 1409 | 3 | 20 | 2 | 21,29 | 141,94 | 14,19 |
| | 6 | 1466 | 4 | 15 | 2 | 27,29 | 102,32 | 13,64 |
| | 7 | 1515 | 1 | 11 | 0 | 6,60 | 72,61 | 0,00 |
| | 8 | 1450 | 4 | 15 | 0 | 27,59 | 103,45 | 0,00 |

Tabela 11, cd.

| Rok | Miesiąc | Liczba porodów | WCN | WK | RT | częstość WCN | częstość WK | częstość RT |
|------|------------------------|----------------|-----|------|-----|--------------|-------------|-------------|
| 1989 | 9 | 1458 | 2 | 17 | 5 | 13,72 | 116,60 | 34,29 |
| | 10 | 1393 | 0 | 19 | 5 | 0,00 | 136,40 | 35,89 |
| | 11 | 1277 | 0 | 12 | 2 | 0,00 | 93,97 | 15,66 |
| | 12 | 1413 | 3 | 15 | 1 | 21,23 | 106,16 | 7,08 |
| | Suma | 73140 | 87 | 736 | 92 | | | |
| | Średnia | 1524 | 1,8 | 15,3 | 1,9 | 11,89* | 100,63* | 12,58* |
| | Odchylenie standard.** | 143,3 | | | | 9,46 | 25,58 | 9,91 |

WCN - wady cewy nerwowej; WK - wady kończyn; RT - rozszczepy twarzoczaszki, * średnia czteroletnia częstości wad, ** odchylenie standardowe średnich miesięcznych

Rycina 5. Miesięczne częstości wad na 10 000 porodów

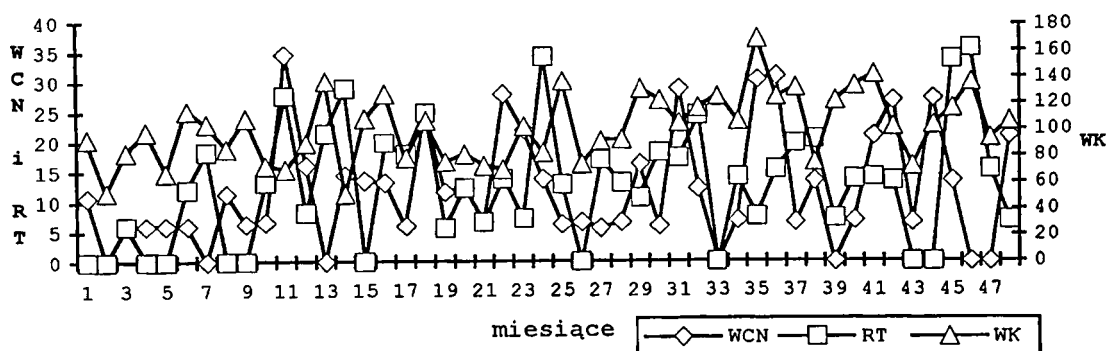


Tabela 12. Częstość wad wrodzonych na 10 000 urodzeń (średnia czteroletnia) oraz granice 95% przedziału ufności dla średniej

| Grupa wad wrodzonych | X | X _{2,5%} | X _{97,5%} | SE _x |
|--------------------------|--------|-------------------|--------------------|-----------------|
| Wady cewy nerwowej | 11,89 | 9,32 | 14,87 | 1,37 |
| Rozszczepy twarzoczaszki | 12,58 | 9,89 | 15,71 | 1,45 |
| Wady kończyn | 100,63 | 93,77 | 108,78 | 3,73 |

$X_{2,5\%}$, $X_{97,5\%}$ - dolna i górna granica 95% przedziału ufności dla średniej, SE_x - błąd standardowy średniej

Tabela 13. Częstości wad na 10 000 urodzeń w poszczególnych podgrupach wad.

| | |
|---|----------------------------------|
| Wady cewy nerwowej | częstość na 10000 porodów |
| bezmózgowie | 4,65 |
| spina bifida / cranium bifidum | 7,25 |
| Rozszczepy twarzoczaszki | częstość na 10000 porodów |
| rozszczep wargi | 4,51 |
| rozszczep podniebienia | 3,14 |
| rozszczep wargi i podniebienia | 4,92 |
| Wady kończyn | częstość na 10000 porodów |
| wrodzone zwichnięcie st. biodrowego | 44,7 |
| wady stóp (koślawość, szpotawość) | 31,9 |
| wielopalczałość | 8,20 |
| palczorosty | 4,65 |
| wady redukcyjne k. górnych | 3,83 |
| wady redukcyjne k. dolnych | 1,09 |
| wady kk. redukcyjne górnych i dolnych | 1,50 |
| złożone wady kończyn | 7,11 |
| w tym zwichnięcie. st. biodr. i wady stóp | 1,0 |
| zwichnięcie st. biodr. i wady redukcyjne | 0,7 |
| wielopalczałość i palczorosty | 0,9 |

2.1. Udział płci w analizowanych grupach wad

Przewaga płci żeńskiej w grupie wad cewy nerwowej znalazła potwierdzenie statystyczne wyłącznie w podgrupie bezmózgowia ($\chi^2 = 6,72$; $p = 0,01$).

W grupie rozszczepów twarzoczaszki przewaga rozszczepów podniebienia pierwotnego u chłopców wykazała graniczną znamienność statystyczną ($\chi^2 = 3,8$; $p = 0,05$); porównanie dla rozszczepów wargi wykazało natomiast nieznamienne przewagę płci męskiej ($\chi^2 = 2,5$; $p = 0,1$).

Wśród wad kończyn zdecydowana przewaga wrodzonych zwichnięć stawów biodrowych u dziewczynek znalazła potwierdzenie w statystyce χ^2 ($\chi^2 = 126$; $p < 0,0001$). Dla pozostałych podgrup wad kończyn wyniki testu nie wykazały znamienności statystycznej.

Wady cewy nerwowej były częściej stwierdzane u płci żeńskiej (RW = 1,61). Częstsze występowanie wad cewy nerwowej u płci żeńskiej było szczególnie zauważalne w grupie bezmózgowia (RW = 2,78), natomiast dla rozszczepów kręgosłupa i przepuklin mózgowych ryzyko względne wskazywało na nieznaczną przewagę tej płci (RW = 1,18).

Rozszczepy twarzoczaszki przeważały u chłopców (RW = 1,35). O proporcji tej zadecydowało częstsze występowanie rozszczepów wargi u płci męskiej (RW = 1,90). Izolowane rozszczepy podniebienia były częściej stwierdzane u płci żeńskiej (RW = 1,37), natomiast rozszczepy wargi i podniebienia były częstsze u chłopców (RW = 1,49). Analizując łącznie grupę rozszczepów wargi z lub bez rozszczepu podniebienia stwierdzono zatem przewagę płci męskiej (RW = 1,67).

Najbardziej wyraźna przewaga płci żeńskiej wśród wad kończyn zaznaczyła się w grupie wrodzonych zwichnięć stawów biodrowych (RW = 4,17). W grupie wad redukcyjnych kończyn, analizowanej łącznie, stwierdzono przewagę płci męskiej (RW = 1,53).

2.2. Ocena sezonowości wad

W tabeli 14 zostały przedstawione zestawienia obserwowanych i oczekiwanych liczebności wad, które posłużyły badaniu sezonowości oraz wyniki testów statystycznych.

Tabela 14. Ocena sezonowości urodzeń wad wrodzonych. - Dane liczbowe

| Mies. | ϕ | R WCN | K WCN | E WCN | δ WCN | T WCN | $\delta\sin(\phi+\phi_w)$ | $\delta\sin^2(\phi+\phi_w)$ |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------------|--------|---------------------------|-----------------------------|
| 1 | 15 | 4 | 4,121 | 7,470 | -1,406 | -0,488 | 0,703 | -0,352 |
| 2 | 45 | 5 | 4,816 | 6,984 | -0,896 | -1,102 | 0,776 | -0,672 |
| 3 | 75 | 4 | 4,142 | 7,508 | -1,410 | -1,381 | 1,410 | -1,410 |
| 4 | 105 | 5 | 4,976 | 7,216 | -0,911 | -1,102 | 0,789 | -0,683 |
| 5 | 135 | 8 | 8,595 | 7,789 | 0,282 | -0,488 | -0,141 | 0,070 |
| 6 | 165 | 10 | 10,428 | 7,560 | 0,959 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 7 | 195 | 8 | 8,663 | 7,851 | 0,283 | 0,084 | 0,141 | 0,071 |
| 8 | 225 | 10 | 10,538 | 7,640 | 0,964 | -0,111 | 0,835 | 0,723 |
| 9 | 255 | 4 | 4,068 | 7,374 | -1,397 | -0,237 | -1,397 | -1,397 |
| 10 | 285 | 6 | 5,641 | 6,816 | -0,471 | -0,111 | -0,408 | -0,354 |
| 11 | 315 | 12 | 10,594 | 6,401 | 1,450 | 0,084 | 0,725 | 0,362 |
| 12 | 345 | 11 | 9,699 | 6,392 | 1,172 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

Tabela 14, cd.

| Mies. | ϕ | R WK | K WK | E WK | δ WK | T WK | $\delta \sin(\phi + \phi_w)$ | $\delta \sin^2(\phi + \phi_w)$ |
|-------|--------|------|--------|--------|-------------|--------|------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 15 | 77 | 79,337 | 63,195 | 1,915 | -0,239 | -1,659 | 1,436 |
| 2 | 45 | 37 | 35,640 | 59,079 | -3,433 | -0,208 | 1,716 | -0,858 |
| 3 | 75 | 63 | 65,243 | 63,517 | 0,215 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 4 | 105 | 68 | 67,676 | 61,042 | 0,827 | 0,398 | 0,414 | 0,207 |
| 5 | 135 | 67 | 71,980 | 65,892 | 0,733 | 0,809 | 0,635 | 0,550 |
| 6 | 165 | 70 | 72,998 | 63,960 | 1,093 | 0,985 | 1,093 | 1,093 |
| 7 | 195 | 59 | 63,888 | 66,415 | -0,313 | 0,809 | -0,271 | -0,235 |
| 8 | 225 | 62 | 65,337 | 64,634 | 0,087 | 0,398 | 0,044 | 0,022 |
| 9 | 255 | 66 | 67,126 | 62,380 | 0,590 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 10 | 285 | 55 | 51,706 | 57,660 | -0,805 | -0,208 | 0,403 | -0,201 |
| 11 | 315 | 58 | 51,206 | 54,148 | -0,406 | -0,239 | 0,351 | -0,304 |
| 12 | 345 | 54 | 47,612 | 54,078 | -0,907 | -0,226 | 0,907 | -0,000 |
| Mies. | ϕ | R RT | K RT | E RT | δ RT | T RT | $\delta \sin(\phi + \phi_w)$ | $\delta \sin^2(\phi + \phi_w)$ |
| 1 | 15 | 8 | 8,243 | 7,899 | 0,121 | -0,204 | -0,060 | 0,030 |
| 2 | 45 | 7 | 6,743 | 7,385 | -0,242 | -0,484 | 0,209 | -0,181 |
| 3 | 75 | 5 | 5,178 | 7,940 | -1,084 | -0,615 | 1,084 | -1,084 |
| 4 | 105 | 7 | 6,967 | 7,630 | -0,246 | -0,484 | 0,213 | -0,184 |
| 5 | 135 | 7 | 7,520 | 8,236 | -0,255 | -0,204 | 0,128 | -0,064 |
| 6 | 165 | 11 | 11,471 | 7,995 | 1,119 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 7 | 195 | 7 | 7,580 | 8,302 | -0,256 | -0,003 | -0,128 | -0,064 |
| 8 | 225 | 6 | 6,323 | 8,079 | -0,656 | -0,135 | -0,568 | -0,492 |
| 9 | 255 | 6 | 6,102 | 7,797 | -0,644 | -0,212 | -0,644 | -0,644 |
| 10 | 285 | 11 | 10,341 | 7,208 | 1,062 | -0,135 | 0,920 | 0,797 |
| 11 | 315 | 8 | 7,063 | 6,769 | 0,112 | -0,003 | 0,056 | 0,028 |
| 12 | 345 | 9 | 7,935 | 6,760 | 0,434 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

R - rejestrowana, K - standaryzowana, E - oczekiwana liczba wad w miesiącu, δ - błąd aproksymacji, T - wartość funkcji sezonowości

Tabela 14. Ocena sezonowości urodzeń wad wrodzonych - wyniki testów statystycznych

| Rodzaj wady | $\Sigma \delta^2_{H1}$ | $\Sigma \delta^2_{H0}$ | α | β | $F_{2,9}$ | ϕ_w | P_F |
|-------------------------------|------------------------|------------------------|----------|---------|-----------|----------|-------|
| Wady cewy nerwowej (WCN) | 8,347 | 13,255 | 0,572 | -0,809 | 2,646 | -165,0 | 0,125 |
| Wady kończyn (WK) | 17,155 | 20,004 | 0,605 | 0,380 | 0,747 | -75,0 | 0,501 |
| Rozszczepy twarzoczaszki (RT) | 3,854 | 4,866 | 0,202 | -0,413 | 1,181 | -165,0 | 0,350 |

α , β - współczynniki funkcji sezonowości dla kąta ϕ ; F - statystyka Snedecora; p - poziom ufności statystyki F

Analiza wariancji rozkładu miesięcznych liczebności wad, przybliżonych metodą najmniejszych kwadratów do funkcji trygonometrycznej sezonowości nie potwierdziła obecności wahań sezonowych. Dla wszystkich grup wad uzyskano nieznamienne wartości statystyki F ($p > 0,1$) nie pozwalające na odrzucenie hipotezy (H_0) o losowym rozkładzie miesięcznej liczby przypadków wad.

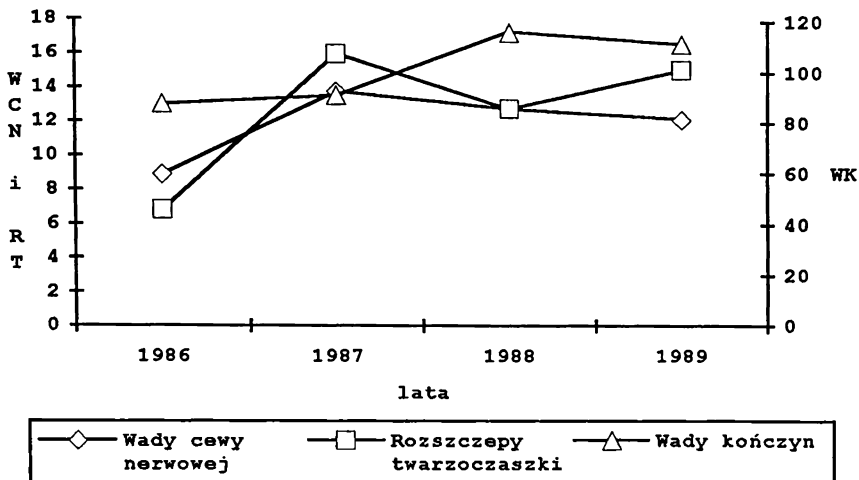
2.3. Tendencje czasowe częstości wad wrodzonych

Zestawienia liczby urodzeń, liczebności wad, ich częstości oraz statystyki χ^2 , którymi posłużono się przy badaniu tendencji czasowych zostały zamieszczone w tabeli 15. Liczebności oczekiwane urodzeń z wadą i bez wady zostały oszacowane, przy założeniu niezmiennych ich częstości na podstawie średniej czteroletniej, standaryzowanej do liczby urodzeń w każdym roku. Częstości roczne wad wrodzonych przedstawiono na rycinie 6.

Tabela 15. Testy tendencji czasowych urodzeń wad wrodzonych

| Rodzaj wady | Rok | Liczba urodzeń bez wady | Oczekiwana liczba urodzeń bez wady | Liczba urodzeń z wadą | Oczekiwana liczba urodzeń z wadą | Częstość wady rejestrowana na 10000 |
|-------------|-------------------|-------------------------|------------------------------------|-----------------------|----------------------------------|-------------------------------------|
| WCN | 1986 | 19117 | 19111 | 17 | 23 | 8,88 |
| | 1987 | 18066 | 18069 | 25 | 22 | 13,82 |
| | 1988 | 18721 | 18722 | 24 | 22 | 12,80 |
| | 1989 | 17149 | 17150 | 21 | 20 | 12,23 |
| | $\chi^2 = 2,170$ | | $p = 0,5380$ | | | |
| WK | 1986 | 18969 | 18941 | 165 | 192 | 86,76 |
| | 1987 | 17927 | 17908 | 164 | 182 | 90,65 |
| | 1988 | 18529 | 18556 | 216 | 188 | 115,76 |
| | 1989 | 16979 | 16997 | 191 | 173 | 111,24 |
| | $\chi^2 = 11,747$ | | $p = 0,0083$ | | | |
| RT | 1986 | 19121 | 19123 | 13 | 24 | 6,79 |
| | 1987 | 18062 | 18068 | 29 | 23 | 16,03 |
| | 1988 | 18721 | 18721 | 24 | 24 | 12,80 |
| | 1989 | 17144 | 17148 | 26 | 22 | 15,14 |
| | $\chi^2 = 7,718$ | | $p = 0,0522$ | | | |

Rycina 6. Tendencje czasowe rocznych częstości wad (liczba wad/10000 urodzeń/ rok)



Różnice w częstościach rocznych wad cewy nerwowej nie wykazały znamienności statystycznej ($p = 0,54$). Niemniej podobnie jak w pozostałych grupach wad najmniejszą częstość wad cewy nerwowej stwierdzono w roku 1986 (-25,3% średniej). Różnice roczne dla grupy rozszczepów twarzoczaszki były na granicy znamienności statystycznej ($p = 0,052$). Najmniejsza częstość tych wad została zarejestrowana w roku 1986 (-46% średniej). W latach 1987 i 1989 obserwowano wzrost częstości rozszczepów twarzoczaszki (+27% i +20,3% średniej). W grupie wad kończyn średnie częstości roczne wykazały różnice znamienne statystycznie ($p = 0,008$). Stwierdzono tendencję wzrostową średnich rocznych częstości tych wad. Najniższa częstość roczna została zaobserwowana w 1986 roku (-13,8% średniej). W latach 1988 i 1989 stwierdzono wzrost częstości tych wad (+15,1% i +10,5% średniej).

Ocena wstępna trendów czasowych wad wrodzonych była oparta na rocznych liczbach urodzeń. Równania regresji liniowej częstości miesięcznej wad, współczynniki korelacji liniowej (r) oraz wyniki testów (t) Studenta i prawdopodobieństwa (p) dla testu dwustronnego zostały przedstawione w tabeli 16.

Tabela 16. Regresja liniowa częstości miesięcznych urodzeń wad wrodzonych

| Równanie regresji | r | t | p |
|-----------------------|-------|-------|--------|
| fVK = 81,809 + 0,795M | 0,430 | 3,234 | 0,0023 |
| fRT = 8,223 + 0,187M | 0,261 | 1,835 | 0,0730 |
| fVCN = 8,942 + 0,129M | 0,189 | 1,303 | 0,1991 |

Dla trzech analizowanych grup wad uzyskano dodatnie wartości współczynników korelacji liniowej. W grupie wad kończyn wartość współczynnika korelacji ($r = 0,43$) wykazała znamienność statystyczną ($p = 0,0023$). Dla grupy rozszczepów twarzoczaszki tendencja zwiększania się miesięcznych częstości tych wad w ciągu 48 miesięcy rejestracji ($r = 0,261$) wykazała graniczną znamienność statystyczną ($p > 0,07$) dla testu dwustronnego. W grupie wad cewy nerwowej zwiększanie się częstości miesięcznej tych wad ($r = 0,189$) nie wykazało znamienności statystycznej.

Współczynniki korelacji nieparametrycznej (τ) były zgodne z wynikami regresji liniowej. Dla grupy wad kończyn współczynnik korelacji jednoznacznie wskazywał na ogólną tendencję wzrostową w częstościach miesięcznych tych wad ($\tau = 0,285$) przy dużej znamienności korelacji ($p = 0,002$). Dla grupy rozszczepów twarzoczaszki potwierdzono obecność tendencji do zwiększania się częstości miesięcznych tych wad ($\tau = 0,177$), uzyskując znamienność statystyczną korelacji ($p = 0,038$). Miesięczne częstości wad cewy nerwowej wykazały współczynnik korelacji nieparametrycznej świadczący o nieznacznym ich wzroście w analizowanym okresie 48 miesięcy ($\tau = 0,149$), poziom ufności współczynnika korelacji nie wykazał znamienności statystycznej ($p = 0,069$).

3. Analiza skupisk wad wrodzonych

Stwierdzenie skupisk (klastrow) wad wrodzonych jest pomocne w odpowiednim ukierunkowaniu dochodzenia epidemiologicznego. Obserwacja wyraźnych skupisk przestrzennych sugeruje możliwość oddziaływania stałego czynnika środowiskowego lub, przy zróżnicowanej geograficznie populacji także czynnika genetycznego w postaci wsobności. Stwierdzenie skupisk przestrzenno-czasowych zwraca uwagę na zmienne w czasie czynniki środowiskowe, a w przypadku obserwacji przemieszczania się skupisk budzi podejrzenie etiologii zakaźnej. Ponieważ dysponowano danymi przestrzennymi przypadków wad w postaci współrzędnych geograficznych miejsca zamieszkania rodziców oraz

datą urodzenia dziecka z wadą podjęto próbę analizy skupisk przestrzennych oraz przestrzenno-czasowych.

W tabeli 17 zostały przedstawione skupiska analizowanych wad. Dla wad cewy nerwowej i rozszczepów twarzoczaszki podano skupiska o liczebności co najmniej 4 przypadków, a dla wad kończyn skupiska o liczebności większej od 5 przypadków.

Tabela 17. Skupiska przestrzenne i przestrzenno-czasowe wad wrodzonych

| Centrum skupiska | Powierzchnia skupiska (km ²) | Czas wystąpienia skupiska | Czas trwania (tyg) | Liczebność skupiska |
|---------------------------------|--|---------------------------|--------------------|---------------------|
| Wady cewy nerwowej | | | | |
| Kraków ul.Lublańska | 2,2 | - | - | 6 |
| Kraków os.Dywizjonu 303 | 1,1 | - | - | 6 |
| Kraków ul.Zubrzyckiego | 2,5 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Makowskiego | 2,9 | - | - | 5 |
| Kr-NH os.Kościuszkowskie | 4,3 | grudzień 86 | 16 | 4 |
| Kr-NH os.Kalinowe | 18,8 | lipiec 87 | 13 | 4 |
| Kraków ul.Spółdzielców | 32,0 | październik 87 | 5 | 4 |
| Kraków Rynek Podgórski | 13,9 | październik 88 | 30 | 5 |
| Kraków ul.Rakowicka | 13,0 | maj 89 | 7 | 4 |
| Kr-NH al.Planu 6-letniego | 4,3 | wrzesień 89 | 26 | 4 |
| Rozszczepy twarzoczaszki | | | | |
| Kr-NH os.Kościuszkowskie | 11,9 | - | - | 19 |
| Kraków ul.Friedlaina | 2,2 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Zwierzyniecka | 16,3 | styczeń 88 | 15 | 4 |
| Kr-NH os.Górali | 10,8 | maj 88 | 9 | 4 |
| Kraków ul.Barska | 26 | lipiec 88 | 18 | 4 |
| Kraków ul.Józefińska | 15,9 | czerwiec 89 | 19 | 4 |
| Kr-NH os.Złoty Wiek | 85,9 | październik 89 | 6 | 4 |
| Wady kończyn | | | | |
| Skawina | <4 | - | - | 19 |
| Myślenice | <4 | - | - | 16 |
| Proszowice | 1,4 | - | - | 14 |
| Grębałów | 0,7 | - | - | 13 |
| Kraków ul.Lilii Wenedy | 0,4 | - | - | 10 |
| Dobczyce | 0,7 | - | - | 9 |
| Mogilany-Konary | 4,5 | - | - | 9 |
| Dobczyce-Nowa Wieś | 3,6 | - | - | 9 |
| Siepraw | 1,1 | - | - | 8 |
| Kraków ul.Młyńska | 0,4 | - | - | 7 |
| Gdów | 14 | - | - | 7 |
| Wieliczka | <4 | - | - | 6 |
| Kraków ul.Okólna | 0,7 | - | - | 6 |
| Kraków ul.Budryka | 0,4 | - | - | 6 |

Tabela 17, cd.

| Centrum skupiska | Powierzchnia skupiska (km ²) | Czas wystąpienia skupiska | Czas trwania (tyg) | Liczebność skupiska |
|----------------------------|--|---------------------------|--------------------|---------------------|
| Kraków ul.Bronowicka | 5,8 | - | - | 6 |
| Kr-NH os Spółdzielcze | 0,7 | - | - | 6 |
| Kraków ul.Krakusa | 0,7 | - | - | 6 |
| Posadza-Proszowice | 13,2 | - | - | 6 |
| Kraków ul.Kluczborska | 0,4 | - | - | 6 |
| Trzebinia | <4 | - | - | 6 |
| Sułkowice | <4 | - | - | 6 |
| Kraków ul.Gnieźnieńska | 0,7 | - | - | 6 |
| Kraków ul.Kombatantów | 0,4 | - | - | 6 |
| Kraków ul.Kordiana | 0,4 | - | - | 6 |
| Kr-NH os.Centrum C | 0,7 | - | - | 6 |
| Kraków ul.Telimeny | 0,4 | - | - | 5 |
| Wieliczka-Zabawa | 0,6 | - | - | 5 |
| Kr-NH os.Kościuszkowskie | 0,7 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Kobyłańskiego | 0,7 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Heleny | 0,4 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Pietruchy | 0,5 | - | - | 5 |
| Szczytniki-Ostrów | 10,8 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Kutrzeby | 0,4 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Skotnicka | 1,4 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Smoleńsk | 0,4 | - | - | 5 |
| Sulików-Wieliczka | 3,4 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Piastowska | 0,5 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Józefińska | 0,5 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Tuchowska | 0,4 | - | - | 5 |
| Kr-NH os.II Pułku Lotnicz. | 0,7 | - | - | 5 |
| Kr-NH os.Złoty Wiek | 0,7 | - | - | 5 |
| Kraków ul.Dwernickiego | 0,4 | - | - | 5 |
| Kr-NH os.Sportowe | 8,7 | czerwiec 86 | 7 | 5 |
| Piotrkowice-Koniusza | 39,9 | listopad 86 | 15 | 5 |
| Kraków ul.Siewna | 32,9 | styczeń 87 | 5 | 5 |
| Proszowice | 75,8 | marzec 87 | 7 | 5 |
| Kr-NH os.Kazimierzowskie | 12,6 | marzec 87 | 7 | 6 |
| Kraków ul.Jaremy | 5,1 | marzec 87 | 8 | 5 |
| Kraków ul.Traktorzystów | 29,8 | maj 87 | 7 | 5 |
| Rajsko | 21,7 | sierpień 87 | 18 | 6 |
| Kraków ul.Pstrowskiego | 11,6 | listopad 87 | 8 | 7 |
| Glewiec-Koniusza | 36,8 | listopad 87 | 19 | 6 |
| Kraków ul.Kluzeka | 16,4 | listopad 87 | 3 | 5 |
| Kraków ul.Krowoderska | 22,7 | styczeń 88 | 9 | 11 |
| Kraków ul.Orawska | 25,8 | marzec 88 | 7 | 6 |
| Kr-NH os.Kolorowe | 26 | kwiecień 88 | 8 | 7 |
| Kraków ul.Miłkowskiego | 19,9 | maj 88 | 6 | 6 |

Tabela 17, cd.

| Centrum skupiska | Powierzchnia skupiska (km ²) | Czas wystąpienia skupiska | Czas trwania (tyg) | Liczebność skupiska |
|--------------------------|--|---------------------------|--------------------|---------------------|
| Kraków ul.Kordiana | 3,3 | lipiec 88 | 8 | 7 |
| Kr-NH os.Krakowiaków | 11,4 | lipiec 88 | 9 | 9 |
| Kraków ul.Wallenroda | 2,7 | sierpień 88 | 8 | 5 |
| Kraków ul.Smoleńsk | 8,7 | sierpień 88 | 5 | 5 |
| Kr-NH os.Kazimierzowskie | 12,6 | styczeń 89 | 7 | 5 |
| Kraków ul.Wystouchów | 5,4 | styczeń 89 | 3 | 5 |
| Kraków ul.Wrocławska | 13,9 | marzec 89 | 6 | 6 |
| Kr-NH os.Kościuszkowskie | 8,7 | maj 89 | 6 | 5 |
| Pieczonogi | 55,6 | sierpień 89 | 19 | 6 |
| Kraków ul.Dwernickiego | 11,4 | wrzesień 89 | 5 | 5 |
| Kraków ul.Spółdzielców | 8,7 | wrzesień 89 | 8 | 8 |
| Kraków ul.Gnieźnieńska | 32,8 | październik 89 | 5 | 5 |
| Kr-NH os.Na Lotniku | 3,8 | grudzień 89 | 5 | 5 |

Skupiska geograficzne zostały podane według liczebności przypadków, skupiska przestrzenno-czasowe według daty środka skupiska. Powierzchnia skupiska została oszacowana na podstawie powierzchni najmniejszego prostokąta, w który można wpisać współrzędne przypadków wad. Czas trwania skupiska oznacza przedział czasu w tygodniach, w którym urodziły się dzieci z wadami w danym skupisku.

Około 25% dzieci urodzonych z wadą cewy nerwowej lub rozszczepem twarzoczaszki oraz 39% dzieci z wadą kończyn mieszkało na terenie, gdzie w ciągu czteroletniej analizy wystąpiły co najmniej cztery inne przypadki tej samej wady. Łączny obszar skupisk przestrzennych wad cewy nerwowej ($n = 4$) stanowił 0,2% powierzchni województwa krakowskiego, Dla rozszczepów twarzoczaszki powierzchnia skupisk liczących co najmniej 5 przypadków wady ($n = 2$) wyniosła 0,4% a dla wad kończyn ($n = 42$) 2,9% powierzchni województwa. Po uwzględnieniu daty urodzenia dziecka z wadą w analogicznych skupiskach czasowo-przestrzennych liczących więcej niż 3 przypadki wad stwierdzono wystąpienie 28% wad cewy nerwowej ($n = 6$), 21% rozszczepów twarzoczaszki ($n = 5$) i 23% wad kończyn ($n = 28$). Średnia powierzchnia skupisk czasowo-przestrzennych była 10-krotnie większa od powierzchni skupisk przestrzennych. Czas, jaki upłynął między urodzeniem pierwszego a urodzeniem ostatniego dziecka z wadą

wyniósł dla skupisk wad cewy nerwowej średnio 16 tygodni, dla rozszczepów twarzoczaszki 13 tygodni, a dla wad kończyn 8 tygodni.

3.1. Skupiska przestrzenno-czasowe po awarii reaktora w Czarnobylu

Emisja substancji promieniotwórczych do atmosfery w wyniku awarii elektrowni atomowej w Czarnobylu w dniu 26 kwietnia 1986 roku trwała około 10 dni. Opad radioaktywny rozprzestrzeniany był z wiatrem na terenie Polski południowej do połowy maja 1986. Głównym źródłem skażenia promieniotwórczego były izotopy jodu (I^{131}) o kilkunastodniowym okresie półtrwania oraz cezu (Cs^{137}) o wieloletnim okresie rozpadu. Opad promieniotwórczy wykazywał zjawisko lokalnej koncentracji w wyniku osadzania się z deszczem. Pomiar skażenia promieniotwórczego prowadzone na terenie województwa krakowskiego udokumentowały bardzo zróżnicowany geograficznie charakter opadu (42), mający związek z lokalnymi warunkami meteorologicznymi.

Algorytm skupisk wykorzystany do grupowania przypadków wad na podstawie parametrów przestrzenno-czasowych posłużył do testowania grupy hipotez mówiących o wzroście częstości wad wrodzonych w związku z awarią elektrowni atomowej w Czarnobylu. Ze względu na krótki okres rozpadu nuklidów stanowiących główne źródło skażenia promieniotwórczego można przyjąć, że ich efekt teratogeny mógł być ograniczony w czasie do kilku tygodni począwszy od emisji do atmosfery 28 kwietnia 1986, oraz do stosunkowo niewielkich obszarów geograficznych, na których nastąpił opad. Wyróżniono zatem dwie grupy porównawcze dla każdej z wad wrodzonych. Zestawiono liczebności wad wrodzonych, w przypadku których skażenie promieniotwórcze pokrywało się w czasie z okresem wczesnej ciąży (embriogenezy) - grupa ryzyka, z liczebnościami tych wad rejestrowanymi bezpośrednio przed skażeniem - grupa kontrolna. Ponieważ posiadano jedynie informacje dotyczące daty urodzenia przypadków wad, przyjęto dwumiesięczny margines oszacowania okresu embriogenezy, uwzględniając krótszy czas trwania ciąży dla niektórych wad (bezmózgowie). Daty urodzeń przypadków wad zaliczonych do grupy ryzyka mieściły się w przedziale od 1 września 1986 do 31 maja 1987, natomiast dla grupy kontrolnej w okresie od 1 stycznia do 31 sierpnia 86. Testowane liczebności były klasyfikowane na podstawie wystąpienia przypadku w skupisku przestrzenno-czasowym (co najmniej 2 przypadki o zbliżonych współrzędnych geograficznych i dacie urodzenia) albo wystąpienia przypadku izolowanego w danym obszarze i czasie. Jako hipotezę zerową

przyjęto brak różnic w liczebnościach klas dla wad zliczonych w skupiskach przestrzenno-czasowych oraz wad pojedynczych pomiędzy grupą ryzyka a grupą kontrolną. Weryfikacja hipotezy zerowej została dokonana przy pomocy testu χ^2 (z poprawką Yates'a) lub testu Fishera (jeśli liczebność klasy była mniejsza od 5). Obliczenia zostały przeprowadzone dla każdej z 3 grup wad oraz dla łączonych grup wad. Zestawienia liczbowe klas oraz wyniki testów zostały zamieszczone w tabeli 18.

Tabela 18. Testy rozkładu przestrzenno-czasowego wad wrodzonych przed i po awarii reaktora w Czarnobylu

| Skupiska przestrzenno-czasowe | | |
|--|----------------|------------|
| Wady cewy nerwowej | | |
| | nie w skupisku | w skupisku |
| urodzone 01-09.86 | 6 | 3 |
| urodzone 10.86-05.87 | 6 | 13 |
| p = 0,09 (test Fishera) | | |
| Rozszczepy twarzoczaszki | | |
| | nie w skupisku | w skupisku |
| urodzone 01-09.86 | 4 | 2 |
| urodzone 10.86-05.87 | 6 | 18 |
| p = 0,08 (test Fishera) | | |
| Wady cewy nerwowej i rozszczepy twarzoczaszki | | |
| | nie w skupisku | w skupisku |
| urodzone 01-09.86 | 10 | 5 |
| urodzone 10.86-05.87 | 12 | 31 |
| p = 0,008 (test Fishera) | | |
| Wady kończyn | | |
| | nie w skupisku | w skupisku |
| urodzone 01-09.86 | 71 | 46 |
| urodzone 10.86-05.87 | 21 | 102 |
| $\chi^2 = 48,2$ p<0,0001 | | |
| Analizowane grupy wad łącznie | | |
| | nie w skupisku | w skupisku |
| urodzone 01-09.86 | 81 | 51 |
| urodzone 10.86-05.87 | 33 | 133 |
| $\chi^2 = 53,6$ p<0,0001 | | |

Tabela 18, cd.

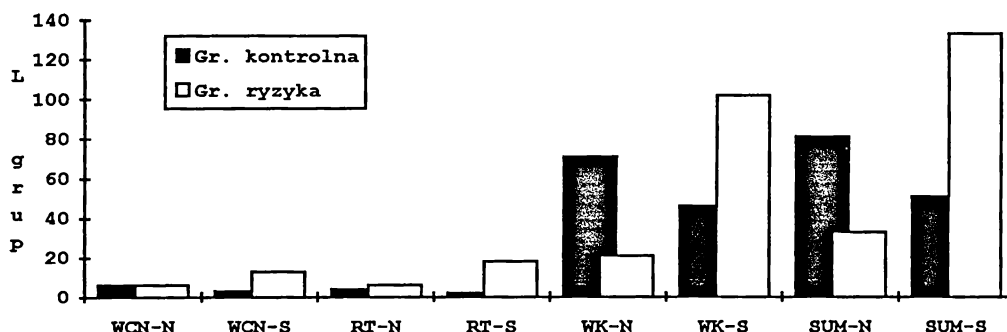
| Skupiska przestrzenne | | |
|--|----------------|----------------|
| Wady cewy nerwowej | | |
| | nie w skupisku | w skupisku |
| urodzone 01-09.86 | 2 | 7 |
| urodzone 10.86-05.87 | 3 | 16 |
| p = 0,5 (test Fishera) | | |
| Rozszczepy twarzoczaszki | | |
| | nie w skupisku | w skupisku |
| urodzone 01-09.86 | 1 | 5 |
| urodzone 10.86-05.87 | 3 | 21 |
| p = 0,6 (test Fishera) | | |
| Wady cewy nerwowej i rozszczepy twarzoczaszki | | |
| | nie w skupisku | w skupisku |
| urodzone 01-09.86 | 3 | 12 |
| urodzone 10.86-05.87 | 6 | 37 |
| p = 0,6 (test Fishera) | | |
| Wady kończyn | | |
| | nie w skupisku | w skupisku |
| urodzone 01-09.86 | 10 | 107 |
| urodzone 10.86-05.87 | 11 | 112 |
| $\chi^2 = 0,01$ | | p = 0,9 |
| Analizowane grupy wad łącznie | | |
| | nie w skupisku | w skupisku |
| urodzone 01-09.86 | 13 | 119 |
| urodzone 10.86-05.87 | 17 | 149 |
| $\chi^2 = 0,01$ | | p = 0,9 |

WCN - wady cewy nerwowej; RT - rozszczepy twarzoczaszki; WK - wady kończyn; SUM - wady łącznie; N - liczba przypadków poza skupiskami; S - liczba przypadków w skupiskach przestrzenno-czasowych

Dla weryfikacji poprawności rozumowania została również przeprowadzona analiza skupisk przestrzennych wad. W drugiej części tabeli 18 przedstawiono zestawienia liczebności klas oraz wyniki testów dla skupisk przestrzennych wad wrodzonych. Skupiska przestrzenne wyróżnione na podstawie współrzędnych geograficznych zamieszkania nie powinny zawierać przypadków wad mających związek epidemiologiczny z krótko działającym czynnikiem ryzyka. Dla tej grupy hipotez oczekiwano losowego rozkładu liczebności wad w odpowiednich klasach grup ryzyka i kontrolnej.

Uzyskana w łącznym zestawieniu 3 grup wad wartość statystyki ($\chi^2 = 53,6$; $p < 0,0001$) pozwala przyjąć, że w grupie ryzyka, dla której okres embriogenezy był w związku czasowym ze skażeniem promieniotwórczym wystąpił odmienny rozkład liczby przypadków, niż w grupie kontrolnej (rycina 7). Stwierdzono znamienne częstsze współistnienie przypadków wad wrodzonych w skupiskach przestrzenno-czasowych. Znamienne różnice statystyczne obserwowano również w łącznym zestawieniu wad cewy nerwowej i rozszczepów twarzoczaszki ($p = 0,008$) oraz w grupie wad kończyn ($p < 0,0001$). Dla wad cewy nerwowej ($p = 0,09$) i rozszczepów twarzoczaszki ($p = 0,08$) nie wykazano znamienności statystycznej różnic, niemniej podobnie jak w pozostałych analizowanych grupach wad grupa ryzyka charakteryzowała się częstszym występowaniem przypadków wad w skupiskach.

Rycina 7. Wady wrodzone w skupiskach przestrzenno-czasowych przed i po awarii atomowej w Czarnobylu



W żadnej z analiz skupisk przestrzennych nie stwierdzono znamienności statystycznej. Losowy rozkład liczebności w klasach wad należących do skupisk przestrzennych był oczekiwany i tłumaczy się faktem, że przypisanie wady do skupiska przestrzennego zostało dokonane jedynie na podstawie współrzędnych geograficznych. Skupiska przestrzenne nie miały wymiaru "czasu", a daty urodzeń dzieci z wadami, zliczonymi do skupisk przestrzennych, które były podstawą klasyfikacji do grupy ryzyka i kontrolnej, miały w każdym ze skupisk przestrzennych rozkład losowy. Skupiska przestrzenne mogły zawierać przypadki wad o datach urodzenia dzieci należących do obu testowanych grup, co przejawiało się wynikami testów statystycznych nie pozwalającymi odrzucić hipotezy zerowej.

4. Wyniki pomiarów opadu atmosferycznego metali ciężkich i fluoru

Pomiar opadu atmosferycznego metali ciężkich miał charakter punktowy oraz kumulacyjny. W obranej siatce badawczej nierównomierne rozmieszczenie punktów pomiarowych oraz ich umiarkowana liczba nie pozwoliły na posługiwanie się wartościami uśrednionymi opadu we wszystkich sektorach. Kwartalny cykl zbierania próbek opadu atmosferycznego sprawił, że niemożliwe było przeprowadzenie analizy zmienności czasowej opadu w sposób podobny jak w przypadku wad wrodzonych. Średnie trzyletnie opadu metali ciężkich w sektorach pomiarowych zostały przedstawione w tabeli 19.

Tabela 19. Średnie trzyletnie (1986-1989) opadu metali ciężkich i fluoru w sektorach pomiarowych (kg/km²/rok). Część 1

| N sektora | Cd | rCd | Cr | rCr | Ni | rN | Pb | rPb |
|-----------|------|------|-------|------|------|------|-------|-------|
| 5 | 1,44 | 1,29 | 18,6 | 6,13 | 5,14 | 3,64 | 43,00 | 39,56 |
| 16 | 1,60 | 1,45 | 4,99 | 2,68 | 5,11 | 3,60 | 39,53 | 35,35 |
| 23 | 0,97 | 0,80 | 5,16 | 2,53 | 4,76 | 2,84 | 33,39 | 29,17 |
| 24 | 0,95 | 0,84 | 6,35 | 2,94 | 5,05 | 3,40 | 32,69 | 30,10 |
| 28 | 1,30 | 1,16 | 2,81 | 1,53 | 3,60 | 2,49 | 35,47 | 34,18 |
| 33 | 1,01 | 0,86 | 5,14 | 2,13 | 6,00 | 2,93 | 32,75 | 27,28 |
| 34 | 1,06 | 0,93 | 6,05 | 3,38 | 8,44 | 5,62 | 34,73 | 29,95 |
| 35 | 1,09 | 0,96 | 9,50 | 3,56 | 5,55 | 3,25 | 33,61 | 29,30 |
| 36 | 0,91 | 0,76 | 4,89 | 2,25 | 3,66 | 2,19 | 42,25 | 25,28 |
| 37 | 1,39 | 1,20 | 3,98 | 1,54 | 8,05 | 2,50 | 44,50 | 39,48 |
| 38 | 0,93 | 0,83 | 2,95 | 1,50 | 4,50 | 3,50 | 28,89 | 29,02 |
| 41 | 0,91 | 0,79 | 3,20 | 1,44 | 3,81 | 2,17 | 26,95 | 23,98 |
| 43 | 0,98 | 0,89 | 6,31 | 2,23 | 4,61 | 2,61 | 33,33 | 29,83 |
| 44 | 1,14 | 1,00 | 6,98 | 2,75 | 6,38 | 3,50 | 38,63 | 34,46 |
| 45 | 1,17 | 1,02 | 8,26 | 3,57 | 5,97 | 3,42 | 47,19 | 41,78 |
| 46 | 0,76 | 0,64 | 4,60 | 2,41 | 4,34 | 2,86 | 26,89 | 23,07 |
| 49 | 0,97 | 0,85 | 3,53 | 1,91 | 4,00 | 2,58 | 31,27 | 28,12 |
| 53 | 0,60 | 0,48 | 4,07 | 2,02 | 4,34 | 2,22 | 27,56 | 23,04 |
| 54 | 1,05 | 0,91 | 7,16 | 3,65 | 6,96 | 4,06 | 41,83 | 38,35 |
| 55 | 1,46 | 1,26 | 11,34 | 4,20 | 6,16 | 3,09 | 51,63 | 45,10 |
| 57 | 0,97 | 0,77 | 4,32 | 2,11 | 4,13 | 2,63 | 54,99 | 29,64 |
| 62 | 0,54 | 0,47 | 3,16 | 1,77 | 2,89 | 2,10 | 22,69 | 18,62 |
| 64 | 1,09 | 0,80 | 5,18 | 2,06 | 4,89 | 2,22 | 45,74 | 39,23 |
| 65 | 2,63 | 2,17 | 14,48 | 6,86 | 9,41 | 5,20 | 71,85 | 65,58 |
| 66 | 0,84 | 0,73 | 4,99 | 1,97 | 3,90 | 2,35 | 25,50 | 23,00 |
| 74 | 0,97 | 0,75 | 3,98 | 1,68 | 3,35 | 2,19 | 29,83 | 25,85 |
| 75 | 1,30 | 1,06 | 5,61 | 2,54 | 5,91 | 2,92 | 34,02 | 29,91 |
| 85 | 0,86 | 0,71 | 3,29 | 1,42 | 3,43 | 2,37 | 26,65 | 22,98 |
| 86 | 1,33 | 1,18 | 4,06 | 1,74 | 4,06 | 2,40 | 28,28 | 24,45 |
| 96 | 0,74 | 0,62 | 3,58 | 1,50 | 4,05 | 2,37 | 24,61 | 20,97 |

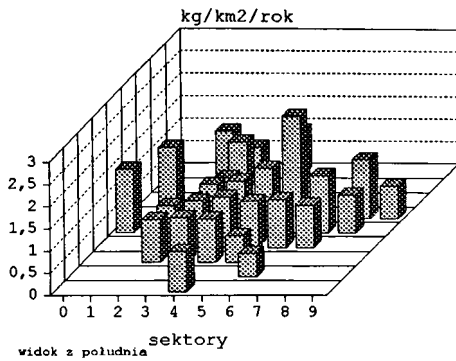
Tabela 19. Część 2.

| N sektora | Fe | rFe | Zn | rZn | Cu | rCu | F | rF |
|-----------|---------|----------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|
| 5 | 1910,55 | 402,58 | 288,98 | 267,15 | 29,95 | 27,02 | 116,58 | 68,50 |
| 16 | 2568,18 | 695,87 | 314,22 | 285,47 | 31,12 | 26,27 | 155,30 | 96,05 |
| 23 | 2428,86 | 14632,19 | 346,37 | 308,86 | 56,17 | 51,08 | 124,43 | 74,11 |
| 24 | 2406,20 | 573,76 | 270,36 | 253,32 | 27,27 | 34,35 | 128,92 | 84,82 |
| 28 | 1477,04 | 298,00 | 137,66 | 122,45 | 11,29 | 9,17 | 113,75 | 67,62 |
| 33 | 2565,81 | 484,53 | 207,85 | 182,71 | 46,13 | 39,88 | 149,85 | 103,66 |
| 34 | 2529,03 | 608,08 | 294,43 | 263,93 | 55,21 | 49,86 | 164,19 | 99,39 |
| 35 | 3962,71 | 642,72 | 279,04 | 246,73 | 27,66 | 23,31 | 144,98 | 102,38 |
| 36 | 2997,68 | 358,27 | 192,65 | 144,59 | 27,70 | 23,66 | 108,23 | 74,80 |
| 37 | 3074,35 | 446,82 | 199,74 | 168,07 | 20,24 | 15,16 | 116,98 | 81,74 |
| 38 | 1197,43 | 292,77 | 173,37 | 159,28 | 19,26 | 16,22 | 97,68 | 67,10 |
| 41 | 1886,46 | 269,29 | 381,15 | 356,24 | 43,83 | 39,56 | 90,96 | 48,99 |
| 43 | 2365,18 | 436,47 | 267,89 | 247,06 | 33,09 | 27,69 | 162,68 | 111,64 |
| 44 | 4192,18 | 1349,81 | 357,68 | 323,22 | 83,44 | 74,69 | 280,92 | 124,23 |
| 45 | 6616,16 | 1009,10 | 366,91 | 313,70 | 38,96 | 32,33 | 217,91 | 138,35 |
| 46 | 3190,63 | 488,42 | 186,22 | 167,45 | 34,01 | 30,29 | 98,84 | 53,99 |
| 49 | 2212,10 | 377,48 | 199,06 | 177,47 | 17,62 | 14,87 | 111,51 | 73,02 |
| 53 | 2069,53 | 388,06 | 200,33 | 189,00 | 16,17 | 12,69 | 131,32 | 94,89 |
| 54 | 3898,83 | 722,28 | 313,62 | 285,45 | 62,10 | 56,07 | 212,97 | 151,64 |
| 55 | 10668,7 | 1339,79 | 503,11 | 420,40 | 59,79 | 53,17 | 245,89 | 139,20 |
| 57 | 3910,82 | 1445,95 | 261,42 | 204,51 | 30,40 | 24,79 | 113,60 | 74,92 |
| 62 | 1341,23 | 257,82 | 142,38 | 131,10 | 21,01 | 18,14 | 72,64 | 47,08 |
| 64 | 4138,72 | 742,43 | 263,14 | 225,35 | 43,61 | 36,17 | 196,00 | 148,41 |
| 65 | 29073,3 | 3150,95 | 910,70 | 840,47 | 56,30 | 50,16 | 305,91 | 147,28 |
| 66 | 3416,62 | 459,86 | 209,09 | 177,31 | 13,86 | 12,08 | 119,31 | 65,95 |
| 74 | 2663,53 | 598,56 | 182,71 | 158,47 | 30,29 | 24,47 | 152,57 | 96,13 |
| 75 | 6008,14 | 615,45 | 324,74 | 278,42 | 32,89 | 26,90 | 166,07 | 93,34 |
| 85 | 3501,29 | 345,55 | 198,29 | 183,85 | 10,34 | 7,96 | 104,39 | 75,53 |
| 86 | 4255,83 | 399,72 | 151,80 | 127,44 | 12,41 | 9,16 | 134,51 | 98,06 |
| 96 | 6362,09 | 474,38 | 172,18 | 150,50 | 19,07 | 17,26 | 119,37 | 78,48 |

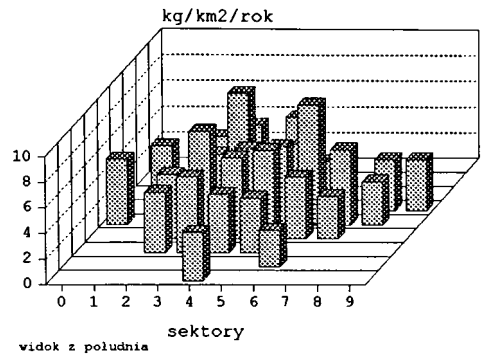
N. sektora - numer sektora zawierającego stanowiska pomiarowe, (r)Cd - kadm i frakcja rozpuszczalna kadmu, Cr - chrom, Ni - nikiel, Pb - ołów, Fe - żelazo, Zn - cynk, Cu - miedź, F - fluor. Frakcja rozpuszczalna metali (r) była oznaczana po rozpuszczeniu osadu w 1N HCl, frakcja rozpuszczalna fluoru (rF) - po reakcji z 1N NaOH

Zróznicowanie przestrzenne średniego opadu trzyletniego w sektorach zawierających stanowiska pomiarowe przedstawiono dla każdego z pierwiastków na rycinach 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 i 15.

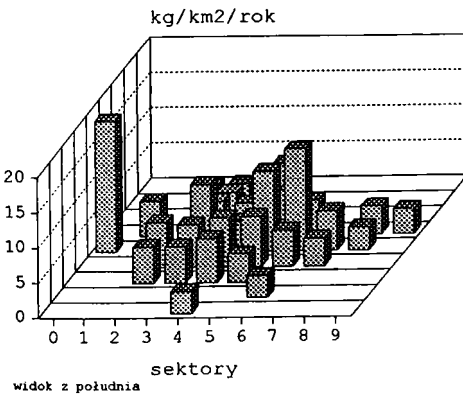
Rycina 8. Przestrzenne zróżnicowanie opadu **kadm**, średnia opadu w sektorach



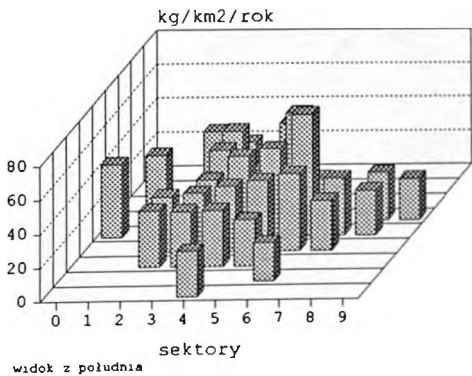
Rycina 10. Przestrzenne zróżnicowanie opadu **niklu**, średnia opadu w sektorach



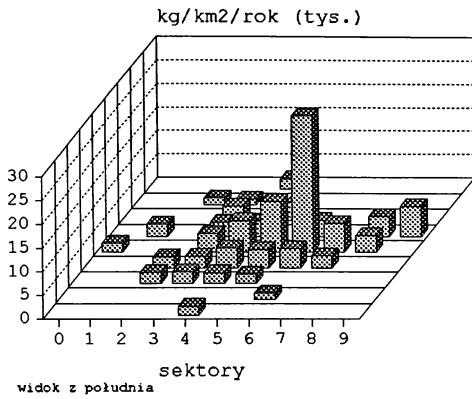
Rycina 9. Przestrzenne zróżnicowanie opadu **chromu**, średnia opadu w sektorach



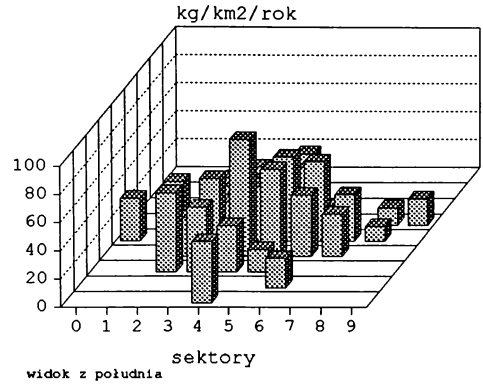
Rycina 11. Przestrzenne zróżnicowanie opadu **ołowiu**, średnia opadu w sektorach



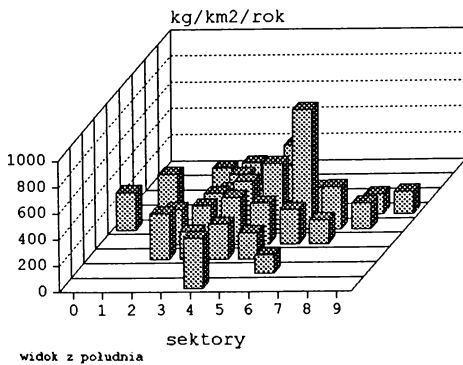
Rycina 12. Przestrzenne zróżnicowanie opadu **żelaza**, średnia opadu w sektorach



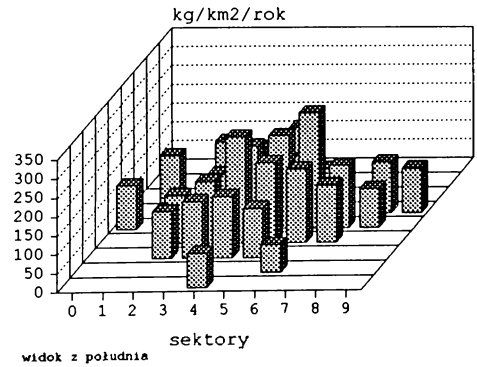
Rycina 14. Przestrzenne zróżnicowanie opadu **miedzi**, średnia opadu w sektorach



Rycina 13. Przestrzenne zróżnicowanie opadu **cynku**, średnia opadu w sektorach



Rycina 15. Przestrzenne zróżnicowanie opadu **fluoru**, średnia opadu w sektorach



4.1. Sezonowość opadu metali ciężkich i fluoru

W tabeli 20 zestawiono liczebności pomiarów w poszczególnych kwartałach kalendarzowych, arytmetyczne średnie kwartalne opadu oraz wartość statystyki i prawdopodobieństwa testu Kruskala-Wallisa.

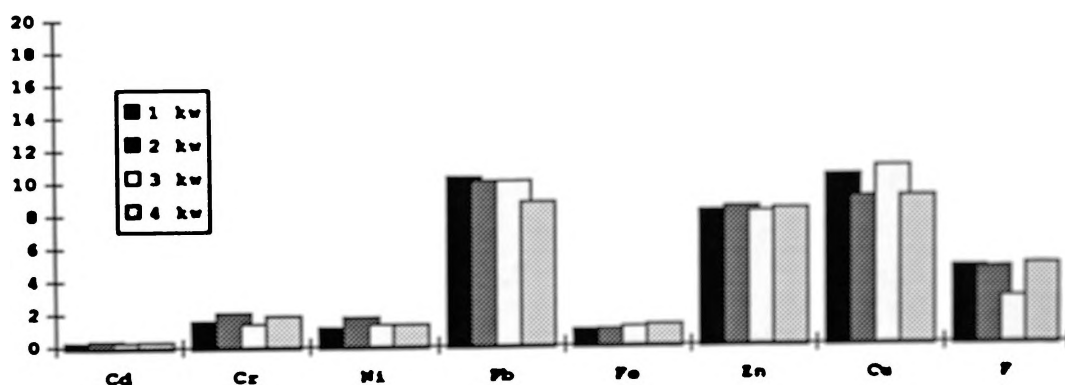
Tabela 20. Opad kwartalny metali ciężkich i fluoru. Średnie arytmetyczne opadu pierwiastków w kwartałach kalendarzowych oraz nieparametryczna analiza wariancji opadu kwartalnego pierwiastków testem Kruskala-Wallisa

| Liczba pomiarów | | | | Średnie kwartalne opadu w kg/km ² | | |
|-----------------|------|------|------|--|--|--|
| 1 kw | 2 kw | 3 kw | 4 kw | | | |
| 200 | 156 | 156 | 152 | | | |

| Pierwiastek | 1 kw | 2 kw | 3 kw | 4 kw | KW | p |
|-------------|---------|---------|----------|----------|--------|---------|
| Kadm | 0,249 | 0,355 | 0,298 | 0,318 | 74,015 | <0,0001 |
| Chrom | 1,601 | 2,088 | 1,402 | 1,904 | 49,239 | <0,0001 |
| Nikiel | 1,137 | 1,757 | 1,329 | 1,324 | 43,415 | <0,0001 |
| Ołów | 10,29 | 10,071 | 10,086 | 8,795 | 24,794 | <0,0001 |
| Żelazo | 946,778 | 991,291 | 1166,445 | 1264,703 | 15,710 | 0,0013 |
| Cynk | 82,425 | 84,581 | 81,628 | 83,347 | 4,114 | 0,2495 |
| Miedź | 10,387 | 9,054 | 10,902 | 9,023 | 2,897 | 0,4408 |
| Fluor | 47,029 | 46,157 | 28,247 | 48,149 | 89,124 | <0,0001 |

KW - statystyka testu Kruskal-Wallisa skorygowana dla powiązań, 3 stopnie swobody, p - poziom ufności statystyki KW

Rycina 16. Średni opad pierwiastków w kwartałach kalendarzowych



Opad kadmu (Cd), chromu (Cr), niklu (Ni) i miedzi (Cu) podano w kg/km²/kwartał; opad ołowiu (Pb), cynku (Zn) i fluoru (F) podano w 10kg/km²/kwartał; opad żelaza podano w 1000kg/km²/kwartał.

Dla większości analizowanych pierwiastków wykazano znamienne statystycznie różnice sezonowe w ilości opadu atmosferycznego. Najniższe ilości opadu były rejestrowane w pierwszym kwartale kalendarzowym dla kadmu, niklu i żelaza (Cd, Ni, Fe), w trzecim kwartale dla chromu, cynku i fluoru (Cr, Zn, F) a dla miedzi i ołowiu (Cu, Pb) w czwartym kwartale (rycina 16). Maksymalne ilości opadu stwierdzono w drugim kwartale kalendarzowym dla kadmu, chromu, niklu i cynku (Cd, Cr, Ni, Zn), w czwartym kwartale dla żelaza i fluoru (Fe, F) w pierwszym kwartale dla ołowiu (Pb) i trzecim kwartale dla miedzi (Cu). Analiza wariancji wykazała znamienność statystyczną różnic w pomiarach z kwartałów kalendarzowych dla większości pierwiastków z wyjątkiem cynku i miedzi. Porównania międzykwartałne opadu atmosferycznego pierwiastków zostały przeprowadzone przy użyciu testu rang Wilcoxona. Wyniki tych porównań wraz z poziomami ufności przedstawiono w tabeli 21.

Tabela 21. Opad kwartalny metali ciężkich i fluoru. Znamienności statystyczne różnic w opadach kwartalnych - porównania średnich rang testem Wilcoxona

| Kadm | | | | |
|---------|---|---------|---------|-------|
| Kwartał | | 1 | 2 | 3 |
| Ru-Rv | 2 | 173,27 | | |
| p | | <0,0001 | | |
| Ru-Rv | 3 | 84,74 | -88,53 | |
| p | | 0,0004 | 0,0006 | |
| Ru-Rv | 4 | 105,06 | -68,21 | 20,32 |
| p | | <0,0001 | 0,0218 | NZ |
| Chrom | | | | |
| Kwartał | | 1 | 2 | 3 |
| Ru-Rv | 2 | 121,01 | | |
| p | | <0,0001 | | |
| Ru-Rv | 3 | -14,33 | -135,34 | |
| p | | NZ | <0,0001 | |
| Ru-Rv | 4 | 14,88 | -106,13 | 29,21 |
| p | | NZ | <0,0001 | NZ |

Tabela 21, cd.

| Nikiel | | | | |
|---------|---|---------|---------|---------|
| Kwartał | | 1 | 2 | 3 |
| Ru-Rv | 2 | 132,68 | | |
| p | | <0,0001 | | |
| Ru-Rv | 3 | 35,68 | -97,00 | |
| p | | NS | 0,0001 | |
| Ru-Rv | 4 | 50,97 | -81,71 | 15,29 |
| p | | 0,1626 | 0,0022 | NZ |
| Ołów | | | | |
| Kwartał | | 1 | 2 | 3 |
| Ru-Rv | 2 | 71,27 | | |
| p | | 0,0061 | | |
| Ru-Rv | 3 | 62,25 | -9,03 | |
| p | | 0,0287 | NZ | |
| Ru-Rv | 4 | -14,96 | -86,23 | -77,20 |
| p | | NZ | 0,0010 | 0,0050 |
| żelazo | | | | |
| Kwartał | | 1 | 2 | 3 |
| Ru-Rv | 2 | 6,77 | | |
| p | | NZ | | |
| Ru-Rv | 3 | 40,21 | 33,44 | |
| p | | NZ | NZ | |
| Ru-Rv | 4 | 74,43 | 67,66 | 34,22 |
| p | | 0,0038 | 0,0237 | NZ |
| Cynk | | | | |
| Kwartał | | 1 | 2 | 3 |
| Ru-Rv | 2 | 33,35 | | |
| p | | NZ | | |
| Ru-Rv | 3 | 24,50 | -8,85 | |
| p | | NZ | NZ | |
| Ru-Rv | 4 | 36,85 | 3,50 | 12,35 |
| p | | NZ | NZ | NZ |
| Miedź | | | | |
| Kwartał | | 1 | 2 | 3 |
| Ru-Rv | 2 | 0,51 | | |
| p | | NZ | | |
| Ru-Rv | 3 | 23,17 | 22,66 | |
| p | | NZ | NZ | |
| Ru-Rv | 4 | 26,16 | 25,66 | 2,99 |
| p | | NZ | NZ | NZ |
| Fluor | | | | |
| Kwartał | | 1 | 2 | 3 |
| Ru-Rv | 2 | 28,48 | | |
| p | | NZ | | |
| Ru-Rv | 3 | -128,87 | -157,35 | |
| p | | <0,0001 | <0,0001 | |
| Ru-Rv | 4 | 20,45 | -8,03 | 149,32 |
| p | | NZ | NZ | <0,0001 |

Ru-Rv - różnice średnich rang; p - poziom ufności statystyki dla testu dwustronnego, NZ - test nieznamienności

Największe zróżnicowanie sezonowe wykazywał opad kadmu, dla którego jedynie pomiary z trzeciego i czwartego kwartału kalendarzowego nie różniły się istotnie. Podobny profil sezonowości wykazały chrom i nikiel, ze znamienne zwiększonym opadem w drugim kwartale kalendarzowym. Zmienność sezonowa opadu ołowiu ze znamienymi różnicami pomiędzy okresem jesienno-zimowym i wiosenno-letnim w teście nieparametrycznym nie jest zauważalna na podstawie średnich arytmetycznych opadów, co wynika ze znacznej skośności rozkładu opadu ołowiu (skośność = 10,36; kurtoza = 170,9). Dla cynku i miedzi żaden z kwartałów kalendarzowych nie wykazywał istotnie różnych opadów tych pierwiastków.

4.2. Tendencje czasowe opadu atmosferycznego pierwiastków

Zestawienie średnich arytmetycznych opadu pierwiastków oraz różnic opadu w poszczególnych latach zbadanych testem Kruskala-Wallisa przedstawiono w tabeli 22.

Tabela 22. Roczny opad metali ciężkich i fluoru. Średnie arytmetyczne opadu pierwiastków, nieparametryczna analiza wariancji oraz test różnic rocznych opadu pierwiastków

| Rok | 1986 | 1987 | 1988 |
|------------|------|------|------|
| L.pomiarów | 210 | 204 | 202 |

Średnie roczne opadu w kg/km²

Analiza wariancji (Kruskala-Wallisa)

| Pierwiastek | 1986 | 1987 | 1988 | KW | p |
|-------------|--------|--------|--------|--------|---------|
| Cd | 1,164 | 1,324 | 1,12 | 9,290 | 0,0096 |
| Cr | 8,088 | 7,448 | 5,876 | 22,177 | <0,0001 |
| Ni | 6,304 | 6,44 | 4,244 | 78,827 | <0,0001 |
| Pb | 38,136 | 45,356 | 35,744 | 16,129 | 0,0003 |
| Fe | 3791 | 5536 | 3866 | 40,936 | <0,0001 |
| Zn | 289,0 | 370,2 | 341,7 | 23,335 | <0,0001 |
| Cu | 33,46 | 39,46 | 44,85 | 5,246 | 0,0726 |
| F | 186,3 | 150,4 | 177,5 | 13,578 | 0,0011 |

KW - statystyka testu Kruskal-Wallisa skorygowana dla powiązań, 2 stopnie swobody; p - poziom ufności statystyki KW

Znamiennosci statystyczne różnic pomiędzy rocznym opadem pierwiastków - porównanie średnich rang (test Wilcoxona).

| Kadm | | | |
|--------|------|---------|---------|
| Rok | | 1986 | 1987 |
| Ru-Rv | 1987 | 45,94 | |
| p | | 0,0519 | |
| Ru-Rv | 1988 | -0,96 | -46,91 |
| p | | NZ | 0,0476 |
| Chrom | | | |
| Rok | | 1986 | 1987 |
| Ru-Rv | 1987 | -1,18 | |
| p | | NZ | |
| Ru-Rv | 1988 | -72,50 | -71,32 |
| p | | 0,0002 | 0,0003 |
| Nikiel | | | |
| Rok | | 1986 | 1987 |
| Ru-Rv | 1987 | 19,059 | |
| p | | NZ | |
| Ru-Rv | 1988 | -125,20 | -144,25 |
| p | | <0,0001 | <0,0001 |
| Ołów | | | |
| Rok | | 1986 | 1987 |
| Ru-Rv | 1987 | 53,79 | |
| p | | 0,0127 | |
| Ru-Rv | 1988 | -12,97 | -66,75 |
| p | | NZ | 0,0010 |
| Żelazo | | | |
| Rok | | 1986 | 1987 |
| Ru-Rv | 1987 | 91,08 | |
| p | | <0,0001 | |
| Ru-Rv | 1988 | -11,93 | -103,01 |
| p | | NZ | <0,0001 |
| Cynk | | | |
| Rok | | 1986 | 1987 |
| Ru-Rv | 1987 | 73,924 | |
| p | | 0,0001 | |
| Ru-Rv | 1988 | 72,18 | -1,74 |
| p | | 0,0002 | NZ |
| Miedź | | | |
| Rok | | 1986 | 1987 |
| Ru-Rv | 1987 | 34,48 | |
| p | | 0,2924 | |
| Ru-Rv | 1988 | -0,83 | -35,31 |
| p | | NZ | 0,2738 |
| Fluor | | | |
| Rok | | 1986 | 1987 |
| Ru-Rv | 1987 | -62,29 | |
| p | | 0,0022 | |
| Ru-Rv | 1988 | -16,20 | 46,09 |
| p | | NZ | 0,0545 |

Ru-Rv - porównanie średnich rang; p - poziom ufności statystyki dla testu dwustronnego, skorygowany dla wielokrotnych powiązań.

W drugiej części tabeli 22 zestawiono porównania pomiarów w poszczególnych latach kalendarzowych przeprowadzone testem rang Wilcoxon. Wyniki te przemawiają za zróżnicowanymi profilami trzyletnimi w opadzie pierwiastków. Dla kadmu, niklu, ołowiu, żelaza i cynku obserwowano największy opad w 1987 roku. Fluor w tym samym roku wykazał najniższy opad. Stwierdzona tendencja wzrostowa w opadzie rocznym miedzi nie znalazła potwierdzenia w przeprowadzonych testach nieparametrycznych.

Wyniki analizy korelacyjnej kwartalnego opadu pierwiastków zostały przedstawione w tabeli 23 w postaci równań regresji liniowej, współczynników korelacji oraz testów znamienności regresji.

Tabela 23. Trendy opadu metali ciężkich i fluoru; regresja liniowa średnich opadów kwartalnych

| Równane regresji | r | t | p |
|----------------------|---------|--------|--------|
| Cd = 0,298 + 0,000K | 0,026 | 0,086 | 0,9332 |
| Cr = 2,261 - 0,075K | -0,486 | -1,845 | 0,0921 |
| Ni = 1,842 - 0,068K | -0,565* | -2,273 | 0,0441 |
| Pb = 10,37 - 0,109K | -0,392 | -1,414 | 0,1852 |
| Fe = 1436,4 + 7,648K | 0,049 | 0,164 | 0,8725 |
| Zn = 57,27 + 1,495K | 0,193 | 0,652 | 0,5276 |
| Cu = 7,928 + 0,279K | 0,373 | 1,335 | 0,2088 |
| F = 46,07 - 0,476K | -0,177 | -0,598 | 0,5620 |

*95% przedziału ufności dla r niklu wynoszą -0,851 i -0,021

K - numer porządkowy kwartału (1 - 13); r - współczynnik korelacji liniowej; t - statystyka t Studenta równania regresji, 11 stopni swobody; p - poziom ufności regresji

Ujemne wartości współczynników korelacji stwierdzone dla chromu, niklu, ołowiu i fluoru sugerują zmniejszanie się opadu atmosferycznego tych pierwiastków. Jedynie w przypadku niklu wartość współczynnika korelacji liniowej ($r = -0,57$) w sposób znamienny statystycznie ($p = 0,044$) dokumentuje tę tendencję spadkową. Zbliżona do zera wartość współczynnika korelacji dla regresji kwartalnych opadów kadmu i żelaza przemawia za niezmiennym poziomem zanieczyszczenia tymi pierwiastkami. Opad cynku i miedzi miał

tendencję wzrostową w ciągu 3 lat pomiarów, jednak regresja nie wykazała znamienności statystycznej.

5. Struktura demograficzna sektorów badawczych

W celu przeprowadzenia analizy porównawczej liczby przypadków wad wrodzonych w sektorach pomiarowych założono, że proporcje liczby urodzeń (ciąż) do liczby mieszkańców nie różnią się w sposób istotny w analizowanych sektorach. Konieczność przyjęcia tego założenia wynika z faktu, że statystyki dotyczące liczby urodzeń dostępne na podstawie ksiąg szpitalnych, czy też rejestry urodzeń nie uwzględniały faktu miejsca zamieszkania rodziców. Niemożliwe było zatem skorygowanie danych o liczbie wad w sektorach w odniesieniu do liczby urodzeń w sektorach. Rozkład populacji sektorów oraz liczebności przypadków wad wrodzonych został przedstawiony w tabeli 24.

Tabela 24. Rozkład liczbowy wad wrodzonych według miejsca zamieszkania rodziców (matki) w sektorach pomiarowych oraz liczba mieszkańców sektorów

| N sektora | WK | RT | WCN | Ludność | Lokalizacja |
|-----------|-----|----|-----|---------|-----------------------------|
| 5 | 3 | 0 | 0 | 8347 | Kwaczała - Alwernia |
| 16 | 8 | 1 | 4 | 18148 | Krzyszowice - Miękinia |
| 23 | 5 | 0 | 1 | 12436 | Wielkie Drogi - Grabie |
| 24 | 7 | 0 | 2 | 9646 | Liszki - Czernichów |
| 28 | 1 | 0 | 0 | 6842 | Sułoszowa - Trzyciąż |
| 33 | 30 | 6 | 2 | 18931 | Skawina - Radziszów |
| 34 | 11 | 0 | 0 | 79418 | Sidzina - Bielany |
| 35 | 8 | 1 | 1 | 96550 | Kr-Zwierzyniec - Rząska |
| 36 | 3 | 1 | 0 | 11093 | Modlniczka - Wierzchowie |
| 37 | 3 | 0 | 0 | 8328 | Jawor - Skąta |
| 38 | 0 | 1 | 0 | 6238 | Tarnawa - Glanów |
| 41 | 23 | 1 | 2 | 13265 | Zarabie - Stróża |
| 43 | 13 | 0 | 2 | 16068 | Siepraw - Wrząsowice |
| 44 | 56 | 7 | 7 | 104528 | Kr-Płaszów - Swoszowice |
| 45 | 117 | 19 | 22 | 147570 | Kr-Dębniaki - Prądnik Biały |
| 46 | 6 | 0 | 1 | 24392 | Witkowice - Bibice |
| 49 | 5 | 0 | 0 | 6201 | Gołcza - Szreniawa |
| 53 | 7 | 2 | 0 | 22487 | Świątniki Górne - Siercza |
| 54 | 70 | 3 | 4 | 96534 | Wieliczka - Rybitwy |
| 55 | 86 | 22 | 25 | 104452 | Kr-Czyżyny - Kr-Bieńczyce |
| 57 | 7 | 0 | 1 | 11571 | Raciborowice - Więclawice |

Tabela 24, cd.

| N sektora | WK | RT | WCN | Ludność | Lokalizacja |
|-----------|----|----|-----|---------|-----------------------------|
| 62 | 10 | 1 | 0 | 8123 | Raciechowice - Dobczyce |
| 64 | 19 | 1 | 2 | 16678 | Śledziejowice - Podłęże |
| 65 | 6 | 1 | 0 | 101777 | Przyłasek Rus. - Grębałów |
| 66 | 11 | 0 | 0 | 9496 | Krzysztoforzyce - Biórków |
| 74 | 7 | 3 | 2 | 10328 | Brzezcie - Niepołomice |
| 75 | 6 | 0 | 0 | 15813 | Branice - Igołomia |
| 85 | 0 | 0 | 0 | 7306 | Zabierzów B. - Wawrzeńczyce |
| 86 | 4 | 0 | 1 | 9739 | Nowe Brzesko - Grębocin |
| 96 | 3 | 1 | 0 | 7607 | Grobla - Gruszów |

WK - wady kończyn; RT - rozszczepy twarzoczaszki; WCN - wady cewy nerwowej

W tabeli 25 zostały przedstawione wyniki testów korelacji nieparametrycznej między liczebnościami wad a liczbą mieszkańców sektorów. Zastosowano korelację rang Kendalla ze względu na skośny rozkład liczby mieszkańców sektorów.

Tabela 25. Zależności statystyczne między liczbą mieszkańców sektorów pomiarowych a liczbą przypadków wad wrodzonych, test korelacji rang Kendalla

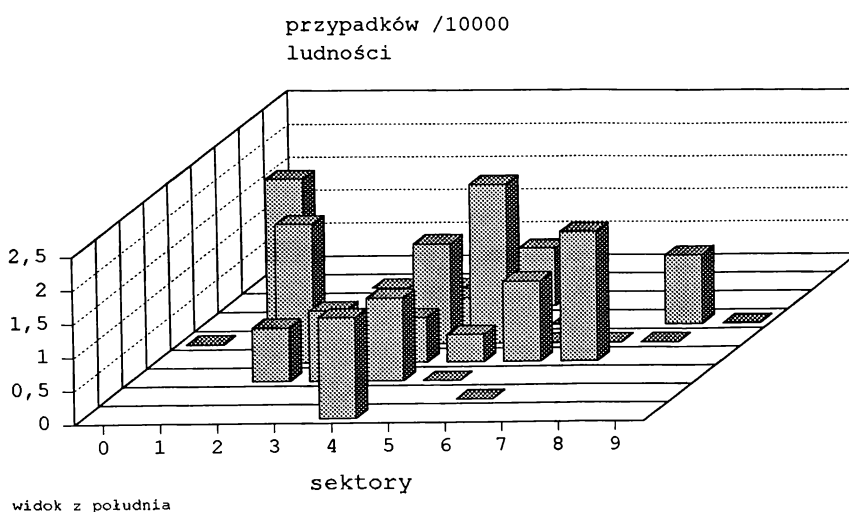
| Równanie regresji nieparam. | τ | t | p |
|-----------------------------|--------|-------|---------|
| WK = 0,144 + 0,525L | 0,776 | 6,514 | <0,0001 |
| RT = -0,525 + 0,086L | 0,675 | 4,837 | <0,0001 |
| WCN = -0,611 + 0,096L | 0,670 | 4,779 | <0,0001 |

WK - wady kończyn; RT - rozszczepy twarzoczaszki; WCN - wady cewy nerwowej; L - liczba mieszkańców sektorów w tysiącach; τ - współczynnik korelacji nieparametrycznej; t - statystyka Studenta dla równania regresji, 28 stopni swobody; p - poziom ufności regresji

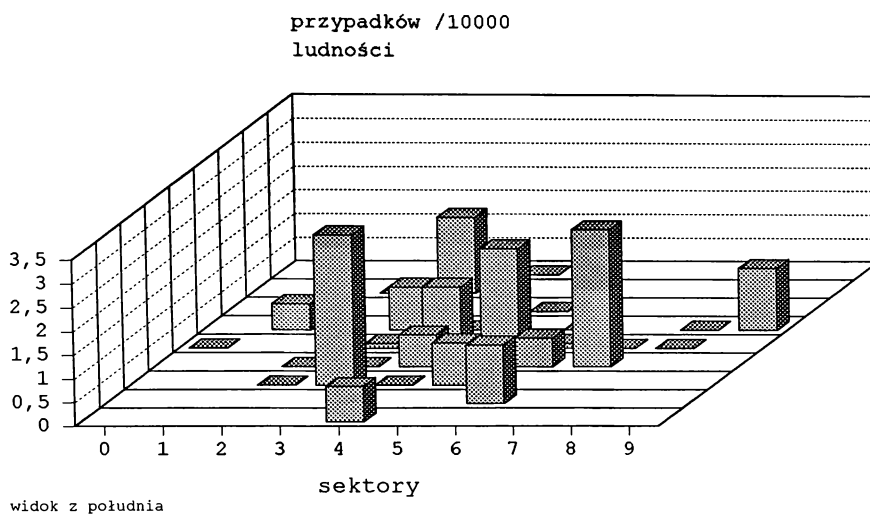
Liczba przypadków wad wykazała wysoce znamiennej korelację do liczby mieszkańców sektorów ($p < 0,0001$) co odpowiada założeniu jednorodnej struktury demograficznej sektorów. Uznano zatem, że wartości błędów wynikających z powyższego założenia są na tyle małe, że pozwalają na prowadzenie dalszej analizy. Różnice przestrzenne, czy też przestrzenno-czasowe w rozkładzie liczebności wad w sektorach mogły zatem być spowodowane czynnikami innymi niż zmienność liczby urodzeń związana

z odmienną strukturą demograficzną badanych obszarów województwa krakowskiego. Liczebność wad zarejestrowanych w sektorach w okresie czterech lat przeliczoną na 100000 mieszkańców na podstawie populacji sektorów nazwano standaryzowaną liczbą przypadków wady. Liczbę przypadków analizowanych wad wrodzonych w poszczególnych sektorach pomiarowych przedstawiono na rycinach 17 - 19.

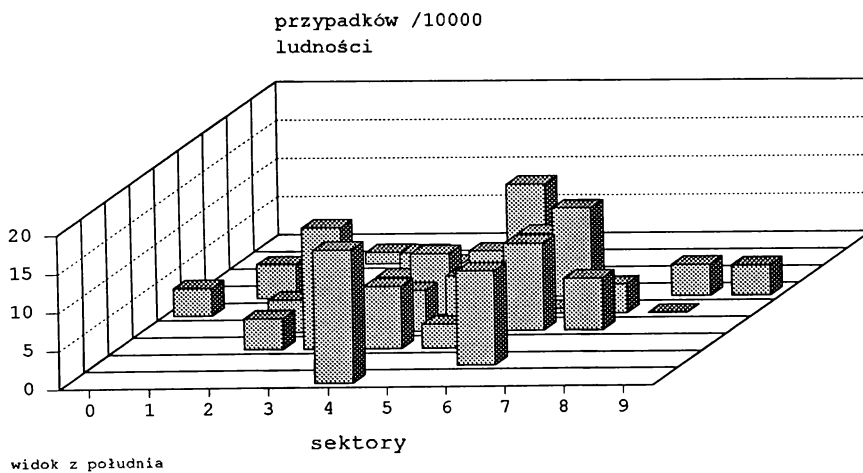
Rycina 17. Rozkład przestrzenny standaryzowanej liczby przypadków wad cewy nerwowej w sektorach



Rycina 18. Rozkład przestrzenny standaryzowanej liczby przypadków **rozszczepów twarzoczaszki** w sektorach.



Rycina 19. Rozkład przestrzenny standaryzowanej liczby przypadków **wad kończyn** w sektorach.



6. Poszukiwanie zależności statystycznych między liczbą wad wrodzonych a opadem metali ciężkich i fluoru

Dopuszczalne normy opadu atmosferycznego są zdefiniowane jedynie dla nielicznych pierwiastków (kadm). Dostępne normy stężenia metali ciężkich w powietrzu atmosferycznym zostały określone na podstawie badań toksykologicznych, ich relacje do opadu atmosferycznego metali są trudne do oszacowania [78]. Ze względu na wyłącznie hipotetyczny efekt teratogeny zanieczyszczeń atmosferycznych przyjęto opad poszczególnych pierwiastków za pewien ogólny wskaźnik degradacji środowiska naturalnego. Należało zatem przeprowadzić szereg testów statystycznych w poszukiwaniu ewentualnych wskaźników ryzyka wystąpienia wad wrodzonych wśród dostępnych danych określających zanieczyszczenie środowiska atmosferycznego.

6.1. Ryzyko względne wad wrodzonych dla dwóch klas opadu pierwiastków

Na podstawie średniego opadu atmosferycznego pierwiastków dokonano podziału sektorów badawczych na dwie klasy. Liczebności klas oraz wartości średnie opadów wraz ze średnią globalną zostały przedstawione w tabeli 26. W tabeli tej podano również wartość statystyki F Snedecora oraz poziom ufności analizy wariancji dla średnich rocznych opadów pierwiastka w grupie eksponowanej i nieeksponowanej.

Tabela 26. Analiza wariancji podziału sektorów pomiarowych na podstawie opadu metali ciężkich i fluoru

| Pierwiastek | L.sektorów eksp. | średnia opadu | L.sektorów nieeksp. | średnia opadu | statystyka F | p |
|-------------|------------------|---------------|---------------------|---------------|--------------|---------|
| kadm | 10 | 1,46 | 20 | 0,91 | 28,8 | <0,0001 |
| kadm(r) | 11 | 1,25 | 19 | 0,76 | 32,6 | <0,0001 |
| chrom | 10 | 9,50 | 20 | 4,17 | 31,1 | <0,0001 |
| chrom(r) | 10 | 3,97 | 20 | 1,97 | 38,3 | <0,0001 |
| miedź | 11 | 52,69 | 19 | 22,72 | 59,4 | <0,0001 |
| miedź(r) | 12 | 45,63 | 18 | 18,72 | 56,6 | <0,0001 |
| nikiel | 12 | 6,59 | 18 | 4,08 | 49,0 | <0,0001 |
| nikiel(r) | 11 | 3,84 | 19 | 2,47 | 46,1 | <0,0001 |
| ołów | 11 | 47,38 | 19 | 29,95 | 50,88 | <0,0001 |
| ołów(r) | 10 | 41,3 | 20 | 26,18 | 43,2 | <0,0001 |
| cynk | 12 | 390,0 | 18 | 200,9 | 19,8 | 0,0001 |
| cynk(r) | 14 | 335,0 | 16 | 166,8 | 18,7 | 0,0002 |
| żelazo | 5 | 11745 | 25 | 2806 | 22,7 | 0,0001 |
| żelazo(r) | 5 | 4383 | 25 | 495,5 | 13,2 | 0,0011 |
| fluor | 12 | 200,9 | 18 | 113,8 | 42,57 | <0,0001 |
| fluor(r) | 15 | 116,3 | 15 | 69,1 | 52,6 | <0,0001 |

L. - liczebność sektorów; Średnia opadu - roczna wartość średnia opadu dla grupy w kg/km^2 (średnia z 4 lat); F - wartość statystyki analizy wariancji opadu w sektorach pomiarowych, p - prawdopodobieństwo błędu podziału na klasy

Dla każdej z przeprowadzonych klasyfikacji różnice między klasami wykazały znamienność statystyczną.

Wyniki obliczeń ryzyka względnego związanego ze zwiększonym opadem pierwiastków zostały przedstawione zbiorczo w tabeli 27.

Tabela 27. Ryzyko względne urodzenia z wadą wrodzoną dla nieparametrycznej, dwuwarstwowej struktury opadu metali ciężkich

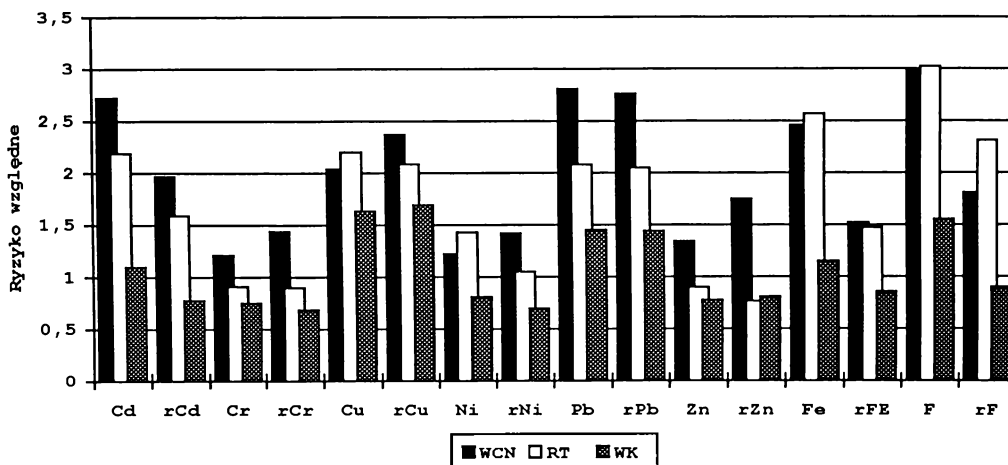
| Wada | Pierwiastek | RR | χ^2 | $p\chi^2$ | RR _{2,5%} | RR _{97,5%} |
|------|-------------|------|----------|-----------|--------------------|---------------------|
| WCN | Cd | 2,72 | 16,23 | 0,00005 | 2,15 | 3,44 |
| WK | Cd | 1,10 | 1,01 | 0,32 | 1,01 | 1,18 |
| RT | Cd | 2,19 | 9,61 | 0,002 | 1,73 | 2,78 |
| WCN | rCd | 1,97 | 6,88 | 0,009 | 1,55 | 2,50 |
| WK | rCd | 0,78 | 7,86 | 0,005 | 0,72 | 0,84 |
| RT | rCd | 1,59 | 3,14 | 0,076 | 1,25 | 2,01 |
| WCN | Cr | 1,26 | 0,69 | 0,406 | 0,98 | 1,62 |
| WK | Cr | 0,76 | 8,09 | 0,004 | 0,70 | 0,83 |
| RT | Cr | 0,94 | 0,05 | 0,83 | 0,74 | 1,20 |
| WCN | rCr | 1,47 | 1,74 | 0,19 | 1,13 | 1,92 |
| WK | rCr | 0,72 | 12,04 | 0,0005 | 0,66 | 0,79 |
| RT | rCr | 1,0 | 0,0 | 0,98 | 0,78 | 1,29 |
| WCN | Cu | 2,04 | 5,79 | 0,016 | 1,55 | 2,69 |
| WK | Cu | 1,63 | 20,68 | 0,000005 | 1,48 | 1,80 |
| RT | Cu | 2,20 | 6,05 | 0,014 | 1,62 | 2,95 |
| WCN | rCu | 2,37 | 7,53 | 0,006 | 1,77 | 3,19 |
| WK | rCu | 1,69 | 22,82 | 0,000002 | 1,53 | 1,87 |
| RT | rCu | 2,09 | 5,32 | 0,021 | 1,56 | 2,82 |
| WCN | Ni | 1,22 | 0,44 | 0,50 | 0,93 | 1,59 |
| WK | Ni | 0,81 | 4,55 | 0,032 | 0,74 | 0,88 |
| RT | Ni | 1,43 | 1,19 | 0,28 | 1,06 | 1,92 |
| WCN | rNi | 1,42 | 1,43 | 0,23 | 1,09 | 1,86 |
| WK | rNi | 0,70 | 14,73 | 0,0001 | 0,64 | 0,76 |
| RT | rNi | 1,05 | 0,03 | 0,86 | 0,814 | 1,36 |
| WCN | Pb | 2,81 | 13,44 | 0,0002 | 2,15 | 3,67 |
| WK | Pb | 1,45 | 15,95 | 0,00006 | 1,34 | 1,59 |
| RT | Pb | 2,08 | 6,96 | 0,008 | 1,61 | 2,69 |
| WCN | rPb | 2,76 | 13,64 | 0,0002 | 2,13 | 3,38 |
| WK | rPb | 1,44 | 15,28 | 0,00009 | 1,32 | 1,56 |
| RT | rPb | 2,05 | 7,00 | 0,008 | 1,60 | 2,64 |
| WCN | Zn | 1,34 | 0,94 | 0,33 | 1,01 | 1,76 |

Tabela 27, cd.

| Wada | Pierwiastek | RR | χ^2 | $p\chi^2$ | RR _{2,5%} | RR _{97,5%} |
|------|-------------|------|----------|-----------|--------------------|---------------------|
| WK | Zn | 0,78 | 6,61 | 0,01 | 0,70 | 0,85 |
| RT | Zn | 0,90 | 0,12 | 0,73 | 0,70 | 1,17 |
| WCN | rZn | 1,75 | 2,55 | 0,11 | 1,27 | 2,41 |
| WK | rZn | 0,81 | 3,95 | 0,047 | 0,74 | 0,89 |
| RT | rZn | 0,77 | 0,83 | 0,36 | 0,60 | 1,00 |
| WCN | Fe | 2,46 | 16,55 | 0,00005 | 2,00 | 3,03 |
| WK | Fe | 1,15 | 2,63 | 0,10 | 1,06 | 1,25 |
| RT | Fe | 2,57 | 16,34 | 0,0005 | 2,07 | 3,21 |
| WCN | rFe | 1,52 | 3,48 | 0,06 | 1,24 | 1,87 |
| WK | rFe | 0,86 | 2,53 | 0,11 | 0,78 | 0,93 |
| RT | rFe | 1,47 | 2,65 | 0,10 | 1,19 | 1,83 |
| WCN | F | 2,98 | 10,48 | 0,001 | 2,16 | 4,10 |
| WK | F | 1,55 | 16,58 | 0,00005 | 1,40 | 1,71 |
| RT | F | 3,02 | 9,56 | 0,002 | 2,15 | 4,23 |
| WCN | rF | 1,81 | 2,30 | 0,13 | 1,26 | 2,58 |
| WK | rF | 0,90 | 0,73 | 0,39 | 0,81 | 1,00 |
| RT | rF | 2,31 | 3,48 | 0,062 | 1,52 | 3,52 |

WCN - wady cewy nerwowej; WK - wady kończyn; RT - rozszczepy twarzoczaszki; $p\chi^2$ -
znajomość dla testu dwustronnego, 1 stopień swobody

Rycina 20. Ryzyko względne wystąpienia wady w sektorach o zwiększonym opadzie
pierwiastków



Dla grupy wad cewy nerwowej uzyskano wartości ryzyka względnego w przedziale 2,0 - 3,0 dla kadmu, miedzi, ołowiu żelaza i fluoru (rycina 20). Znamienność statystyczna tych wyników znalazła również potwierdzenie w wartościach ryzyka względnego dla frakcji rozpuszczalnej kadmu miedzi i ołowiu. Analiza dla frakcji rozpuszczalnej żelaza oraz frakcji rozpuszczalnej fluoru wykazała zmniejszenie się wartości ryzyka względnego i brak znamienności, podobnie jak dla pozostałych pierwiastków lub ich frakcji rozpuszczalnych.

W grupie rozszczepów twarzoczaszki wyniki testu ekspozycji były podobne do rezultatów uzyskanych dla wad cewy nerwowej. Ryzyko względne związane z większym od średniej opadem miedzi lub ołowiu było znamienne statystycznie ($RW \subset 2,05 - 2,20$). Podobną wartość ryzyka względnego uzyskano również dla tych pierwiastków na podstawie testu ekspozycji na frakcję rozpuszczalną pierwiastków. Zwiększone ryzyko wystąpienia wad twarzoczaszki w sektorach o większym opadzie kadmu ($RW = 2,19$) nie charakteryzowało się znamiennością statystyczną przy analizie frakcji rozpuszczalnej tego pierwiastka. Dla żelaza ($RW = 2,57$) i fluoru ($RW = 3,02$) obserwowano bardziej wyraźne rozbieżności pomiędzy analizą opadu całkowitego a frakcją rozpuszczalną opadu. Posłużenie się frakcją rozpuszczalną tych pierwiastków nie wykazało znamiennych wartości ryzyka względnego w teście ekspozycji, podobnie jak w przypadku pozostałych metali ciężkich.

Najbardziej interesujące rezultaty uzyskano w grupie wad kończyn. Duża liczebność tych wad sprawiła, że wartości ryzyka względnego związanego z klasą zanieczyszczenia osiągały bardzo dużą znamienność statystyczną. Zwiększenie się ryzyka względnego stwierdzono dla sektorów o większym opadzie miedzi i ołowiu. Podobnie jak w poprzednich grupach wad nie zależało to od przyjęcia całkowitego opadu, czy też frakcji rozpuszczalnej tych pierwiastków jako podstawy klasyfikacji. Wartości ryzyka względnego były natomiast mniejsze ($RW \subset 1,69 - 1,44$) w porównaniu z wadami cewy nerwowej, czy rozszczepami twarzoczaszki. Analiza ryzyka ekspozycji dla chromu, niklu i cynku wykazała istotne zmniejszenie się ryzyka względnego wystąpienia wad kończyn w sektorach o opadzie tych pierwiastków przekraczającym średnią. Wartości ryzyka względnego były podobne ($RW \subset 0,81 - 0,72$) również gdy analizowano frakcje rozpuszczalne tych pierwiastków. Wartość ryzyka względnego związanego z opadem kadmu była mniejsza w sektorach o większym niż średnia opadzie frakcji rozpuszczalnej tego pierwiastka. Podobnie jak w pozostałych grupach wad jedynie test dla opadu fluoru całkowitego ujawnił wzrost ryzyka względnego wad kończyn ($RW = 1,55$).

6.2. Próby korelacji między opadem metali ciężkich i fluoru a częstością wad wrodzonych

Wyniki przeprowadzonych testów ekspozycji sugerowały istotny związek statystyczny pomiędzy klasą zanieczyszczenia środowiska atmosferycznego a ryzykiem względnym wad wrodzonych. Jedną z charakterystycznych cech substancji teratogennych jest zależność częstości wywoływanych wad od poziomu narażenia na teratogen. Uzasadnione było zatem poszukiwanie parametrycznych zależności statystycznych pomiędzy częstością analizowanych wad wrodzonych a poziomem skażenia atmosferycznego metalami ciężkimi. Zestawienie wyników regresji wielokrotnej dla całkowitego opadu pierwiastków oraz regresji wielokrotnej dla opadu frakcji rozpuszczalnej pierwiastków przedstawiono w tabeli 28. W tabeli tej podano współczynniki korelacji wielokrotnej, których znamienność statystyczna została zbadana przy użyciu analizy wariancji zmiennych niezależnych do zmiennej zależnej. Podano również wartości statystyki *t* Studenta dla każdego z cząstkowych współczynników regresji.

Tabela 28. Regresja liniowa wielokrotna między liczbą wad wrodzonych a opadem metali ciężkich i fluoru

| | r | F | p | Statystyka <i>t</i> korelacji cząstkowej pierwiastków | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | | Cd | Cr | Ni | Pb | Fe | Zn | Cu | F |
| WK | 0,757 | 3,516 | 0,010 | -2,002 | 0,402 | -0,076 | 1,091 | -1,343 | 0,824 | -0,587 | 3,157 |
| sWK | 0,485 | 0,809 | 0,602 | -0,625 | -0,532 | -1,033 | 0,051 | -0,713 | 0,943 | 0,507 | 0,121 |
| | | | | rCd | rCr | rNi | rPb | rFe | rZn | rCu | rF |
| WK | 0,733 | 3,047 | 0,019 | -1,057 | 0,406 | -0,866 | 0,884 | -1,005 | -0,491 | 1,821 | 1,665 |
| sWK | 0,653 | 1,947 | 0,106 | -0,392 | -0,180 | -2,525 | -0,080 | -1,744 | 0,863 | 2,290 | -0,301 |
| | | | | Cd | Cr | Ni | Pb | Fe | Zn | Cu | F |
| RT | 0,646 | 1,884 | 0,117 | -1,404 | 0,643 | -0,608 | 0,880 | -0,610 | 0,416 | -0,568 | 2,443 |
| sRT | 0,437 | 0,620 | 0,751 | -0,192 | 0,041 | -0,993 | -0,180 | 1,086 | -1,127 | 1,095 | 0,453 |
| | | | | rCd | rCr | rNi | rPb | rFe | rZn | rCu | rF |
| RT | 0,612 | 1,572 | 0,193 | -0,533 | 0,590 | -1,298 | 0,656 | -0,690 | -0,287 | 1,154 | 1,203 |
| sRT | 0,430 | 0,597 | 0,770 | -0,173 | -0,133 | -0,973 | -0,127 | -0,911 | -0,012 | 0,994 | 0,717 |
| | | | | Cd | Cr | Ni | Pb | Fe | Zn | Cu | F |
| WCN | 0,659 | 2,018 | 0,094 | -1,214 | 0,432 | -0,813 | 1,050 | -1,323 | 0,983 | -0,880 | 2,623 |
| sWCN | 0,632 | 1,743 | 0,147 | 0,811 | -1,032 | -2,112 | 0,409 | -2,202 | 1,541 | -0,096 | 1,634 |
| | | | | rCd | rCr | rNi | rPb | rFe | rZn | rCu | rF |
| WCN | 0,602 | 1,489 | 0,220 | -0,363 | 0,490 | -1,242 | 0,673 | -0,500 | -0,363 | 1,141 | 1,146 |
| sWCN | 0,544 | 1,102 | 0,400 | 1,177 | -0,356 | -1,595 | -0,669 | -0,267 | -0,031 | 1,727 | 1,085 |

$t_{0,05}$ dla 21 stopni swobody ma wartość 2,080; znak statystyki t pierwiastka odpowiada znakowi współczynnika cząstkowego regresji tego pierwiastka

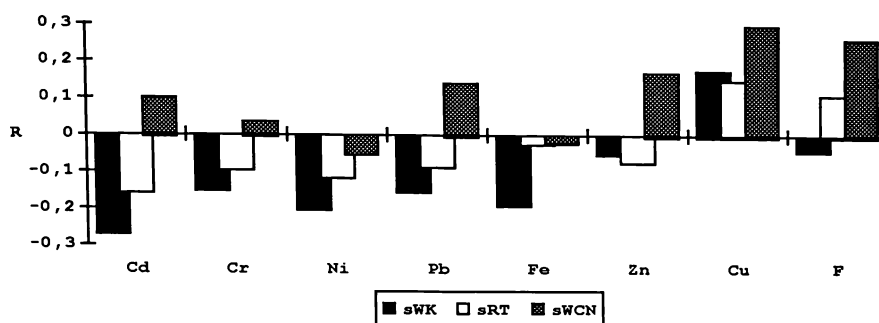
r - współczynnik korelacji wielokrotnej; F - statystyka Snedecora dla testu wariancji równania regresji wielokrotnej; p - poziom ufności regresji wielokrotnej; WK - liczba urodzeń wad kończyn w sektorach, sWK - standaryzowana liczba urodzeń wad kończyn w sektorach

Dla wszystkich grup wad uzyskano dodatnie wartości współczynników korelacji w regresji wielokrotnej. Największe wartości współczynnika korelacji uzyskano dla regresji liczby urodzeń z wadami w sektorach do opadu całkowitego pierwiastków. Standaryzacja liczby urodzeń z wadami spowodowała zmniejszenie współczynnika korelacji, szczególnie dla wad kończyn i rozszczepów twarzoczaszki. Dla wad cewy nerwowej różnice między współczynnikiem korelacji wyliczonym na podstawie liczby dzieci z wadami a współczynnikiem opartym na częstości wady na 100000 mieszkańców były nieznaczące.

Największy współczynnik korelacji uzyskano dla wad kończyn analizowanych na podstawie opadu całkowitego pierwiastków ($r = 0,757$) i frakcji rozpuszczalnej opadu ($r = 0,733$). Rozszczepy twarzoczaszki wykazały mniejszy współczynnik korelacji ($r = 0,646$) dla opadu całkowitego i ($r = 0,612$) dla frakcji rozpuszczalnej opadu. Dla grupy wad cewy nerwowej stwierdzono podobne wartości współczynnika korelacji ($r = 0,659$) dla opadu całkowitego i ($r = 0,602$) dla frakcji rozpuszczalnej. Współczynnik korelacji między liczbą urodzeń wad kończyn w sektorach a frakcją rozpuszczalną opadu pierwiastków wykazał znamienność statystyczną ($p < 0,02$). Żadna z pozostałych regresji wielokrotnych nie osiągnęła statystycznej istotności. Współczynnik regresji cząstkowej dla miedzi był dodatni dla wad kończyn, a udział frakcji rozpuszczalnej opadu tego pierwiastka w regresji był znamienny statystycznie. Odwrotną zależność w postaci ujemnego współczynnika regresji cząstkowej stwierdzono między częstością tych wad a opadem frakcji rozpuszczalnej niklu.

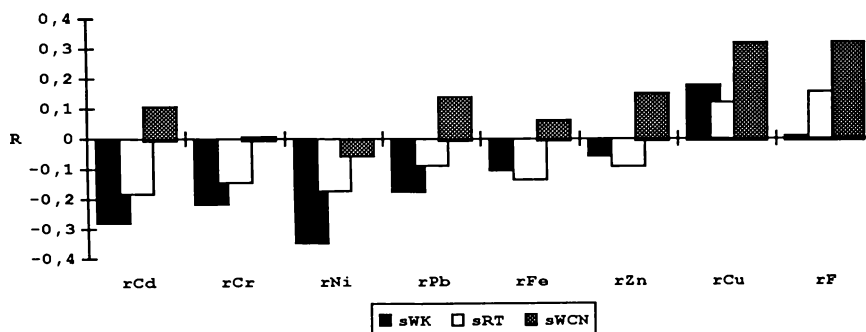
Wyniki analizy korelacyjnej między opadem całkowitym poszczególnych pierwiastków a standaryzowaną liczbą wad w sektorach przedstawiono w formie wykresu na rycinie 21.

Rycina 21. Współczynniki korelacji między standaryzowaną liczbą wad w sektorach a opadem całkowitym pierwiastków



Wyniki analogicznej analizy korelacyjnej dla frakcji rozpuszczalnej pierwiastków przedstawiono na rycinie 22.

Rycina 22. Współczynniki korelacji między standaryzowaną liczbą wad w sektorach a frakcją rozpuszczalną opadu pierwiastków



Dla wad cewy nerwowej stwierdzono dodatnią korelację między częstością tej wady a średnim opadem miedzi oraz fluoru. Dla wad kończyn ujemną korelację wykazała

częstość tych wad w odniesieniu do opadu kadmu, chromu oraz niklu. Współczynniki korelacji częstości wad oraz opadu wymienionych pierwiastków przyjmowały wartość w granicach ($r = 0,26$ do $0,32$) dla wad cewy nerwowej i ($r = -0,35$ do $-0,27$) dla wad kończyn. Żadna z badanych korelacji nie wykazała znamienności statystycznej.

6.3. Analiza opadu atmosferycznego dla skupisk przestrzennych i przestrzenno-czasowych wad wrodzonych

Zależności statystyczne ujawnione pomiędzy częstością wad wrodzonych w sektorach badawczych a opadem atmosferycznym pierwiastków nie dokumentują związku o charakterze przyczynowo-skutkowym. Mogą jedynie sugerować, że zanieczyszczenie tymi substancjami stanowi pewien wskaźnik teratogennego udziału środowiska w etiologii wad wrodzonych. Przeprowadzone analizy statystyczne wymagały przyjęcia pewnych uproszczeń, polegających na założeniu jednolitej struktury demograficznej sektorów badawczych w odniesieniu do liczby urodzeń. W sposób arbitralny założono również, że tak istotne czynniki środowiskowe jak sposób odżywiania, nałogi, rodzaj zatrudnienia i inne zmienne zakłócające nie różnią się istotnie w poszczególnych regionach województwa krakowskiego.

Porównanie średniego opadu pierwiastków na obszarze skupisk przestrzennych zamieszczone w tabeli 29 dzięki zastosowanej metodzie próbkowania skupisk (cluster sampling) reprezentuje alternatywną metodę statystyczną, w znacznie mniejszym stopniu obciążoną błędem wynikającym z wymienionych założeń.

Tabela 29. Zestawienie średnich trzyletnich opadu (w $\text{kg}/\text{km}^2/\text{kwartał}$) metali ciężkich i fluoru oraz prawdopodobieństwa ich różnicy dla przypadków wad analizowanych w skupiskach przestrzennych

| Wady cewy nerwowej | | | | |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|
| Pierwiastek | C ≤ 4 | C > 4 | MW | p |
| rCd | 0,277 | 0,267 | 0,61 | 0,27 |
| rCr | 0,843 | 0,882 | 0,19 | 0,42 |
| rNi | 0,783 | 0,841 | -2,45 | 0,009 |
| rPb | 9,73 | 10,29 | -0,17 | 0,43 |
| rFe | 254,4 | 288,8 | -1,47 | 0,07 |
| rZn | 84,21 | 84,74 | 0,22 | 0,41 |
| rCu | 10,86 | 11,52 | -0,42 | 0,33 |
| rF | 31,35 | 33,87 | 0,69 | 0,25 |
| Liczebności klas | 39 | 23 | | |

Tabela 29, cd.

| Rozszczepy twarzoczaszki | | | | |
|--------------------------|-------|-------|-------|---------|
| Pierwiastek | C ≤ 4 | C > 4 | MW | p |
| rCd | 0,242 | 0,303 | -5,23 | <0,0001 |
| rCr | 0,779 | 1,016 | -5,00 | <0,0001 |
| rNi | 0,800 | 0,790 | 1,61 | 0,054 |
| rPb | 9,104 | 11,09 | -5,23 | <0,0001 |
| rFe | 240,7 | 252,3 | -3,11 | 0,001 |
| rZn | 73,19 | 99,3 | -4,77 | <0,0001 |
| rCu | 10,30 | 12,16 | -2,01 | 0,022 |
| rF | 31,09 | 34,75 | -3,81 | 0,0001 |
| Liczebności klas | 38 | 23 | | |
| Wady kończyn | | | | |
| Pierwiastek | C ≤ 4 | C > 4 | MW | p |
| rCd | 0,246 | 0,252 | -1,06 | 0,15 |
| rCr | 0,770 | 0,808 | -2,08 | 0,019 |
| rNi | 0,812 | 0,802 | -0,85 | 0,20 |
| rPb | 8,95 | 9,41 | -2,75 | 0,003 |
| rFe | 253,5 | 232,8 | -0,65 | 0,26 |
| rZn | 72,44 | 79,47 | -3,35 | 0,0004 |
| rCu | 10,09 | 10,98 | -2,77 | 0,003 |
| rF | 29,41 | 31,38 | -3,10 | 0,001 |
| Liczebności klas | 232 | 179 | | |

C < n - klasa utworzona z przypadków wad, które zaliczono do skupisk o liczebności przypadków mniejszej od mediany; MW - statystyka testu Manna-Whitney'a (suma rang - wartość oczekiwana) / odchylenie standardowe; p - poziom ufności statystyki MW dla testu jednostronnego

Obszary, na których wady cewy nerwowej wystąpiły w większych skupiskach wyróżniały się zwiększonym średnim opadem frakcji rozpuszczalnej niklu, ołowiu, żelaza i miedzi. Jedynie dla niklu różnica ta była znamienna statystycznie ($p = 0,009$). W grupie rozszczepów twarzoczaszki stwierdzono zdecydowanie większy opad kadmu, chromu, ołowiu, żelaza, cynku, miedzi i fluoru w sektorach, w których wady te były rejestrowane w liczniejszych skupiskach. Różnice w średnich opadach trzyletnich cechowała duża znamienność statystyczna. Podobne różnice w opadzie metali ciężkich stwierdzono dla grupy wad kończyn. Średni opad chromu, ołowiu, cynku, miedzi i fluoru był statystycznie większy na obszarach, w których wady te wystąpiły w większych skupiskach.

Opad atmosferyczny pierwiastków charakteryzował się zmiennością sezonową i trendami czasowymi. Z tego względu przeprowadzono także zestawienie obejmujące skupiska przestrzenno-czasowe wad wrodzonych z opadem pierwiastków charakteryzującym obszary skupisk. W zestawieniu tym uwzględniono opad kwartalny poprzedzający daty urodzenia dzieci z wadami o 6 do 9 miesięcy. Okres ten odpowiadał orientacyjnie pierwszemu trymestrowi ciąży, z których pochodziły. Analizę danych przeprowadzono podobnie jak dla skupisk przestrzennych testem nieparametrycznym przyjmując dwie klasy skupisk wad. Granicą podziału była mediana rozkładu liczebności skupisk. Średnie opadu pierwiastków dla odpowiednich klas skupisk oraz wyniki testu rang zostały przedstawione w tabeli 30.

Tabela 30. Skupiska przestrzenno-czasowe; zestawienie średniego opadu kwartalnego w kg/km^2 metali ciężkich i fluoru w okresie odpowiadającym wczesnej ciąży dla przypadków wad analizowanych w skupiskach. Różnice średnich w teście rang Manna-Whitney'a

| Wady cewy nerwowej | | | | |
|--------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Pierwiastek | C ≤ 3 | C > 3 | MW | p |
| rCd | 0,259 | 0,276 | -1,48 | 0,069 |
| rCr | 0,797 | 0,991 | -2,07 | 0,019 |
| rNi | 0,702 | 0,811 | -0,54 | 0,3 |
| rPb | 9,74 | 10,66 | -0,90 | 0,19 |
| rFe | 199,1 | 310,7 | -3,09 | 0,001 |
| rZn | 87,80 | 95,30 | -1,37 | 0,085 |
| rCu | 15,87 | 7,76 | 0,95 | 0,17 |
| rF | 28,44 | 36,32 | -2,78 | 0,003 |
| Liczebności klas | 31 | 27 | | |
| Rozszczepy twarzoczaszki | | | | |
| Pierwiastek | C ≤ 3 | C > 3 | MW | p |
| rCd | 0,247 | 0,326 | -1,93 | 0,027 |
| rCr | 0,959 | 0,722 | -2,68 | 0,004 |
| rNi | 0,854 | 0,828 | -1,26 | 0,15 |
| rPb | 9,80 | 11,15 | -1,66 | 0,049 |
| rFe | 256,4 | 333,5 | -1,92 | 0,028 |
| rZn | 74,24 | 93,35 | -1,51 | 0,066 |
| rCu | 10,09 | 9,70 | -1,97 | 0,025 |
| rF | 32,63 | 27,24 | 2,22 | 0,013 |
| Liczebności klas | 36 | 20 | | |

Tabela 30, cd.

| Wady kończyn | | | | |
|------------------|-------|-------|--------|---------|
| Pierwiastek | C ≤ 4 | C > 4 | MW | p |
| rCd | 0,239 | 0,274 | -4,01 | <0,0001 |
| rCr | 0,733 | 0,891 | -3,83 | 0,0001 |
| rNi | 0,791 | 0,765 | -0,80 | 0,21 |
| rPb | 8,66 | 9,98 | -4,95 | <0,0001 |
| rFe | 404,6 | 257,8 | -6,70 | <0,0001 |
| rZn | 74,88 | 87,44 | -3,95 | <0,0001 |
| rCu | 11,05 | 10,91 | -2,43 | 0,008 |
| rF | 27,60 | 32,51 | -2,095 | 0,018 |
| Liczebności klas | 249 | 142 | | |

C < n - klasa utworzona z przypadków wad, które zaliczono do skupisk o liczebności przypadków mniejszej od mediany; MW - statystyka testu Manna-Whitney'a (suma rang - wartość oczekiwana) / odchylenie standardowe; p - poziom ufności statystyki MW dla testu jednostronnego

W grupie wad cewy nerwowej stwierdzono znamienne większy opad kwartalny kadmu, chromu, żelaza i fluoru na obszarach, na których po 6 - 9 miesiącach urodziły się dzieci z wadami cewy nerwowej w skupiskach liczących więcej niż 3 przypadki. Dla miedzi odnotowano odwrotną zależność, która nie wykazywała jednak znamienności statystycznej. Rozszczepy twarzoczaszki, które wystąpiły w skupiskach liczących więcej niż 3 przypadki charakteryzowały się znamienne większym opadem kadmu, chromu, ołowiu, żelaza i miedzi w okresie perikonceptyjnym. Relacja ta dla fluoru była odwrotna i cechowała się również zależnością statystyczną. W grupie wad kończyn wykazano znamienne większy opad wszystkich, poza niklem pierwiastków w okresie wczesnej ciąży, dla przypadków rejestrowanych w liczniejszych niż 4 skupiskach tych wad.

6.4. Porównania opadu metali ciężkich i fluoru dla skupisk różnych wad

Celem tych zestawień było sprawdzenie, czy na obszarach, w których wystąpiły skupiska różnych typów wad wrodzonych miały miejsce istotne różnice w profilu i ilości opadu atmosferycznego metali ciężkich. Dla przeprowadzenia takich testów posłużono się tymi samymi zestawieniami danych jak w analizie skupisk przestrzennych poszczególnych wad wrodzonych. Hipotezy statystyczne mówiące o braku różnic pomiędzy średnim

opadem każdego z pierwiastków stwierdzonym na obszarze skupisk przestrzennych różnych typów wad testowano przy użyciu nieparametrycznej analizy wariancji Kruskal-Wallisa. Zestawienie wyników zostało przedstawione w tabeli 31 w postaci średnich rang dla grup wad oraz poziomu ufności dla obserwowanych różnic. W tabeli tej zawarto również wyniki porównań pomiędzy parami typów wad, dokonanych testem Manna-Whitney'a dla pierwiastków wykazujących znamienne różnice.

Tabela 31. Skupiska przestrzenne wad wrodzonych. Część 1. Porównanie średnich rang trzyletniego opadu metali ciężkich i fluoru obserwowanego na obszarze skupisk dla różnych typów wad

| Wada | WCN | RT | WK | |
|---------------|-------|-------|-------|---------|
| Liczba przyp. | 62 | 61 | 411 | |
| | rCd | | | p |
| | 333,8 | 307,1 | 251,6 | <0,0001 |
| | rCr | | | p |
| | 307,8 | 310,9 | 255,0 | 0,002 |
| | rNi | | | p |
| | 277,3 | 258,7 | 267,3 | 0,79 |
| | rPb | | | p |
| | 322,4 | 317,7 | 251,8 | 0,0001 |
| | rFe | | | p |
| | 469,5 | 468,9 | 207,1 | <0,0001 |
| | rZn | | | p |
| | 328,7 | 309,7 | 252,0 | 0,0001 |
| | rCu | | | p |
| | 279,7 | 279,7 | 263,9 | 0,60 |
| | rF | | | p |
| | 289,9 | 295,3 | 260,0 | 0,11 |

Tabela 31. Część 2. Testy znamienności różnic średniego opadu pierwiastków dla skupisk wad

| rCd | | | |
|-----|----|--------|-------|
| | | WCN | RT |
| MW | RT | -26,7 | |
| | p | NZ | |
| MW | WK | -82,1 | -55,5 |
| | p | 0,0006 | 0,053 |

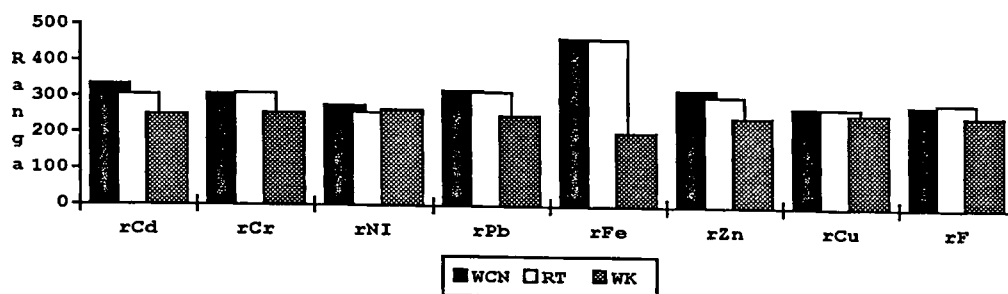
Tabela 31. Część 2, cd.

| rCr | | | |
|-----|----|---------|---------|
| | | WCN | RT |
| MW | RT | 3,11 | |
| | p | NZ | |
| MW | WK | -52,9 | -55,9 |
| | p | 0,072 | 0,049 |
| rPb | | | |
| | | WCN | RT |
| MW | RT | -4,7 | |
| | p | NZ | |
| MW | WK | -70,6 | -65,9 |
| | p | 0,005 | 0,011 |
| rFe | | | |
| | | WCN | RT |
| MW | RT | -0,58 | |
| | p | NZ | |
| MW | WK | -262,3 | -261,8 |
| | p | <0,0001 | <0,0001 |
| rZn | | | |
| | | WCN | RT |
| MW | RT | -19,0 | |
| | p | NZ | |
| MW | WK | -76,7 | -57,7 |
| | p | 0,002 | 0,039 |

W pierwszej części tabeli 31 dla każdego z pierwiastków zamieszczono średnie rang, wartość statystyki Kruskal-Wallis'a (KW) oraz poziom ufności (p). W drugiej części tabeli zamieszczono zestawienie porównań średnich rang dla każdej grupy wad, jeżeli poziom ufności analizy wariancji był znamienny ($p < 0,05$). Podano wartość statystyki testu rang Manna-Whitney'a (MW) skorygowane dla powiązań oraz poziom ufności (p) dla testu dwustronnego. NZ - wynik testu nieznamienny

Skupiska przestrzenne wad cewy nerwowej charakteryzowały się największym opadem atmosferycznym kadmu, ołowiu, żelaza i cynku (rycina 23). Największy opad chromu i fluoru występował na obszarze skupisk rozszczepów twarzoczaszki. Opad niklu, miedzi i fluoru na obszarach skupisk poszczególnych typów wad nie różnił się w sposób znamienny statystycznie. Skupiska wad kończyn cechowały się najmniejszym opadem metali ciężkich i fluoru spośród analizowanych skupisk przestrzennych wad.

Rycina 23. Porównanie opadu pierwiastków na obszarze skupisk przestrzennych różnych wad wrodzonych



WCN

- wady cewy nerwowej, RT - rozszczepy twarzoczaszki, WK - wady kończyn

Analogiczne testy zostały przeprowadzone dla średnich opadów kwartalnych rejestrowanych w skupiskach przestrzenno-czasowych w okresie odpowiadającym wczesnej ciąży, wyliczonym dla każdego z przypadków wad. Zestawienie dla wszystkich analizowanych grup wad zostało zbadane testem Kruskal-Wallis'a celem odszukania różnic w opadzie pierwiastków w okresie mającym bezpośredni związek czasowy z przypadkiem wady. Wyniki testów statystycznych w postaci zestawień średnich rang oraz poziomów ufności obserwowanych różnic przedstawiono w tabeli 32 Podobnie jak w poprzednich zestawieniach znamienne różnice zostały zbadane dla par wad testem Manna-Whitney'a.

Tabela 32. Skupiska przestrzenno-czasowe wad wrodzonych. Część 1. Porównanie średnich rang kwartalnego opadu metali ciężkich i fluoru na obszarze skupisk przestrzenno-czasowych różnych typów wad

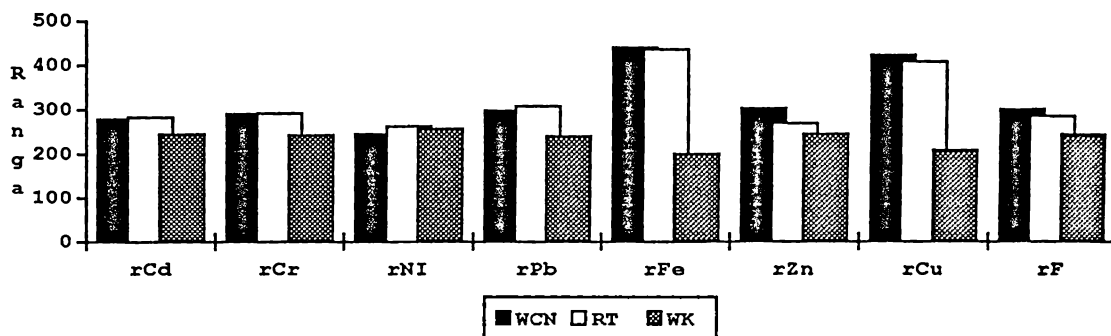
| Pierwiastek | średnie rang | | | p. testu Kruskal-Wallis'a |
|-------------------|--------------|-------|-------|---------------------------|
| | WCN | RT | WK | |
| rCd | 278,3 | 282,4 | 245,0 | 0,074 |
| rCr | 289,4 | 291,3 | 242,1 | 0,008 |
| rNI | 244,5 | 261,9 | 256,0 | 0,82 |
| rPb | 296,4 | 306,5 | 238,9 | 0,0003 |
| rFe | 438,9 | 435,2 | 199,3 | <0,0001 |
| rZn | 300,9 | 267,3 | 243,8 | 0,016 |
| rCu | 420,7 | 405,6 | 206,3 | <0,0001 |
| rF | 298,3 | 282,7 | 242,0 | 0,006 |
| Liczba przypadków | 58 | 56 | 391 | |

Tabela 32. Część 2. Testy zmienności różnic średniego opadu pierwiastków dla skupisk wad

| rCr | | WCN | RT |
|-----|----|---------|---------|
| MW | RT | 2,0 | |
| | p | NZ | |
| MW | WK | -47,2 | -49,2 |
| | p | 0,13 | 0,11 |
| rPb | | WCN | RT |
| MW | RT | 10,0 | |
| | p | NZ | |
| MW | WK | -57,5 | -67,8 |
| | p | 0,031 | 0,007 |
| rFe | | WCN | RT |
| MW | RT | -3,73 | |
| | p | NZ | |
| MW | WK | -239,6 | -235,9 |
| | p | <0,0001 | <0,0001 |
| rZn | | WCN | RT |
| MW | RT | -33,6 | |
| | p | NZ | |
| MW | WK | -57,1 | -23,5 |
| | p | 0,033 | NZ |
| rF | | WCN | RT |
| MW | RT | -15,6 | |
| | p | NZ | |
| MW | WK | -56,2 | -40,6 |
| | p | 0,037 | 0,31 |

MW - wartość statystyki testu rang Manna-Whitney'a skorygowaną dla powiązań; (p) - poziom ufności dla testu dwustronnego; NZ - wynik testu nieznamienny. Wybrano pierwiastki o znamionym wyniku analizy wariancji ($p < 0,05$).

Rycina 24. Porównanie opadu pierwiastków na obszarze skupisk przestrzenno-czasowych różnych wad wrodzonych



WCN - wady cewy nerwowej, RT - rozszczepy twarzoczaszki, WK - wady kończyn

Można zauważyć pewną zbieżność wyników z przeprowadzonymi testami dla skupisk przestrzennych. Wady cewy nerwowej charakteryzował największy opad żelaza, cynku, miedzi i fluoru (rycina 24). Dla rozszczepów twarzoczaszki pierwiastkami o największym z 3 grup wad opadzie były kadm, chrom nikiel i ołów. Wady kończyn charakteryzowały się najmniejszym kwartalnym opadem pierwiastków w okresie odpowiadającym embriogenezie zarejestrowanych w skupiskach przypadków wad. Interesująca jest obserwacja znamienności statystycznej różnic w opadzie kwartalnym miedzi i fluoru, która nie wystąpiła w analizie przeprowadzonej na podstawie średnich trzyletnich opadu. W przypadku obu zestawień różnice między grupą wad cewy nerwowej i rozszczepami twarzoczaszki były znacznie mniejsze niż między tymi dwoma grupami a wadami kończyn. Znalazło to potwierdzenie statystyczne w wynikach porównań międzygrupowych wad zamieszczonych na końcu tabel 31 i 32.

VI. Dyskusja

1. Epidemiologia wad wrodzonych na terenie województwa krakowskiego

1.1. Wady cewy nerwowej

Częstość występowania wad cewy nerwowej charakteryzuje się zmiennością geograficzną. W krajach Europy kontynentalnej średnia częstość tych wad wynosi 11,5/10000. Porównania częstości dla regionów geograficznych Europy wykazują w większości z nich występowanie wad cewy nerwowej w przedziale częstości 6/10000 - 13/10000 [34]. Przykładowo, w północno-wschodnich regionach Francji częstość tych wad wynosi 10,9/10000 [107]. Irlandia wyróżnia się natomiast znacznie większą częstością wad cewy nerwowej, sięgająca w Dublinie i Belfaście 40/10000 przy częstości notowanej w Szkocji (10,1/10000) [25] na poziomie Europy kontynentalnej. W krajach pozaeuropejskich obserwowane jest również zróżnicowanie geograficzne częstości wad cewy nerwowej. W Meksyku częstość tych wad wynosi 28,3/10000 [80], w Chinach 27,37/10000 [121], w Stanach Zjednoczonych AP 15,2/10000 [84] a w Ameryce Południowej 14,6/10000 [20]. Na tle powyższych danych częstość wad cewy nerwowej stwierdzona na terenie województwa krakowskiego (11,89/10000) nie różni się od częstości typowych dla Europy kontynentalnej i jest mniejsza od częstości rejestrowanej w największych państwach świata.

Porównania przeprowadzone dla bezmózgowia wykazały, że częstość tej wady rejestrowana w województwie krakowskim (4,65/10000) była nieco większa od częstości stwierdzonej we Włoszech (2,84/10000) [1], we Francji (3,3/10000) [107] czy w Stanach Zjednoczonych AP (3,14/10000) [84]. Natomiast bezmózgowie w materiale własnym występowało rzadziej niż w Meksyku (15,6/10000) [80]. Częstość bezmózgowia charakteryzuje się również lokalnym zróżnicowaniem geograficznym; we Włoszech największa częstość tej wady była stwierdzona na Sardynii (6,0/10000) [1], również w Teksasie średnia częstość bezmózgowia (4,05/10000) była większa od średniej dla Stanów Zjednoczonych [14], co sugeruje w tych krajach zwiększoną częstość wady na terenach o charakterze rolniczym.

Trendy czasowe w częstościach bezmózgowia były szczególnie zauważalne w regionach geograficznych o zwiększonej częstości tej wady. W Szkocji, pomiędzy rokiem

1971 a 1988 zaobserwowano zmniejszenie się częstości bezmózgowia z 25/10000 do 5,2/10000 [25]. Ponieważ po roku 1976 rozpowszechniono diagnostykę prenatalną wad cewy nerwowej, powyższą tendencję można było częściowo wytłumaczyć przerywaniem ciąży obciążonych tą wadą. Jednak nawet po uwzględnieniu liczby przypadków wad rozpoznawanych po 3 miesiącu ciąży, zmniejszanie się częstości bezmózgowia było wyraźniej zauważalne w regionach o dużej częstości tej wady. W Stanach Zjednoczonych AP częstość bezmózgowia zmniejszyła się o 48% pomiędzy rokiem 1968 (5,51/10000) a rokiem 1987 (2,87/10000) [104]; natomiast w północno-wschodniej Francji (Bas-Rhin), regionie o niewielkiej częstości bezmózgowia, na przestrzeni 33 lat nie uległa większej zmianie (1945-1955; 2,95/10000) [38], (1979-1986; 3,3/10000) [84].

Porównanie częstości bezmózgowia na terenie województwa krakowskiego w latach 1970-1972 [64] oraz w latach 1979-1981 [88] z wynikami z lat 1986-1989 wskazuje na dwukrotny wzrost częstości tej wady z 2,7/10000 (1970-72) oraz 2,3/10000 (1979-81) do wartości obecnej 4,65/10000 (1986-89).

Częstość przepuklin oponowo-mózgowych i oponowo-rdzeniowych stwierdzona na obszarze województwa krakowskiego wyniosła 7,25/10000 urodzeń. Zbliżone częstości były rejestrowane we Francji (7,6/10000) [107] i w Izraelu (7,4/10000) [76]. W Stanach Zjednoczonych AP częstość tych wad była niższa (4,5/10000) [84], podobnie jak w Niemczech (5,7/10000) [66]. Większa częstość tej grupy wad była rejestrowana w Meksyku (12,7/10000) [79]. Podobnie jak w przypadku bezmózgowia, w częstościach tych wad obserwowano tendencję malejącą, szczególnie widoczną w regionach o częstym ich występowaniu. W Szkocji pomiędzy latami 1971 a 1988 częstość tych wad zmniejszyła się z 30/10000 do 5,8/10000, przy znacznie mniejszym wpływie diagnostyki prenatalnej na obserwowaną liczbę urodzeń dzieci z wadami niż w przypadku bezmózgowia [25]. Podobny trend został zarejestrowany w Stanach Zjednoczonych AP (1970-71; 7,55/10000; 1982-83; 4,48/10000) [84]. Rejestrowane były również regionalne tendencje zwiększania się częstości przepuklin oponowo-rdzeniowych. W Izraelu został stwierdzony 7 krotny wzrost częstości tych wad pomiędzy rokiem 1978 (1,1/10000) a 1986 (7,4/10000) [76].

Częstość przepuklin mózgowych i rdzeniowych na terenie województwa krakowskiego charakteryzowała się znikomą zmiennością długofalową (1970-72; 6,5/10000; 1979-81; 7,0/10000; 1986-89; 7,25/10000).

Proporcja liczby przypadków bezmózgowia do pozostałych wad cewy nerwowej w krajach Europy kontynentalnej wynosi 0,58:1 [33]. W Stanach Zjednoczonych AP wraz ze

zmniejszeniem się ogólnej częstości wad cewy nerwowej proporcja ta zmniejszyła się z wartości 0,73:1 (1970-71) do 0,65:1 (1982-83) [84]. W Szkocji, regionie o historycznie dużej częstości wad cewy nerwowej proporcja pomiędzy liczbą przypadków bezmózgowia a liczbą pozostałych wad cewy nerwowej utrzymała się na stałym poziomie (0,83:1 - 0,89:1) pomimo 5-krotnego zmniejszenia się częstości występowania tych wad [25]. W Ameryce Południowej iloraz częstości bezmózgowia do częstości pozostałych wad cewy nerwowej wynosił 0,70:1 [20] a w Meksyku obserwowano przewagę bezmózgowia nad pozostałymi wadami cewy nerwowej (1,23:1) [79], przy dużej częstości tych wad. Uogólniając te obserwacje można sądzić, że duża częstość wad cewy nerwowej jest wynikiem zwiększonej częstości bezmózgowia. Długofalowe obserwacje dokumentujące zmniejszanie się częstości wad cewy nerwowej wskazują na zmniejszanie się częstości bezmózgowia, jako głównego składnika tendencji ogólnej.

Proporcja pomiędzy liczbą przypadków bezmózgowia a liczbą pozostałych wad cewy nerwowej w analizowanym materiale własnym wyniosła 0,59:1. W latach 1970-72 proporcja przypadków bezmózgowia do przepuklin mózgowych i rdzeniowych wynosiła 0,42:1, a latach 1979-81 0,33:1.

Obserwacje dotyczące częstszego występowania wad cewy nerwowej u płci żeńskiej znajdują potwierdzenie w danych literaturowych. Szczególnie wyraźna przewaga płci żeńskiej w grupie bezmózgowia (2,7:1) we własnym materiale) była również widoczna w danych amerykańskich (1,4:1), włoskich (1,3:1), francuskich (1,6:1). Częstsze występowanie bezmózgowia u płci żeńskiej było również wyraźnie zaznaczone w analizie z lat poprzednich (1970-72; 2,0:1; 1979-1981; 1,7:1) [88]. W grupie przepuklin oponowo-mózgowych i oponowo-rdzeniowych przewaga płci żeńskiej zaznacza się na granicy znamienności statystycznej (1,12:1) nie różniąc się od proporcji stwierdzonych na przykład we Francji (1,03:1) [107]. Porównanie z danymi z lat poprzednich (1970-72; 1,4:1; 1979-81; 1,9:1) wskazuje na zmniejszenie się różnic udziału płci w tej grupie wad.

Zmienność średniej miesięcznej częstości urodzeń dzieci z wadami cewy nerwowej sugeruje zjawisko sezonowości. W zebranych materiałach najwięcej dzieci z tymi wadami urodziło się w listopadzie i grudniu a najmniej w pierwszym kwartale kalendarzowym. Przegląd literatury dotyczącej sezonowości wad cewy nerwowej [92] wskazuje na podobną liczbę obserwacji potwierdzających sezonowość, jak też dokumentujących jedynie losową istotę zmienności czasowej w częstościach wad cewy nerwowej. Analiza materiału własnego nie wykazała zjawiska sezonowości wad cewy nerwowej. Podobne wyniki

uzyskano w analizie sezonowości przeprowadzonej dla województwa krakowskiego w latach 1979-82 [88].

Na podstawie powyższych danych epidemiologicznych można stwierdzić, że w ciągu 8 lat nastąpił wzrost częstości wad cewy nerwowej na terenie województwa krakowskiego (9,4/10000 w 1979-81; 11,89/10000 w 1986-89). Tendencja ta zaznaczyła się głównie w postaci 2-krotnego wzrostu częstości bezmózgowia, nadając proporcji tej wady do pozostałych wad cewy nerwowej wartość zbliżoną do obserwowanej w większości krajów Europy kontynentalnej. Ocena tendencji długofalowej na podstawie czteroletniej obserwacji średnich częstości miesięcznych wykazała dodatni współczynnik korelacji nieparametrycznej ($\tau = 0,15$) co jest zgodne z obserwacjami poczynionymi na podstawie większego przedziału czasowego. Podobny wynik uzyskano stosując metodę regresji liniowej (współczynnik korelacji liniowej $R = 0,19$, $\text{tg}(\alpha) = 1,5$ przypadków/rok/10000 urodzeń), niemniej zarówno zmienność roczna częstości jak i korelacje częstości miesięcznych nie były znamienne statystycznie.

1.2. Rozszczepy twarzowej części czaszki

Częstość rozszczepów twarzoczaszki charakteryzuje się mniejszym zróżnicowaniem geograficznym niż częstość wad cewy nerwowej. W regionach Europy częstość łączna rozszczepów twarzoczaszki wynosiła 17,5/10000 w Alzacji [106], 18,9/10000 w Danii [56], 13,3/10000 w północnych Włoszech [17], 18,1/10000 w Czecho-Słowacji [110] i 15,6/10000 w Szkocji [120]. W Stanach Zjednoczonych AP częstość rozszczepów twarzoczaszki wynosiła 14,2/10000 [84], w Kaliforni zarejestrowano częstość 11,2/10000 [98] a w Chinach 18,2/10000 [122]. Na tle tych porównań częstość rozszczepów twarzoczaszki w województwie krakowskim (12,58/10000) jest nieco mniejsza od częstości rejestrowanej w wielu państwach Europy. Rozszczepy twarzoczaszki są często klasyfikowane dla celów analizy genetycznej i epidemiologicznej jako rozszczepy wargi z lub bez rozszczepu podniebienia oraz jako izolowane rozszczepy podniebienia. Proporcja izolowanych rozszczepów podniebienia do rozszczepów wargi z lub bez rozszczepu podniebienia wykazuje znacznie większą zmienność geograficzną niż częstość tych wad. W Alzacji (F) proporcja tych grup wynosiła 0,79:1 [106], w Danii (DM) 0,36:1 [56], w Północnych Włoszech (I) 0,79:1 [17], w Czecho-Słowacji (CS) 0,50:1 [110]. W Stanach Zjednoczonych AP (USA) proporcja rozszczepów podniebienia do pozostałych rozszczepów twarzoczaszki wyniosła 0,57:1 [84], w Kaliforni (CA) 0,51:1 [98] a w

Chinach (RC) 0,09 [122]. Analiza powyższych danych literaturowych może sugerować zwiększanie się udziału izolowanych rozszczepów podniebienia wraz ze zmniejszaniem się łącznej częstości rozszczepów twarzoczaszki. Na terenie województwa krakowskiego (KR) proporcja ta wynosi 0,33:1 i jest najmniejsza spośród wszystkich krajów Europy. W zestawieniu częstości rozszczepów twarzoczaszki w poszczególnych klasach tej wady według regionów geograficznych różnice te stają się łatwiej zauważalne:

| Częstość na 10000 urodzeń | Regiony geograficzne | | | | | | | |
|---------------------------|----------------------|------|-----|------|-----|------|------|------|
| | F | DM | I | CS | USA | (CA) | RC | KR |
| r.wargi | - | 6,4 | | 4,4 | 3,9 | | 5,6 | 4,51 |
| r.podniebienia | 7,7 | 5,1 | 5,8 | 6,0 | 5,2 | 3,8 | 1,5 | 3,14 |
| r.wargi i podniebienia | - | 7,4 | | 7,8 | 5,8 | | 11,2 | 4,92 |
| r.wargi ± r.podniebienia | 9,8 | 13,8 | 7,5 | 12,1 | 9,7 | 7,4 | 16,8 | 9,43 |

Województwo krakowskie, jak wynika z przedstawionego zestawienia, charakteryzuje się małą częstością izolowanych rozszczepów podniebienia. Częstość rozszczepów podniebienia pierwotnego (rozszczep wargi z lub bez rozszczepu podniebienia) pozostaje jednak proporcjonalna do łącznej częstości rozszczepów twarzoczaszki u rasy białej.

Udział płci w rozszczepach twarzoczaszki jest zazwyczaj analizowany rozdzielnie dla rozszczepów podniebienia pierwotnego i dla izolowanych rozszczepów podniebienia wtórnego. Ryzyko względne urodzenia się dziecka z rozszczepem podniebienia pierwotnego jest większe dla płci męskiej. Wielkość tego ryzyka ustalona na podstawie materiału własnego (RW = 1,67) nie różni się istotnie od wartości stwierdzonej w Stanach Zjednoczonych AP (RW = 1,9) [98]. W grupie izolowanych rozszczepów podniebienia obserwowano przewagę płci żeńskiej (RW = 1,37) co również było odnotowane w danych amerykańskich (RW = 1,79).

Miesiącami, w których urodziło się najwięcej dzieci z rozszczepami twarzowej części czaszki były czerwiec i październik. Miesiące zimowe charakteryzowała mniejsza liczbą przypadków tych wad. Analiza sezonowości sugeruje jednak losowy charakter różnic w częstościach miesięcznych rozszczepów twarzoczaszki.

Obserwacje tendencji długofalowych w częstościach rozszczepów twarzoczaszki wskazują na znikome ich zmiany. W materiale amerykańskim częstość izolowanych rozszczepów podniebienia wykazywała niewielką tendencję wzrostową (5,05/10000 w

badania przesiewowe w kierunku tej wady są wykonywane od 1966 roku, statystyki wskazywały na możliwość rozpoznania wrodzonego zwichnięcia stawów biodrowych jedynie u 30% noworodków oraz olbrzymią liczbę rozpoznań fałszywie dodatnich stawianych w tym wieku (10:1) [63]. Można zatem wysnuć wniosek, że jedynie przedłużony okres diagnostyki pozwala ustalić faktyczną częstość tej wady, a także konieczna jest weryfikacja zgłaszanych przypadków. Obydwa te postulaty zostały spełnione w realizowanym modelu rejestracji wielokrotnej.

Częstość wrodzonej dysplazji stawów biodrowych wykazuje długofalową tendencję wzrostową. W danych amerykańskich średni roczny przyrost częstości wyniósł 11,3% między latami 1970-71 a 1982-83 [84]. Najbardziej interesująca jest jednak obserwacja poczyniona w północnym regionie Francji - Bretanii, gdzie według wiarygodnych danych wada ta była niesłychanie rzadka w XVIII wieku, a w latach 60-tych jej częstość wyniosła 360/10000, stanowiąc najwyższą częstość w Europie [73]. W województwie krakowskim, analiza rozkładu rocznego liczby przypadków wrodzonego zwichnięcia stawów biodrowych wykazała również tendencję wzrostową (7,9% przypadków/rok, $\text{tg}(\alpha) = 3,5$ przypadków/rok/10000 urodzeń), stwierdzono jednak znaczne wahania średnich rocznych (współczynnik korelacji liniowej $R = 0,4$).

Drugą co do częstości grupą wad kończyn są wrodzone wady stóp (stopy szpotawe, koślawe). W zebranych materiale izolowane wady stóp stanowiły 29,3% wad kończyn. Częstość deformacji stóp stwierdzona u noworodków w badaniach szwedzkich wynosiła 420/10000 [116]. W pracy tej po 5 latach obserwacji wykazano utrzymujące się nieprawidłowości budowy stóp jedynie w 13% przypadków, pomimo faktu, że leczenie ortopedyczne zastosowano jedynie u 4,3% pacjentów. Przyjmując, że wrodzone wady stóp w odróżnieniu od deformacji związanych z ułożeniem płodu, nie ustępują samoistnie, skorygowana częstość wad wrodzonych stóp w Szwecji wyniosła około 52 przypadki na 10000 urodzeń. W Stanach Zjednoczonych AP częstość wad wrodzonych stóp była szacowana na 25,6/10000 [84]. Zaznaczyć należy, że cytowane częstości nie są porównywalne ze względu na występowanie wtórnych deformacji stóp, związanych z chorobami ośrodkowego układu nerwowego, które to przypadki zostały wliczone do statystyk szwedzkich. W materiale własnym częstość wrodzonych wad stóp w województwie krakowskim wyniosła 31,9/10000. Podobnie jak w danych amerykańskich częstość tę wyliczono na podstawie liczby przypadków izolowanych wad stóp, nie będących wtórną deformacją wywołaną chorobą neurologiczną, ani nie wykazujących tendencji do samoistnego ustępowania. Wrodzone wady stóp w Stanach Zjednoczonych AP nie wykazywały

długofalowych zmian częstości występowania. Tendencja zarejestrowana pomiędzy latami 1970-71 a 1982-83 wyniosła -0,6% przypadków na rok [84]. Badając tendencję czteroletnią w częstościach wad stóp w województwie krakowskim wykazano natomiast znamienne wzrost częstości tych wad. Częstości roczne ($cz_{86} = 23,0$; $cz_{87} = 28,2$; $cz_{88} = 34,1$; $cz_{89} = 34,4$) w równaniu regresji liniowej dały roczny przyrost częstości wrodzonych wad stóp o 13,4% ($tg(\alpha) = 4,3$ przypadków/rok/10000 urodzeń, współczynnik korelacji liniowej $R = 0,95$; $p = 0,048$).

Częstości wad redukcyjnych kończyn w postaci amelii, fokomelii, pteromelii i adaktylii rejestrowanych na terenie województwa krakowskiego były stosunkowo duże. Łączna częstość tych wad (6,42/10000) była 1,7 razy większa niż w Stanach Zjednoczonych AP (3,69/10000) [84].

Największa liczba urodzeń dzieci z wadami kończyn była notowana w styczniu. Należy jednak zaznaczyć, że miesięczne częstości tych wad charakteryzowały się najmniejszym spośród analizowanych wad odchyleniem standardowym. Przeprowadzony test sezonowości jednoznacznie wskazuje na losowy rozkład urodzeń z wadami kończyn w ciągu roku kalendarzowego.

Częstość wady kończyn analizowanych łącznie wykazała na terenie województwa krakowskiego tendencję wzrostową zarówno przy porównaniu częstości miesięcznych ($\tau = 0,285$; test korelacji rang, współczynnik korelacji liniowej $R = 0,43$) jak i przy porównaniu średnich rocznych (współczynnik korelacji liniowej $R = 0,88$, $tg(\alpha) = 9,9$ przypadków/rok). Roczny przyrost częstości tych wad w okresie czteroletnim wyniósł 9,75%.

2. Zróźnicowanie częstości wad wrodzonych na terenie województwa krakowskiego w latach 1986-1989

Przedstawione wyniki analizy epidemiologicznej pozwoliły na określenie częstości badanych wad wrodzonych w województwie krakowskim oraz dokonanie porównań międzyregionalnych. Przeprowadzona została również analiza zmienności osobniczej, szczególnie w zakresie udziału płci w poszczególnych podgrupach wad. Nie stwierdzono sezonowości urodzeń dzieci z wadami, jakkolwiek zjawisko to było obserwowane w badaniach przeprowadzonych w latach 1960-61 [41] na terenie Polski południowej. W

okresie tym obserwowano zwiększone nasilenie urodzeń z wadami wrodzonymi w okresie wiosennym dla środowisk wiejskich a w okresie letnim dla dzieci miejskich. Fakt ten można tłumaczyć zarówno zatarciem różnic między miastem a wsią w obecnym województwie krakowskim jak i odmienną dynamiką oddziaływań teratogennych związanych z postępującą degradacją środowiska naturalnego.

2.1. Potencjał teratogeny pierwiastków uwzględnionych w analizie

Na podstawie licznych prac badawczych zostało udokumentowane wchłanianie metali ciężkich z wody i pożywienia. Odkładanie kadmu u bydła wypasanego w okolicach o dużym opadzie tego pierwiastka powodowała w wątrobie i nerkach tych zwierząt stężenia sięgające tak dużych wartości (2,5 mg/kg), że należałoby odradzać ich spożycie [3]. Dla Krakowa duży opad atmosferyczny metali ciężkich był przyczyną ich nagromadzenia, głównie w naziemnych częściach warzyw. Zawartość kadmu i ołowiu w jarzynach z krakowskich ogródków działkowych przekraczała wartości dopuszczalne 1,5 do 10 krotnie [42]. Można kwestionować udział żywności wśród źródeł skażenia metalami ciężkimi ponieważ jej dystrybucja oraz struktura spożycia jest zazwyczaj bardzo niejednorodna. Dowodem zależności pomiędzy narażeniem środowiskowym a akumulacją metali ciężkich w organizmie mogą być jedynie porównania ich zawartości w tkankach. Mechanizm akumulacji metali ciężkich w organizmie powoduje, że ich stężenie we krwi jest zaledwie jednym ze wskaźników równowagi dynamicznej pomiędzy pulą unieruchomioną metalu a pulą labilną, zależnym od aktualnej podaży pierwiastka oraz jego wydalania. Wykazano ścisłą zależność pomiędzy poziomem ołowiu we krwi a stopniem urbanizacji w miejscu zamieszkania. Ponadto dla zawodów związanych ze zwiększoną ekspozycją na związki ołowiu (spawacz, hutnik) stężenia tego pierwiastka we krwi były 2 - 3 krotnie większe niż w odpowiednich grupach kontrolnych. Analiza zawartości ołowiu we włosach i w zębach, ustalająca wielkość frakcji unieruchomionej pierwiastka (akumulację) wykazała dla tych samych narażeń zawodowych różnice przekraczające rząd wielkości [4]. Porównanie na terenie Krakowa stężenia ołowiu w krwinkach czerwonych u mieszkańców miasta i u pracowników kombinatu metalurgicznego wykazało większe stężenie pierwiastka w przypadku narażenia zawodowego [124]. Użycie czułej metody pomiaru zawartości ołowiu w kośćcu *in vivo* (fluorescencja rentgenowska) pozwoliło na wykrycie skutków biologicznych narażenia wziewnego na ołów nawet przy prawidłowym stężeniu tego pierwiastka we krwi [75].

Wziewna droga wchłaniania ołowiu wyjaśnia różnice w stężeniu tego pierwiastka w tkankach ustrojowych dla różnych kategorii narażenia zawodowego i geograficznego. Droga wziewna ma również zasadnicze znaczenie w przypadku zawodowej ekspozycji na kadm i nikiel. Pomiary *in vivo* metodą neutronowej analizy aktywacyjnej kadmu w wątrobie i nerkach u robotników narażonych na drodze wziewnej wykazały znamiennej korelację z wskaźnikiem ekspozycji opartym na zawartości tego pierwiastka w powietrzu [72]. Badania nad zawartością niklu w tkance płucnej wskazują nie tylko na akumulację tego pierwiastka związaną z narażeniem zawodowym ale również na korelację ilości niklu zdeponowanego w płucach do zawartości tego pierwiastka w powietrzu [30]. W porównaniu z drogą wziewną, w której płucne depozyty niklu ulegają powolnej lecz stałej resorbcji dzięki mechanizmowi fagocytozy [7], wchłanianie tego metalu z pożywienia jest niewielkie (1% - dla typowego posiłku; 25% dla pitnej wody), a czas półtrwania pierwiastka dostarczonego drogą doustną sięga zaledwie 28 godzin [108].

Molekularny mechanizm działania teratogennego niklu może mieć bezpośredni związek z modyfikacją informacji genetycznej. Eksperymenty *in vitro* wskazują na powstawanie połączeń chemicznych pomiędzy niklem a DNA i białkami histonowymi (crosslinking) [60]. Modyfikowanie DNA na drodze chemicznej jest przyjmowane również jako przyczyna karcinogennego działania związków niklu. Drugim mechanizmem odpowiedzialnym za embriotoksyczność i teratogenność niklu jest hyperglikemia u matki powodowana działaniem związków tego pierwiastka. Embriotoksyczność niklu manifestuje się zmniejszoną częstością zagnieżdżenia zarodka oraz wzrostem częstości jego resorbcji. Wśród wad wrodzonych stwierdzanych u płodów narażonych podczas embriogenezy na związki niklu obserwowano bezmózgowie, przepukliny mózgowo, wady kończyn i rozszczepy podniebienia [23]. Modele eksperymentalne wskazują na funkcję trofoblastu, jako bariery dla przenikania niklu do tkanek płodu [71], mimo tego stwierdzano obecność niklu w tkankach płodu i błonach płodowych [70].

Kadm, którego okres biologicznego półtrwania sięga dziesiątków lat ze względu na szczególnie silne powinowactwo do metalotionein, został przebadany pod względem potencjału teratogennego głównie *in vitro*. Efektem działania embriotoksycznego kadmu jest znaczne zmniejszenie zdolności jaja płodowego do zagnieżdżenia [6]. Szczególnie wrażliwym na działanie toksyczne kadmu okresem rozwoju zarodka jest stadium zamykania się cewy nerwowej i migracji neuro- i miocytów. Śmiertelność zarodków płazów w tym okresie sięgała 55%, a u przetrwałych zarodków częstość wad wynosiła 92% [48].

Ołów, metal ciężki, którego biokinetyka jest zbliżona do kadmu ze względu na odkładanie mające miejsce w tkance kostnej, również został poznany jako teratogen *in vitro*. Eksperymenty podobne do badań nad kadmem wykazały największą wrażliwość u zarodków w okresie rozwojowym, w którym podejmują aktywność nerwowo-mięśniową. Śmiertelność zarodków sięgała 30%, częstość wad wrodzonych u tych zarodków, które przeżyły wynosiła 90%. Podobnie jak dla kadmu wśród wad dominowały wady cewy nerwowej i wady kończyn [87].

Toksyczność związków miedzi polega na katalizowaniu niekorzystnych dla organizmu reakcji utleniania lipidów. Ostрым zatruciom miedzią często towarzyszy hemoliza związana z uszkodzeniem błony komórkowej erytrocytów [51]. Głównym mechanizmem obrony organizmu przed nadmierną podażą miedzi jest jej wydalanie z żółcią dzięki obecności ceruloplazminy, białka wychwytyjącego i transportującego do wątroby jony miedzi. U człowieka najczęściej spotykane zatrucie przewlekłe miedzią w postaci choroby Wilsona przebiega z uszkodzeniem wątroby i ośrodkowego układu nerwowego głównie na drodze zwiększenia przepuszczalności uszkodzonej przez miedź błony mitochondriów [97]. Należy zatem przypuszczać, że teratogenne działanie miedzi stwierdzone w badaniach eksperymentalnych [99] związane jest również z zaburzeniem stanu energetycznego komórek wywołanym przez uszkodzenie mitochondriów.

Związkom żelaza nie przypisano działania teratogenne. Komórki organizmu dysponują układem białek (receptor transferyny i ferrytyna), które regulują wpływ tego pierwiastka do komórki i jego magazynowanie wewnątrzkomórkowe. Szczególnie intensywna kontrola syntezy tych białek ma miejsce w szybko mnożących się komórkach. Homeostaza żelaza jest oparta na bezpośredniej regulacji translacji ferrytyny i receptora transferyny poprzez wiązanie jonów pierwiastka ze szczególnymi sekwencjami mRNA tych białek [19]. Możliwe jest zapewne oddziaływanie jonów żelaza na translację innych genów jako że struktury mRNA wiążące ten pierwiastek mają uniwersalną konformację "palczastą".

Cynk jest metalem, którego efekt teratogeny wydaje się być ujemny, stanowiąc przeciwwagę dla wymienionych metali ciężkich. Cytowany ochronny efekt cynku jest zauważalny przy ekspozycji na kadm i ołów. Niedobór cynku, znany w klinice po postacią *acrodermatitis enteropathica* może wpływać na wzrost częstości wad wrodzonych [99] również na drodze zaburzenia reakcji metabolicznych, dla przebiegu których metal ten jest

kofaktorem. Jony cynku wchodzą także w skład kompleksów białkowych (zinc fingers proteins), które odgrywają ważną rolę w regulacji transkrypcji wielu genów [62].

Efekt teratogeny metali ciężkich może być modyfikowany wpływem dwóch odmiennych mechanizmów. Pierwszy polega na indukcji metalotionein w organizmie matki, a również w łożysku, które stanowi ochronę dla zarodka lub płodu przed uszkadzającym działaniem metali. W modelu eksperymentalnym efekt taki osiąga się przez wcześniejsze ekspozycje organizmu matki na metal ciężki (pretreatment) [45] lub podanie innego metalu (bizmutu) jako induktora metalotionein [81]. Drugi z efektów jest stwierdzany *in vitro* dla cynku i polega na ochronnym działaniu jego jonów, które w odpowiedniej koncentracji hamują całkowicie działanie teratogenne ołowiu [49] i kadmu [6, 91]. O ile współzawodnictwo między jonami cynku i metali ciężkich o udział w przemianach metabolicznych może tłumaczyć antagonizm ich działania teratogennego, to doniesienia o zmniejszeniu się częstości wad wrodzonych pod wpływem podaży cynku u szczepów laboratoryjnych charakteryzujących się dużą spontaniczną częstością wad [47] sugeruje aktywny mechanizm działania tego metalu. Obserwowany pod wpływem cynku wzrost przeżywalności zarodków i zmniejszenie się częstości wad wrodzonych może mieć związek z aktywnością tego metalu jako składnika polimeraz DNA i RNA.

Pozostałe pierwiastki, których opad został uwzględniony w analizie epidemiologicznej wad wrodzonych charakteryzują się również potencjałem embriotoksycznym i teratogenym. Chrom, równie reaktywny w połączeniach organicznych jak miedź posiada także bardziej swoiste działanie toksyczne, którego manifestacją jest hypoglikemia. Jony tego metalu nasilają wiązanie insuliny z jej receptorami. Stany niedocukrzenia podobnie jak i hyperglikemii poprzez zaburzenia we frakcjach kwasów tłuszczowych i ketokwasów mogą indukować powstanie wad wrodzonych. Pod wpływem chromu w warunkach eksperymentalnych wywoływano u płodów zwierząt wady wrodzone kośćca i rozszczepy twarzoczaszki [99].

Jony fluoru, których nadmiar powoduje zaburzenia mineralizacji kośćca i rozchwianie gospodarki wapniowej, są także silnym inhibitorem wielu reakcji enzymatycznych organizmu. Jon fluorkowy obniża wewnątrzkomórkową zawartość jonów magnezu, pełniących rolę aktywatorów enzymów, wśród nich głównego szlaku energetycznego komórki jakim jest cykl cytrynianowy Krebsa [44]. Pośród wad wrodzonych indukowanych przez jony fluoru wymienia się wady serca [99].

2.2. Wpływ zanieczyszczenia środowiska metalami ciężkimi i fluorem na występowanie wad wrodzonych

Środowiskowe, a szczególnie pochodzące z atmosfery narażenie na metale ciężkie ma znaczenie w medycynie pracy. Ujemne skutki oddziaływania niklu, kadmu, chromu, ołowiu znane są dla grup zawodowych takich jak hutnicy, spawacze, pracownicy wydziałów galwanizerskich i przemysłu elektrotechnicznego. Narażenie niezawodowe w sposób klinicznie uchwytne stwierdzone jest głównie u dzieci i dotyczy przewlekłego zatrucia ołowiem. Istnieją przesłanki, że we wszystkich tych przypadkach ważną drogą wchłaniania metali ciężkich jest układ oddechowy. Udokumentowana została korelacja pomiędzy ilością tych pierwiastków w powietrzu a ich stężeniem w tkankach organizmu. Uzyskane wyniki analizy epidemiologicznej wad wrodzonych nie mają służyć dokumentacji teratogennego oddziaływania metali ciężkich i fluoru na dzieci urodzone w województwie miejskim krakowskim. Nie zostały spełnione założenia wymagane do przyjęcia takich wniosków jak:

ściśle zdefiniowanie badanej grupy (kohorty) oraz grupy kontrolnej - określenie ekspozycji na metale ciężkie dla ciężarnych,

uwzględnienie zmiennych zakłócających (narażenia zawodowe, zawartość analizowanych pierwiastków w wodzie i pożywieniu, dieta, używki itp.),

udokumentowanie zwiększonego stężenia metali ciężkich w tkankach organizmu matki i dziecka.

Podstawowym celem pracy było uzyskanie odpowiedzi na pytanie czy regiony województwa krakowskiego charakteryzujące się zwiększonym zanieczyszczeniem środowiska atmosferycznego mają istotnie większą częstość występowania wad wrodzonych. Wnioskowanie zmierzające do weryfikacji tej hipotezy zostało przeprowadzone poprzez dokonanie wyliczeń ryzyka względnego urodzenia się dziecka z wadą wrodzoną. Posłużono się w tym celu grupami analizowanych wad, bez ich rozdziału na typy. Zdecydował o tym fakt, że różnice w epidemiologii poszczególnych typów wad, na przykład rozszczepów wargi, wargi i podniebienia czy tylko podniebienia w świetle teratologii są domeną rozważań teoretycznych nad wieloczynnikowym modelem dziedziczenia [37]. Dla przykładu postulowany podział wad cewy nerwowej na zaburzenia neurulacji i zaburzenia kanalizacji nie znajduje nadal poparcia w analizach genetyczno-epidemiologicznych [96]. Przyjęcie, jako podstawy analizy jedynie urodzeń z wadami izolowanymi było uzasadnione

ich najczęstszym występowaniem w takiej właśnie formie. Występowanie analizowanych wad w zespołach wad wrodzonych ma często związek ze ściśle określoną etiologią taką, jak aberracje chromosomowe czy choroby monogenowe. W przypadku aberracji chromosomowych średnio 10,6 spośród 24 umownie wyróżnianych układów/regionów ciała wykazuje wrodzone anomalie, dla chorób monogenowym zajęte jest średnio 3,6 układów ciała [119]. Stwierdzenie obecności wady izolowanej w zakresie jednego układu (narządu) ciała przemawia zatem przeciwko etiologii nie będącej bezpośrednio wynikiem działania teratogennego. Wynikiem teratogenezy może być również urodzenie dziecka z mnogimi wadami wrodzonymi. Dla grup wad poddanych analizie szacuje się, że w około 10% należą one do obrazu klinicznego zespołu mnogich wad wrodzonych o poznanej etiologii środowiskowej [69]. Nie uwzględnienie w przeprowadzonych analizach przypadków, które mogły być uwarunkowane środowiskowo, a klinicznie przedstawiały obraz mnogich wad pozwoliło odrzucić te przypadki wad, dla których modele dziedziczenia nie zależą od zmiennej środowiskowej.

Dwie podstawowe techniki badań epidemiologicznych używane w celu testowania hipotez badawczych to badanie retrospektywne kohorty oraz badanie przypadków-kontrola [86]. Forma rejestracji urodzeń dzieci z wadami wrodzonymi narzuciła wybór badania nad kohortą. Niezbyt duża liczba urodzeń dzieci z wadami pozwoliła zrezygnować z ich losowania i dokonać obliczeń dla wszystkich przypadków. Na podstawie danych demograficznych należy sądzić, że błąd wynikający z migracji wewnętrznej i zewnętrznej ludności województwa krakowskiego nie przekraczał 5-7%. W połączeniu z błędem wynikającym z szacowania populacji sektorów badawczych (3%) dokładność wyników wydaje się być zadowalająca. W badaniach typu przypadek-kontrola, zakładając próbkowanie skupiskowe jako jedyne możliwe dla rekrutacji ciężarnych do badań wartość błędu oszacowania ryzyka względnego może sięgać 12% [40].

W podobnie zaplanowanych badaniach epidemiologicznych dotyczących wpływu substancji chemicznej ochrony roślin na ciążę [115] posłużono się rejestrami administracyjnymi urodzeń rezygnując z aktywnej metody zbierania danych. Analizę matematyczną przeprowadzono natomiast dla większej liczby klas ekspozycji ($n = 7$). W celu obliczenia ryzyka względnego w cytowanej pracy posługiwano się procedurą Mantel-Haenszel dla danych w przedziałach klasowych. Według Nurminena [83] zastosowanie estymatorów przedziału ufności ryzyka względnego opartych na logarytmicznej aproksymacji funkcji χ^2 obciąża wyniki błędem, zwłaszcza w przypadku niewielkich liczebności danych. W materiale własnym wyróżniono 2 klasy ekspozycji. Rozgraniczenie

dwóch klas sektorów pomiarowych na podstawie średniego opadu analizowanych pierwiastków na grupę o opadzie większym od średniej globalnej (grupa eksponowana), oraz grupę o opadzie mniejszym od średniej globalnej (grupa kontrolna) było uzasadnione ze względu na znamienne różnice opadu między takimi klasami stwierdzone w teście analizy wariancji. Duża skośność rozkładu dla opadu pierwiastków nie pozwoliła na przeprowadzenie analizy dla liczniejszych klas ze względu na ich zbyt małą liczebność. Wartości statystyki χ^2 oraz granice przedziału ufności dla ryzyka względnego zostały obliczone na podstawie funkcji prawdopodobieństwa dwóch rozkładów dwumianowych (Poissona), co gwarantowało większą moc testu statystycznego.

Wyniki przeprowadzonej analizy wskazują na podobieństwo profili ryzyka względnego, wyliczonego dla poszczególnych pierwiastków w wadach cewy nerwowej i rozszczepach twarzoczaszki. Dla obu rodzajów wad stwierdzono zwiększenie ryzyka ich wystąpienia w przypadku większego opadu kadmu, miedzi, ołowiu, żelaza i fluoru, uzyskując dla tych pierwiastków znamienność statystyczną wartości ryzyka względnego. Stwierdzenie dwu- do trzykrotnie większego ryzyka urodzenia się dziecka z wadą w sektorach o wzmożonym opadzie kadmu, miedzi i ołowiu znalazło również potwierdzenie w analizie przeprowadzonej dla frakcji rozpuszczalnej opadu tych pierwiastków. Dla frakcji rozpuszczalnej miedzi i ołowiu obie grupy wad wykazały znamienności statystyczne, natomiast znamienny wzrost ryzyka związanego z zawartością frakcji rozpuszczalnej kadmu w opadzie zaznaczył się jedynie w grupie wad cewy nerwowej. Porównanie uzyskanych rezultatów z innymi czynnikami ryzyka wad cewy nerwowej wskazuje na podobieństwo wartości ryzyka względnego związanego z zanieczyszczeniem środowiska do stwierdzanych u rodzin obciążonych genetycznie (z przypadkiem wady w rodzinie probanta). Cięża w okresie do 12 miesięcy po przebytych poronieniu zwiększa ryzyko ponownego wystąpienia wady cewy nerwowej 3,45 krotnie a wcześniejsze urodzenie dwojga lub więcej dzieci z wadą cewy nerwowej powoduje 2,51 krotne zwiększenie ryzyka wady [117] w stosunku do kobiet, które miały jedno dziecko z wadą.

Ryzyko urodzenia dziecka z wadą kończyn było znamienne większe dla sektorów o większym opadzie całkowitym miedzi, ołowiu, żelaza i fluoru. W zestawieniach frakcji rozpuszczalnej opadu pierwiastków, dla wad kończyn potwierdzenie statystyczne znalazło zwiększenie ryzyka wystąpienia wad wyłącznie dla opadu miedzi i ołowiu. Wartości ryzyka względnego dla wad kończyn były mniejsze niż dla pozostałych grup wad. Szczególnie interesujące okazało się stwierdzenie zmniejszenia ryzyka wystąpienia wad kończyn w

sektorach o większym opadzie chromu, niklu i cynku, zjawisko to nie było obserwowane dla pozostałych grup wad.

Testowanie hipotez dotyczących teratogennej etiologii poszczególnych wad wrodzonych prowadzone jest zazwyczaj w drodze badań epidemiologicznych kontrola przypadku. Zarówno działanie potencjalnego teratogenu jak i sama wada wrodzona charakteryzują się pewną śmiertelnością płodową. Obliczenia ryzyka względnego związanego z działaniem teratogenu na podstawie częstości wad wrodzonych stwierdzanych u noworodków charakteryzują się zatem istotnym błędem selekcji. W przypadku analizowanych wad wrodzonych oraz teratogenów w postaci metali ciężkich śmiertelność płodowa ulega zapewne spotęgowaniu, co oznacza, że liczba obumarłych płodów jest większa od oczekiwanej na podstawie śmiertelności płodowej wad (teratotanazji) i embriotoksyczności teratogenu. Nadwyżka śmiertelności wynika z faktu indukcji przez teratogeny dodatkowych wad, które charakteryzują się pewną śmiertelnością (efekt multiplikacyjny) [61]. Rozumowanie to można zobrazować przykładem hipotetycznego teratogenu, który równocześnie powoduje uszkodzenie łożyska. Czynniki ten powoduje powstanie wady rozwojowej stwierdzanej u niewielkiego odsetka noworodków. Zwiększenie ekspozycji pewnej populacji ciężarnych na teratogen zwiększy przede wszystkim częstość zmian degeneracyjnych łożyska, co pociągnie za sobą zwiększone ryzyko utraty ciąży. Zdarzyć się może, że w populacji tej nie zwiększy się częstość wady u noworodków, a jedynie obserwowana będzie zwiększona częstość poronień. Możliwość zaniżenia częstości wad wskutek śmiertelności płodowej nakazuje ostrożność w interpretacji wyliczonych wartości ryzyka względnego, zważywszy, że dokonano pewnych założeń, które mogły być źródłem dodatkowego błędu. Analiza histologiczna i histochemiczna łożyska z terenów Krakowa i Nowej Huty wykazała znaczne ich uszkodzenia w zakresie struktury i aktywności enzymatycznych. Zmiany te przypisywano szkodliwemu oddziaływaniu fluoru, dwutlenku siarki i metali ciężkich [123].

Próby weryfikacji wartości ryzyka względnego z zastosowaniem metody korelacji liniowej natrafiły na szczególne trudności związane z rozkładem zmiennych znacznie odbiegającym od rozkładu normalnego. Po przeprowadzeniu regresji wielokrotnej standaryzowanej na 100000 mieszkańców liczebności wad w sektorach do średniej trzyletniej opadu pierwiastków uzyskano wartości współczynników korelacji mniejsze niż dla danych niestandaryzowanych. Standaryzację przeprowadzono w celu zmniejszenia wpływu znacznych różnic w gęstości zaludnienia sektorów badawczych na prowadzoną analizę. Pomimo braku znamienności statystycznej dodatnie współczynniki korelacji

pozwalają wiązać 19 - 43% zmienności przestrzennej liczby wad wrodzonych z zanieczyszczeniem atmosferycznym. Wyliczone współczynniki korelacji potwierdzają oszacowane metodą nieparametryczną ryzyko względne. Podobnie jak wartości ryzyka względnego współczynniki korelacji określają pewien profil zanieczyszczenia atmosferycznego kojarzący się ze wzrostem częstości wad wrodzonych. Precyzyjne ustalenie, które spośród analizowanych pierwiastków odgrywały kluczową rolę modyfikując częstości wad wymaga przeprowadzenia analizy składnikowej (component analysis). Ponieważ opierano się na danych szacunkowych dotyczących populacji i częstości lokalnych wad oraz założeniach jednorodnej struktury demograficznej użycie tej parametrycznej metody statystycznej nie wydawało się wskazane.

Celem uniezależnienia od wymienionych powyżej źródeł błędów przeprowadzono porównanie profilu zanieczyszczenia atmosfery dla obszarów wyróżnionych na podstawie analizy skupisk. Analiza skupisk jest stosowana w przypadku badań epidemiologicznych nad chorobami, dla których potencjalne ogniska epidemiologiczne są trudne do odróżnienia od zapadalności tworzącej tło zachorowań [86]. Porównanie średnich opadów trzyletnich pierwiastków na obszarach o szczególnej koncentracji przypadków wady z obszarami, na których stwierdzono przypadki tej samej wady w mniejszej liczebności pozwoliło wykazać znamienne różnice w opadzie pierwiastków charakteryzującym otoczenia każdego z analizowanych przypadków wady. Dla trzech analizowanych grup wad regiony geograficzne o zwiększonej koncentracji urodzeń dzieci z wadami miały zwiększony średni trzyletni opad ołowiu i miedzi. Dla grupy wad cewy nerwowej stwierdzono również zwiększony opad niklu i żelaza. Większy opad chromu, cynku i fluoru charakteryzował liczniejsze skupiska geograficzne wad kończyn i rozszczepów twarzoczaszki. Ponadto dla rozszczepów twarzoczaszki stwierdzono również zwiększony opad kadmu i niklu. Analogicznych porównań dokonano dla skupisk przestrzenno-czasowych, na podstawie rejestrowanego dla każdego przypadku wady opadu kwartalnego. W ten sposób można było uwzględnić wpływ wahań sezonowych w opadzie atmosferycznym pierwiastków. Uzyskane wyniki ponownie sugerują zależności statystyczne między urodzeniami dzieci z wadami wrodzonymi a stopniem zanieczyszczenia środowiska mierzonym opadem atmosferycznym metali ciężkich i fluoru. Wartość kwartalna opadu w okresie odpowiadającym początkowi ciąży, z której urodziły się dzieci z wadami była większa dla skupisk liczących więcej przypadków wad. Zastanawia podobieństwo wyników do porównań dla średniej trzyletniej opadu.

Wady cewy nerwowej oraz rozszczepy twarzoczaszki charakteryzowały się występowaniem na obszarach o większym opadzie pierwiastków niż wady kończyn. Interesujące jest stwierdzenie zwiększonego opadu fluoru na obszarach, na których wystąpiły liczne skupiska przestrzenne rozszczepów twarzoczaszki (tabela 29) a jednocześnie obserwowano znamienne zmniejszenie opadu fluoru dla większych skupisk przestrzenno-czasowych tej wady (tabela 30). Nasuwa się tutaj hipoteza multiplikacyjnego oddziaływania tego pierwiastka na teratogenezę i śmiertelność płodową. Podobny mechanizm mógłby tłumaczyć analogiczne rozbieżności w relacjach rozszczepy twarzoczaszki a opad miedzi. Wyjątek, jakim była obserwacja opadu niklu dla grupy wad kończyn znalazł potwierdzenie zarówno w wyliczeniach ryzyka względnego jak i w porównaniach skupisk tych wad. Regiony województwa krakowskiego, w których rejestrowano zwiększony opad atmosferyczny niklu charakteryzowały się mniejszą częstością wad wrodzonych kończyn.

Ze względu na wieloletni okres ekspozycji wziewnej na metale ciężkie i fluor wymagany dla ujawnienia efektów toksycznych czy choćby biologicznych należy doszukiwać się innych przyczyn podobieństwa tych wyników. Wśród nich wymienić można zapewne stały na przestrzeni wielu lat profil lokalnego zanieczyszczenia atmosfery oraz niewielki ruch ludności na terenie województwa krakowskiego. Przeprowadzona przestrzenno-geograficzna analiza porównawcza częstości występowania białaczek w regionie krakowskim w latach 1951 - 1975 niezbicie wykazała istnienie takiego zróżnicowania [53]. Wyniki tej pracy pośrednio wskazywały na czynniki środowiskowe jako decydujące w inicjowaniu proliferacji białaczkowej. Skażenie wody pitnej było jednym z czynników środowiskowych ściśle korelującym z zachorowalnością na białaczki [54]. W pracy własnej informacja dotycząca degradacji środowiska naturalnego była ograniczoną do pomiaru opadu atmosferycznego pierwiastków. Skażenie wody pitnej mogło być zatem zmienną zakłócającą przeprowadzone analizy. Należy jednak podkreślić, że zwłaszcza w regionach wiejskich opad atmosferyczny decyduje o skażeniu wód gruntowych, zatem można wykorzystane dane uznać za ogólny wskaźnik zagrożenia środowiskowego.

Zależności statystyczne opisujące rozkład przestrzenny i czasowy urodzeń dzieci z wadami wrodzonymi w odniesieniu do długofalowego narażenia środowiskowego potwierdzają związek wzrostu ryzyka względnego wystąpienia wady ze zwiększonym opadem metali ciężkich i fluoru. Ponadto stwierdza się zgodność rodzaju stwierdzonych wad wrodzonych z efektem teratogennym tych pierwiastków na modelach zwierzęcych. W świetle teorii "pól rozwojowych" [85] zbieżność taka jest silnym argumentem przemawiającym za teratogennym wpływem metali ciężkich na obserwowane przypadki

wad. Wada rozwojowa może być bowiem przejawem zaburzenia w obrębie pola rozwojowego zarodka, które jest ściśle podobne do filogenetycznego odpowiednika u zwierząt laboratoryjnych.

Wady wrodzone o wieloczynnikowym modelu dziedziczenia mogą być uwarunkowane wieloma zmiennymi środowiskowymi, wśród których metale ciężkie wyjaśniałyby jedynie ułamek wariancji zmiennej środowiskowej. Dla oszacowania wariancji środowiskowej mającej wpływ na wystąpienie wady należy zbudować model empiryczny oparty na wielokrotnych korelacjach zmiennych środowiskowych, który pozwoliłby najlepiej wyjaśnić zmienność występowania wady. W celu budowy takiego modelu konieczne są dokładne dane na temat ponad 20 zmiennych środowiskowych dotyczących kilkuset rodzin, w których wystąpiły przypadki wad wrodzonych. Posłużenie się niekompletnym zestawem danych środowiskowych prowadzi zazwyczaj do zaniżenia udziału tego składnika oraz elementu rodzinnego (nazywanego dziedzicznością kulturową) a zawyżenia udziału dziedziczności warunkowanej czynnikami genetycznymi [90]. W przedstawionej analizie budowa indeksów środowiskowych nie była możliwa ze względu na brak danych dotyczących rodzin dzieci z wadami wrodzonymi.

Pośród czynników środowiskowych modyfikujących ryzyko wystąpienia wad cewy nerwowej należy wymienić zakażenia układu oddechowego u matki w I trymestrze ciąży [80] i niedobór cynku w organizmie matki [36]. Większe ryzyko wystąpienia wad cewy nerwowej u kobiet urodzonych w Anglii przed 1950 rokiem starano się wytłumaczyć stosowaniem to tego okresu leków pediatrycznych zawierających związki rtęci [12]. Wpływ wieku matki nie zaznaczył się w analizie wad cewy nerwowej przeprowadzonej we Włoszech [1]. Na podstawie badań wirusologicznych wykluczono również związek między zakażeniami wirusem grypy a bezmózgowiem [95]. Nie znaleziono dowodów na związek wad cewy nerwowej z takimi czynnikami jak palenie papierosów, liczba poprzednich ciąży, rodzaj zatrudnienia [32], a dla grupy matek zgłaszających zwiększoną konsumpcję alkoholu przedział ufności ryzyka względnego wyniósł 0,8-4,4 [114].

W grupie rozszczepów twarzoczaszki wykazano wzrost ryzyka wady w wypadku alkoholizmu u matki ($RW = 3,0$) [91] i wieku matki powyżej 39 lat [98]. Palenie papierosów przez ciężarną nie zwiększało ryzyka wystąpienia tej wady [113]. Wśród czynników zmniejszających ryzyko rozszczepu twarzoczaszki wymienia się antygeny grupowe krwi (A), zgodności tkankowej (A9, A11 i B35) oraz płęć żeńską płodu [22].

Nieznaczny wzrost ryzyka wystąpienia wrodzonych wad stóp wykazano u dzieci matek palących papierosy ($RW = 1,4$). Dla wszystkich rodzajów wad wrodzonych analizowanych łącznie nie obserwowano jednak wzrostu ryzyka ($RW = 1,0$) ich wystąpienia u dzieci matek, które paliły papierosy [29].

Przedstawione wyniki własne mają charakter wstępnej analizy epidemiologicznej. Publikacje dotyczące związków wad wrodzonych u dzieci z zanieczyszczeniem środowiska naturalnego mają w większości znamiona kazuistyki [24]. Ujawnione zależności statystyczne nie są dowodem istnienia związków przyczynowo-skutkowych w postaci teratogenezy środowiskowej. Przyjęcie wpływu zanieczyszczenia atmosfery metalami ciężkimi na rozwijający się zarodek i płód, zwłaszcza w kwartalnej skali czasowej stoi w pewnej sprzeczności z wywodzącą się z toksykologii wiedzą o biologicznym oddziaływaniu metali ciężkich i fluoru.

Oznaczenia stężenia kadmu i ołowiu we krwi u dzieci zamieszkujących regiony Niemiec o opadzie tych pierwiastków zbliżonym do rejestrowanych w województwie krakowskim nie wykazały wartości uznanych za toksyczne. Potwierdzono natomiast związek pomiędzy opadem atmosferycznym ołowiu a jego stężeniem we krwi [16]. Stężenie kadmu we włosach mieszkańców Angli i Niemiec było znamienne większe niż u mieszkańców słabo zurbanizowanych krajów jak Arabia Saudyjska czy Sudan [2]. Przy uwzględnieniu specyfiki odkładania się metali ciężkich w ustroju należy uznać, że badania ich stężenia w reprezentatywnych tkankach organizmu (włosy, łożysko) u kobiet ciężarnych są niezbędne do wyjaśnienia ich wpływu teratogenego.

Statystyczna zależność między opadem atmosferycznym metali ciężkich i fluoru a częstością analizowanych wad wrodzonych sugeruje powiązanie przyczynowe. Wnioskowanie o przyczynowości wydaje się znajdować uzasadnienie w zgodności i sile asocjacji a także logiczności takiego związku. W rozumowaniu epidemiologicznym stwierdzenie związków przyczynowych [59] oznacza możliwość przewidywania częstości wad na podstawie monitorowania ekologicznego. W konsekwencji możliwe było by zmniejszenie liczby urodzeń dzieci z wadami po ograniczeniu emisji pierwiastków. Jeśli badania epidemiologiczne w układzie przypadek - kontrola nie potwierdzą przedstawionych obserwacji konieczne będzie odnalezienie ukrytych zmiennych środowiskowych, które modyfikując częstość wad wrodzonych korelują z danymi o zanieczyszczeniu środowiska wykorzystanymi w tej pracy.

2.3. Występowanie wad wrodzonych w województwie krakowskim po awarii elektrowni atomowej w Czarnobylu

Wzrost częstości wad wrodzonych stwierdzony w stosunkowo krótkim, czteroletnim okresie obserwacji niepokoi, zwłaszcza, że trendy zanieczyszczenia środowiska metalami ciężkimi i fluorem nie dają dostatecznego wytłumaczenia tego zjawiska. Najmniejsza częstość wad cewy nerwowej była rejestrowana w 1986 roku (-25% średniej czteroletniej). Ze względu na awarię reaktora w Czarnobylu i skażenie radioaktywne, które mogło przyczynić się do wzrostu częstości wad wrodzonych po 28 kwietnia 1986 roku częstość wad wrodzonych była uważnie śledzona. Zespołowa obserwacja częstości wad cewy nerwowej w 9 krajach Europy Zachodniej [35] nie wykazała ich wzrostu, stwierdzono natomiast obecność skupiska wad w Danii, które było istotnie większe od wartości oczekiwanej. Bardziej alarmującą obserwację poczyniono w regionach Turcji przyległych do Morza Czarnego, gdzie po 1986 roku nastąpił dwukrotny wzrost częstości bezmózgowia oraz innych wad cewy nerwowej [77]. W zestawieniu częstości wad wrodzonych na terenie województwa białostockiego [52] nie stwierdzono zwiększenia ogólnej częstości wad w okresie po awarii atomowej. Jedynie w grupie wad cewy nerwowej u dzieci, dla których organogeneza była zbieżna w czasie z awarią elektrowni, obserwowano dwukrotne zwiększenie liczby przypadków. Biorąc pod uwagę duże zróżnicowanie geograficzne skażenia promieniotwórczego po katastrofie w Czarnobylu należałoby oczekiwać, przy założeniu związku epidemiologicznego, wystąpienia skupisk czasowo-geograficznych wad cewy nerwowej. Na terenie województwa krakowskiego stwierdzono wystąpienie w skupiskach 13 przypadków wad cewy nerwowej, dla których okres embriogenezy pokrywał się z okresem skażenia promieniotwórczego. Obserwowano wzrost liczby przypadków wad cewy nerwowej, które wystąpiły w skupiskach przestrzenno-czasowych w stosunku do okresu poprzedzającego, nie wykazano natomiast znamienności statystycznej tej różnicy.

Szczególnie duża częstość rozszczepów twarzoczaszki w 1987 roku (+27,4% średniej czteroletniej) skłoniła do przeprowadzenia podobnych testów jak w przypadku wad cewy nerwowej. W zestawieniu liczbowym przypadków rozszczepów twarzoczaszki zarejestrowanych w okresie, który czasowo odpowiadał ryzyku ekspozycji na promieniowanie w I trymestrze ciąży, stwierdzono zwiększenie się udziału przypadków wad w skupiskach przestrzenno-czasowych w odniesieniu do okresu kontrolnego. Podobnie, jak dla wad cewy nerwowej nie wykazano znamienności statystycznej tych różnic. Natomiast łączna analiza grupy wad cewy nerwowej i rozszczepów twarzoczaszki

wykazała istotne zwiększenie liczby przypadków tych wad, które wystąpiły w skupiskach przestrzenno-czasowych stwierdzonych po okresie skażenia promieniotwórczego.

Porównania dokonano również dla wad kończyn, które wystąpiły w skupiskach przestrzenno-czasowych w okresie ryzyka i w okresie kontrolnym. Stwierdzono zwiększony udział przypadków rejestrowanych w skupiskach w okresie ryzyka (88,6%) w porównaniu z okresem kontrolnym (40,6%). Różnica ta wykazała bardzo dużą znamienność statystyczną ($p < 0,0001$).

Stwierdzenie wzrostu liczby przypadków wad wrodzonych, których embriogeneza przypadła na okres bezpośrednio po awarii reaktora w Czarnobylu oraz odmienny rozkład przestrzenny tych urodzeń, polegający na ich wystąpieniu w skupiskach, budzi podejrzenie zadziałania czynnika teratogennego. Lokalna koncentracja skażenia promieniotwórczego w okresie po awarii reaktora w Czarnobylu nastąpiła na skutek opadu deszczu. Pomiary zawartości izotopów cezu (^{137}Cs i ^{134}Cs) w próbkach mleka pochodzących z lokalnych zlewni na terenie województwa krakowskiego i nowosądeckiego w okresie od 9 maja do 11 czerwca 1986r wykazały różnicę ponad rzędu wielkości ($< 3000\text{Bq/l}$ do 300Bq/l) [43] odpowiadające geograficznej zmienności skażenia. Pomiary te obarczone są jednak błędem wynikającym z faktu zaprzestania wypasu bydła w niektórych rejonach w odpowiedzi na apele sanitarne, co zapewne zaniżyło część wyników i nie pozwala na ich wykorzystanie do weryfikacji hipotezy badawczej. Średnia dawka skuteczna promieniowania dla mieszkańców Krakowa w okresie miesiąca po awarii reaktora była 40 krotnie niższa od dawki granicznej dla efektu teratogennego [57, 8]. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, że duże geograficzne zróżnicowanie opadu spowodowało w regionach odległych nawet o kilkaset kilometrów od Czarnobyla (Briańsk, Żytomierz, Homel) napromieniowanie wynoszące średnio 0,13 sieverta odpowiadające granicznej dawce teratogennej [55].

Dla badanych grup wad wzrost częstości, a zwłaszcza zmiana dystrybucji urodzeń w postaci występowania skupisk może być obarczona błędem selekcji polegającym na baczniejszej obserwacji oraz pełniejszej rejestracji przypadków wad po awarii reaktora. Błąd taki mógł być popełniony jedynie na etapie zgłoszeń wad. Starano się go zminimalizować poprzez aktywną rejestrację oraz weryfikację dokumentacji szpitalnych. Okres ryzyka został wyliczony na podstawie daty urodzenia a podział na grupę badaną i kontrolną dokonany został dopiero w końcowej fazie obliczeń, po zakończeniu rejestracji. Przedstawione wyniki analogicznej analizy dla skupisk przestrzennych przeczą obecności błędu systematycznego zastosowanej metody obliczeń. Na tej podstawie można przyjąć, że

skupiska przestrzenne nie miały odmiennej reprezentacji przypadków wad powstających w okresie ryzyka względem okresu kontrolnego.

Swierdzono wzrost częstości wad wrodzonych oraz istotną zmianę w strukturze czasowo-przestrzennej urodzeń dzieci z wadami wrodzonymi, wykazując związek czasowy tych obserwacji z okresem skażenia promieniotwórczego po awarii reaktora w Czarnobylu. Inne obserwacje efektów biologicznych promieniowania sugerują przy pomocy podobnych metod statystycznych, że rezultaty przeprowadzonej analizy mogą być jedynymi uchwytymi następstwami niewielkiego skażenia promieniotwórczego. Na podstawie analizy liczby zachorowań na białaczkę jako funkcji odległości od instalacji nuklearnych w Wielkiej Brytanii testowano znamienność ryzyka względnego wystąpienia tej choroby. Wynikiem tej procedury statystycznej było wykazanie nadwyżki zachorowań na białaczkę w okolicach Sellafield [10]. Na podstawie tych samych danych brytyjskich oszacowano zapadalność na białaczkę w populacji uzyskując takie same wyniki [11]. W materiale własnym zostały przeprowadzone porównania pomiędzy dwoma rozkładami empirycznymi, dla nieznanej funkcji gęstości zaludnienia. Można jednak założyć, że większa koncentracja przypadków wad w skupiskach w okresie ryzyka, nawet jeśli wynikała z ich wystąpienia na obszarach o szczególnie dużej gęstości zaludnienia może sugerować związek przyczynowo-skutkowy z narażeniem na promieniowanie jonizujące. Ujawnianie się efektów stochastycznych promieniowania w postaci urodzeń dzieci obciążonych wadami wrodzonymi czy też wzrostu zachorowań na nowotwory może być nieuchwytnie w opracowaniach epidemiologii opisowej [39]. Ze względu na zmniejszanie się aktywności promieniotwórczej nuklidów odkładanych w organizmie weryfikacją tej obserwacji będzie wieloletni powolny powrót struktury czasowo-przestrzennej urodzeń wad wrodzonych do wartości wyjściowych sprzed 1986 roku.

VII. Wnioski

Wyniki analizy epidemiologicznej wskazują na konieczność kontynuacji wieloźródłowej rejestracji urodzeń dzieci z wadami wrodzonymi w formie komputerowej bazy danych. Na podstawie oszacowanych prawdopodobieństw rejestracji wad należy sądzić, że jedynie dane pochodzące z wielu źródeł pozwalają uniknąć błędu zaniżenia częstości wad wrodzonych u dzieci.

Pomiary zanieczyszczenia atmosfery metalami ciężkimi i fluorem przeprowadzone metodą sedymentacyjną w latach 1986 - 1989 wykazały jego duże zróżnicowanie przestrzenne w województwie krakowskim. Konieczność dalszego monitorowania zanieczyszczenia atmosfery jest uzasadniona i wskazane byłoby również prowadzenie pomiarów stężenia pierwiastków w pyłe zawieszonym. Opracowane wyniki pomiarów lokalizują główne źródła zanieczyszczenia atmosfery metalami ciężkimi i fluorem. Koniecznym rozwiązaniem wydaje się wprowadzenie ciągłego pomiaru i ścisłej kontroli źródeł emisji zanieczyszczeń.

Znamienne zwiększenie ryzyka wystąpienia wad wrodzonych u dzieci związane ze zwiększonym zanieczyszczeniem atmosferycznym jest niepokojącą obserwacją, szczególnie ze względu na możliwość udziału analizowanych pierwiastków w środowiskowej etiologii tych chorób. Hipoteza ta znajduje poparcie w odmienności profili zanieczyszczenia atmosferycznego charakteryzujących poszczególne grupy wad wrodzonych.

Posiadanie kompletnego rejestru wad wrodzonych umożliwia przeprowadzenie retrospektywnych badań epidemiologicznych w układzie przypadek - kontrola, których celem powinno być wyjaśnienie stwierdzonych związków statystycznych. Dla oceny narażenia dzieci z wadami i ich matek na skażenie pierwiastkami na podstawie oznaczenia ich zawartości w materiale biologicznym kontynuowanie badań w tym zakresie wydaje się konieczne.

Odpowiednio przeprowadzone badania ankietowe powinny dodatkowo wyjaśnić wpływ innych czynników środowiskowych i zmiennych zakłócających na rozkład przestrzenny wad wrodzonych. Szczególnie wskazane wydaje się przeprowadzenie tego typu badań na obszarach województwa krakowskiego, na których stwierdzono skupiska wad.

Potwierdzenie wykazanego w pracy ryzyka środowiskowego wad wrodzonych daje możliwość rozszerzenia wskazań do profilaktyki pierwotnej na populację zamieszkującą obszary zagrożone zwiększoną częstością wad. Pierwotna profilaktyka wad wrodzonych powinna w tym wypadku obejmować eliminację źródeł ryzyka poprzez działania proekologiczne oraz uzupełnienie dotychczas stosowanych środków farmakologicznych o biopierwiastki takie jak magnez i cynk, które chronią organizm przed szkodliwym działaniem metali ciężkich.

Wykazane w pracy zależności statystycznej między okresem ryzyka napromieniowania zarodka wskutek skażenia po awarii atomowej w Czarnobylu a liczbą wad wrodzonych mogą być obarczone błędem wynikającym ze szczególnie wnikliwej rejestracji urodzeń z wadami, będącej reakcją na zagrożenie. Niekompletność danych dotyczących rozkładu przestrzennego opadu promieniotwórczego, szacowanie jego wartości na podstawie wtórnych źródeł oraz brak liniowych efektów biologicznych promieniowania na występowanie wad wrodzonych nakazuje ostrożność w interpretacji otrzymanych wyników. Ze względu na brak danych dozymetrycznych nie jest możliwe ustalenie zaistniałego związku przyczynowo-skutkowego, a przedstawione w pracy zależności mogą być jedynym bezpośrednim potwierdzeniem wpływu skażenia promieniotwórczego na częstość występowania wad wrodzonych.

VIII. Podsumowanie

1. Wady cewy nerwowej, rozszczepy twarzowej części czaszki oraz wady kończyn w latach 1986 - 1989 występowały na terenie województwa krakowskiego z częstością średnią nie różniącą się w sposób istotny od obserwowanej w innych regionach Europy i świata.
2. Na podstawie klasyfikacji postaci wady w województwie krakowskim wykazano udział poszczególnych typów wady obserwowany w podobnym zakresie na podstawie analiz zmienności geograficznej wad w Europie oraz innych regionach świata.
3. Wady wrodzone w województwie krakowskim charakteryzowały się podobnym udziałem płci do opisywanego w innych regionach geograficznych świata.
4. Nie stwierdzono zmienności sezonowej badanych wad wrodzonych.
5. U dzieci urodzonych w województwie krakowskim w latach 1986 -1989 obserwowano zwiększenie częstości wad cewy nerwowej w porównaniu do lat poprzednich. Dla wad o typie bezmózgowia stwierdzono prawie dwukrotny wzrost częstości na przestrzeni 16 lat, częstość przepuklin mózgowych i rdzeniowych nie wykazała zmian długofalowych.
6. Tendencja czasowa częstości rozszczepów twarzoczaszki sugeruje zmniejszenie się liczby urodzeń z tą wadą w ostatnich 16 latach. Województwo krakowskie cechuje się małą częstością izolowanych rozszczepów podniebienia.
7. Częstości wad rejestrowanych w latach 1986 - 1989 wskazują na wzrost liczby urodzeń dzieci z wadami w ciągu tego okresu. Częstość wad cewy nerwowej w tym okresie zwiększyła się nieznamienne, najmniejsza częstość wady została stwierdzona w roku 1986. W grupie rozszczepów twarzoczaszki tendencja ta zaznaczyła się około dwukrotnym wzrostem częstości wady na przestrzeni czterech lat obserwacji. Szczególnie mała częstość rozszczepów twarzoczaszki była obserwowana w roku 1986. Częstość wrodzonych wad kończyn w latach 1986 - 1989 wykazała wzrost o około 10% rocznie. Potwierdzono znamienność trendu, co dla podgrupy

wrodzonych wad stóp pozostaje w rozbieżności z rejestrowaną w innych krajach tendencją do zmniejszania się częstości tej wady.

8. Przy użyciu metody analizy skupisk wykazano obecność niewielkich obszarów województwa krakowskiego, gdzie zamieszkują rodziny stosunkowo dużej liczby dzieci z wadami wrodzonymi. Biorąc pod uwagę jedynie przestrzenne rozmieszczenie tych rodzin ponad $\frac{1}{4}$ przypadków wad cewy nerwowej i rozszczepów twarzoczaszki wystąpiła na obszarze odpowiadającym 0,6% powierzchni województwa. Blisko 40% rodzin dzieci z wadami kończyn zamieszkuje na obszarze odpowiadającym 3% powierzchni województwa krakowskiego.
9. Analiza skupisk czasowo-przestrzennych wad wrodzonych wykazała, że urodzenia dzieci obciążonych wadami miały również tendencję do skupiania się w przedziałach czasu od 16 tygodni dla wad cewy nerwowej, około 13 tygodni dla rozszczepów twarzoczaszki, do 8 tygodni dla wad kończyn, jakkolwiek średnia powierzchnia obszaru tych skupisk była około dziesięciokrotnie większa niż skupisk przestrzennych. Urodzenia ponad 20% dzieci z wadami miało znamiona wystąpienia w ogniskach wad wrodzonych.
10. Obszary województwa krakowskiego o szczególnie dużej liczbie przypadków wad względem gęstości zaludnienia to: region Przylasek Rusiecki - Grębałów w przypadku wad cewy nerwowej; Skawina - Radziszów oraz Brzeziny - Niepołomice dla rozszczepów twarzoczaszki; Skawina - Radziszów i Zarabie - Stróża dla wad kończyn.
11. Pomiar opadu atmosferycznego metali ciężkich i fluoru w województwie krakowskim wykazały duże zróżnicowanie przestrzenne zanieczyszczenia. Zawartość badanych pierwiastków w opadzie atmosferycznym jednoznacznie wskazuje na największe zakłady przemysłowe województwa, jako źródło emisji. Szczególnie nasilony opad zanieczyszczeń stwierdzono w otoczeniu nowohuckiego kompleksu przemysłowego. Widoczny jest także napływ zanieczyszczeń ze Śląska, szczególnie widoczny w opadzie kadmu i ołowiu.
12. Na podstawie pomiarów kwartalnych prowadzonych w ciągu ponad trzech lat stwierdzono niewielkie zmniejszanie się opadu chromu, niklu, ołowiu, żelaza i fluoru. Dla wymienionych metali największy ich opad odnotowano w 1987 roku, opad

fluoru w tym roku był najmniejszy. Opad miedzi i cynku zwiększył się w analizowanym okresie.

13. Opad kadmu, chromu, niklu, ołowiu żelaza i fluoru wykazał zmienność sezonową. Nasilenie opadu kadmu, chromu i niklu rejestrowano w okresie wiosenno-letnim (drugi kwartał kalendarzowy). Największy opad ołowiu rejestrowano w 1 kwartale kalendarzowym a żelaza i fluoru w 4 kwartale kalendarzowym.
14. Wykazano zwiększone ryzyko wystąpienia wad wrodzonych na obszarach, gdzie opad metali ciężkich i fluoru przekraczał wartość średnią opadu dla województwa. Wady cewy nerwowej i rozszczepy twarzoczaszki występowały ponad dwukrotnie częściej w tej części województwa, gdzie opadu kadmu, miedzi, ołowiu i fluoru był większy. Ryzyko względne wystąpienia tych wad związane ze zwiększonym opadem wymienionych pierwiastków charakteryzowało się dużą znamiennością statystyczną. W grupie wad kończyn zwiększony opad ołowiu, miedzi i fluoru kojarzył się ze znamienne zwiększonym ryzykiem względnym wady. Mniejsza częstość wad kończyn wykazała związek ze zwiększonym opadem kadmu, chromu a zwłaszcza niklu.
15. Zarówno liczba urodzeń dzieci z wadami jak i ilość wad na 100000 mieszkańców wykazała dodatnie korelacje z opadem pierwiastków w analizie regresji wielokrotnej ($r > 0,5$). Wykazano znamienność zależności statystycznej między liczbą wad kończyn a opadem pierwiastków. Współczynniki równania regresji wielokrotnej nie miały natomiast znamienności statystycznych dla pozostałych wad. Należy zaznaczyć, że na podstawie średniego opadu metali ciężkich i fluoru przy użyciu regresji wielokrotnej można było wyjaśnić od 19% do 43% obserwowanej zmienności przestrzennej liczby wad wrodzonych. Dla wad kończyn ujemne wartości współczynników regresji między częstością wady a opadem kadmu i niklu sugerują istnienie interakcji środowiskowych modyfikujących częstość tej wady.
16. Różnice opadu metali ciężkich i fluoru znalazły częściowe potwierdzenie w analizie skupisk wad, metodologicznie nie obciążonej błędem wynikającym z szacowania częstości urodzeń. W grupie rozszczepów twarzoczaszki liczniejsze skupiska wad charakteryzowały się znamienne większym opadem wszystkich poza nikiem pierwiastków. Podobne wyniki uzyskano w grupie wad kończyn. Jedynie skupiska wad cewy nerwowej wykazały mniejsze różnice w opadzie pierwiastków. W analizie tej stwierdzono zgodność wyników zarówno dla skupisk przestrzennych jak i

czasowo-przestrzennych. Warunek wieloletniej ekspozycji na zanieczyszczenie środowiska sugeruje zatem utrwalony profil oddziaływania zmiennej środowiskowej na rozkład przestrzenny wad wrodzonych w województwie krakowskim.

17. Wyniki analiz wskazują jednoznacznie na istnienie związków statystycznych między częstością względną wad wrodzonych a stopniem zanieczyszczenia środowiska. Opad atmosferyczny pierwiastków jest wskaźnikiem zanieczyszczenia środowiska nieprzydatnym do oszacowań typu toksykologicznego, jednak pomiary sedymentacyjne okazały się dostatecznym parametrem dla udokumentowania zwiększonego ryzyka ekologicznego wad wrodzonych. Przeprowadzenie badań uwzględniających ocenę ekspozycji na metale ciężkie i fluor na podstawie pomiarów tkankowego stężenia pierwiastków u matek i dzieci z wadami wrodzonymi w świetle przedstawionych wyników jest konieczne w celu wykluczenia ewentualnych sprzężeń, nie mających charakteru związku przyczynowo-skutkowego.
18. Porównania częstości rocznych wad wrodzonych sugerują zwiększenie liczby urodzeń dzieci z wadami w roku 1987. Zestawienie przypadków wad, które wystąpiły w skupiskach czasowo-przestrzennych mających związek czasowy ze skażeniem promieniotwórczym po awarii elektrowni atomowej w Czarnobylu jednoznacznie dokumentuje pojawienie się w tym okresie czynnika modyfikującego rozkład przestrzenny wad. Na podstawie oceny charakteru opadu promieniotwórczego można podejrzewać, że był on przyczyną zwiększonej częstości wad wrodzonych w tym okresie.

IX. Piśmiennictwo

1. Abrate M., Baracchini P., Fulcheri E., Lapertosa G., Pantarotto M., Mastroiacovo P.; Epidemiological study of anencephaly in Italy and anatomo-pathological findings in cases observed by us; *Pathologica*, 1990, 82, 133-154
2. Ahmed Azhari F.M., Elmubarak A.H; Lead and cadmium in human hair: a comparison among four countries; *Bull Environ Contam Toxicol*; 1990, 45, 139-148
3. Antoniou V., Papadopoulou H.T., Epivatianos P.; Cadmium concentrations in beef consumable tissues in relation to age of animals and area of their breeding; *Bull Environ Contam Toxicol* 1989, 43, 915-919
4. Baron P., Schwiensberg F.; Eine literaturstudie uber konzentrationen von arsen, blei, cadmium und quecksilber in korperlussigkeiten und gewegen zur eingrenzung von normalverten und erkennung von belastungen; *Zbl Hyg* 1989, 188, 195-239
5. Beckman D.A., Brent R.L.; Mechanism of known environmental teratogens: drugs and chemicals; *Clin Perinatol*, 1986, 13, 649-687
6. Belmonte N.M., Rivera O.E., Herkovits J.; Zinc protection against cadmium effects on preimplantation mice embryos; *Bull Environ Contam Toxicol*; 1989, 43, 107-110
7. Benson J.M., Burt D.G., Yung Sung Cheng; Biochemical responses of rat and mouse lung to inhaled nickel compounds; *Toxicology*, 1984, 57, 255-266
8. Bishop D.T.; Multifactorial inheritance; w Principles and practice of medical genetics, red. Emery A.E., Rimoin D.L.; Churchill Livingstone, Edinburgh 1983, 111-119
9. Bishop Y.M.M., Fienberg S.E., Holland P.W.; Discrete multivariate analysis; theory and practice, MIT Press, Cambridge Massachusetts, 1975

10. Bithell J.F., Stone R.,A.; On statistical methods for analysing the geographical distribution of cancer cases near nuclear installations; *J Epidemiol Community Health* 1989, 43, 79-85
11. Bithell, J.F.; An application of density estimation to geographical epidemiology; *Stat Med* 1990, 9, 691-701
12. Bound J.P., Francis B.J., Harvey P.W.; Neural tube defects, maternal cohorts, and age: a pointer to aetiology; *Arch Dis Child*; 1991, 66, 1223-1226
13. Bower C., Stanley F., Kricker A.; Congenital dislocation of the hip in WesternAustralia. A comparison of neonatally and postneonatally diagnosed cases; *Clin Orthop* 1987, 224, 37-44
14. Brender J., Carmichael L., Preece M., Larimer G., Suarez L.; Epidemiology of anencephaly in Texas, 1981-1986; *Tex Med* 1989, 85, 33-35
15. Brent L.D.; Evaluating the alleged teratogenicity of environmental agents; *Clin Perinatol* 1986, 13, 609-613
16. Brockhaus A., Collet W., Dolgner R.; Exposure to lead and cadmium of children in different areas of North-West Germany: results of biological monitoring studies 1982-1986; *Int Arch Occup Environ Health* 1988, 60, 211-222
17. Calzolari E., Milan M., Cavazzuti G., Cocchi G., Gandini E., Magnani C., Moretti M., Garani G., Salvioli G., Volpato S.; Epidemiological and genetic study of 200 cases of oral cleft in the Emilia Romagna region of northern Italy; *Teratology*; 1988, 38, 559-564
18. Cantrell A., Edwards WH, Williamson RH; Study of dustfall from isolated cementworks and its effects on residential development in the area; w *Atmospheric Pollution. Proceedings of the 12th international colloqium, Paris,France, May 5-7 1976.* red. Benarie Michel. Elsevier Scientific Publishing Company, Oxford 1986, 639
19. Casey J.L., Hentze M.W., Koeller D.M., Caughman S.W., Rouault T.A., Klausner R.D., Harford J.B.; Iron-responsive elements: regulatory RNA sequences that control mRNA levels and translation; *Science* 1988, 240, 924-927

20. Castilla E.E., Orioli I.M.; Epidemiology of neural tube defects in South America; *Am J Med Genet* 1985, 22, 695-702
21. Cavalli-Sforza L.L., Bodmer W.F.; *The Genetics of Human Populations*, Freeman, San Francisco, 1971
22. Cerny M., Fara M., Hrivankova J.; Aetiological, modifying and lethal factors in cleft lip and palate; *Acta Chir Plast*; 1991, 33, 72-86
23. Coogan T.P, Latta D.M., Snow E.T.; Toxicity and carcinogenicity of nickel compounds; *CRC Crit Rev Toxicol* 1989, 19, 341-384
24. Datubo-Brown D., Kejeh B.; Congenital cleft deformities in Rivers state of Nigeria: is there any association with environmental pollution?; *J R Coll Surg Edinb*; 1989, 34, 328-331
25. Davis C.F., Young D.G.; The changing incidence of neural tube defects in Scotland; *J Pediatr Surg*; 1991, 26, 516-518
26. Desseine J., Moinard J., Comments on the statistical distribution of pollution levels at various points of a medium sized urban center; w *Atmospheric Pollution. Proceedings of the 12th international colloquim, Paris, France, May 5-7 1976.* red. Benarie Michel. Elsevier Scientific Publishing Company, Oxford 1986, 557
27. Dodinval P.; Heredite de la maladie luxante de la hanche; *Acta Orthop Belg* 1990, 56, 7-11
28. Domański B.; Przemysłowe zagrożenie ekologiczne w oczach mieszkańców Krakowa i okolic; w *Kłęska ekologiczna Krakowa*, red. Gumińska M., Delorme A., Polski Klub Ekologiczny, Kraków, 1990, 108-115
29. Van den Eeden S., Karagas M., Daling J., Vaughan T.; A case-control study of maternal smoking and congenital malformations; *Paediatr Perinat Epidemiol* 1990, 4, 147-155
30. Edelman D.A.; Roggli V.L.; The accumulation of nickel in human lungs; *Environ Health Perspect* 1989, 81, 221-224

31. Edwards J.H.; Congenital malformations of the central nervous system in Scotland; *Br J Prev Soc Med* 1958, 11, 115-121
32. Ericson A., Kallen B., Lofkvist E.; Environmental factors in the etiology of neural tube defects: a negative study; *Environ Res*, 1988, 45, 38-47
33. The EUROCAT Working Group; Prevalence of neural tube defects in 20 regions of Europe and the impact of prenatal diagnosis, 1980-1986; *J Epidemiol Community Health*; 1991, 45, 52-58
34. The EUROCAT Working Group; Prevalence of neural tube defects in 16 regions of Europe, 1980-1983; *Int J Epidemiol* 1987, 16, 246-251
35. The EUROCAT Working Group; Preliminary evaluation of the impact of the Chernobyl radiological contamination on the frequency of central nervous system malformations in 18 regions of Europe; *Paediatr Perinat Epidemiol* 1988, 2, 253-264
36. Favier A., Favier M.; Role of zinc deficiency in the etiology of neural tube malformations; *Rev Fr Gynecol Obstet* 1990, 85, 49-55
37. Fraser F.C.; Evolution of a palatable multifactorial threshold model; *Am J Hum Genet* 1980, 32, 796-813
38. Frezal J., Kelley J., Guillemont M.L.; Anencephaly in France; *Am J Hum Genet* 1964, 16, 336 - 349
39. Geiger, H.J.; The accident at Chernobyl and the medical response, *JAMA* 1986, 256, 609-612
40. Graubard B.I., Fears T.R., Gail M.H.; Effects of cluster sampling on epidemiologic analysis in population-based case-control studies; *Biometrics* 1989, 45, 1053-1071
41. Grochowski J.; Wady rozwojowe w świetle badań rodzinnych; *Folia Med Cracov* 1962, 4, 165-181
42. Grodzińska K., Godzik B., Szarek G.; Vegetables and soil contamination by heavy metals in allotment gardens in Kraków agglomeration; *Bull Polish Acad Sci, Biological Sciences* 1987, 35, 111-122

43. Grychowski P., Mazgaj Z., Mikulski J., Ochab E., Jasińska M., Wolski R., Bogacz J., Cywicka-Jakiel T., Kołakowski L., Łoskiewicz J.; Pomiary radioaktywności wody, mleka i jego pochodnych, warzyw i trawy w okolicach Krakowa po awarii reaktora w Czernobylu. Raport No 1350/B Instytut Fizyki Jądrowej, Kraków 1987
44. Gumińska M.; Zagrożenie zdrowia związkami fluoru; w *Ekologiczne Zagrożenia zdrowia człowieka*; red. Gumińska M., Ossolineum, Kraków, 1989, 33-41
45. Hanlon D.P., Ferm V.H., McLain G.S.; Cadmium disposition following repeated exposure in the pregnant hamster; *Reproductive Toxicology* 1989, 3, 51-57
46. Hartigan J.A.; *Clustering algorithms*; J.Willey, New York, 1975
47. Herkovits J, Perez-Coll C.S., Zeni S.; Protective effect of zinc against spontaneous malformations and lethality in *Bufo Arenarum* embryos; *Biol Trace Elem Res* 1989, 22, 274-278
48. Herkovits J., Perez-Coll C.S.; Amphibial embryos as bioassays to evaluate environmental pollutants and to reduce their toxic effects; 4th International Conference on Environmental Contamination, Barcelona 1990
49. Herkovits J., Perez-Coll C.S.; Antagonism and synergism between lead and zinc in amphibian larvae; *Environ Pollution* 1991, 69, 217-221
50. Hook E., Regal R.; Validity of Bernoulli census, log-linear, and truncated binomial models for correcting underestimates in prevalence studies; *Am J Epidemiol*, 1982, 116, 168-176
51. Howell J.McC., Gooneratne R.S.; The pathology of copper toxicity in animals; w *Mc.Howell J., Gawthorne J.; Copper in animals and man*, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, 1987
52. Iwaszko-Krawczuk W., Dzienis K., Kulikowska E., Sobolewska E.; Wady rozwojowe u noworodków i wybuch elektrowni jądrowej w Czernobylu, IX Ogólnopolskie Sympozjum Neonatologiczne PTP i PT Medycyny Perinatalnej, Katowice, 1992
53. Janicki K.; *Epidemiologiczna charakterystyka porównawcza białaczek*; Ossolineum, Kraków, 1987

54. Janicki K.; Zagrożenie człowieka skażeniami środowiska wodnego; Folia Med Cracov; 1983, 24, 193-202
55. Jaworowski Z.; Wypadek w Czarnobylu: lekcja dla energetyki jądrowej. Problemy 1988, 510, 2-10
56. Jensen B., Kreiborg S., Dahl F., Fogh-Andersen P.; Cleft lip and palate in Denmark, 1976-1981: epidemiology, variability, and early somatic development; Cleft Plate J 1988, 25, 258-269
57. Jensch R.P., Eisenman L.M., Brent R.L.; Postnatal neurophysiologic effects of prenatal ionizing radiation: utilizing animal experiments to evaluate the risk of diagnostic radiation exposures. Abstracts of The American Pediatric Society and The Society for Pediatric Research Annual Meeting, *Pediatr Res* 1992, 31, 69A
58. Jędrychowski W.; Wprowadzenie do metodyki badań naukowych w medycynie; Akademia Medyczna im. M. Kopernika w Krakowie, Kraków, 1983
59. Jędrychowski W.; Metody badań epidemiologicznych w medycynie przemysłowej, PZWL, Warszawa, 1978
60. Kasprzak K.S., Bare R.M.; In vitro polymerization of histones by carcinogenic nickel compounds; *Carcinogenesis* 1992, 10, 621-624
61. Khoury, M.J., Flanders W.D., James L.M., Erickson J.D.; Human teratogens, prenatal mortality, and selection bias. *Am J Epidemiol* 1988, 130, 361-370
62. Klevit R.E.; Recognition of DNA by Cys₂,His₂ zinc fingers; *Science* 1991, 253, 1367-1394
63. Knox E., Armstrong E., Lancashire R.; Effectiveness of screening for congenital dislocation of the hip; *J Epidemiol Community Health* 1987, 41, 283-289
64. Konik R., Pietrzyk J., Grochowski J., Kańska-Nawrocka B.; Epidemiologia wad wrodzonych u noworodków w regionie krakowskim. Zestawienie matematyczno-statystyczne. Prasowe Zakłady Graficzne RSW "Prasa-Książka-Ruch", Kraków, 1972

65. Leithe W., The analysis of air pollutants; Ann Arbor Science Publishers; Ann Arbor USA 1971
66. Luder S., Schulte F.; Prevalentz und geographische Verteilung der Spina bifida aperta in der Bundesrepublik Deutschland; Klin Padiatr 1989, 201, 73-77
67. Łukasik A.; Czynniki etiologiczne i występowanie rozszczepów wargi i/lub podniebienia; praca doktorska, Akademia Medyczna im. M. Kopernika, Kraków, 1987
68. Markiewicz J.; Wybrane Metale ciężkie w środowisku człowieka (rtęć, ołów i kadm) w Ekologiczne zagrożenia zdrowia człowieka; red. Gumińska M.; Ossolineum, 1989, 61-79
69. Martinez-Frias M.L., Frias J.L., Salvador J.; Clinical - epidemiological analysis of malformations; Am J Med Genet 1990, 35, 121-125
70. Mas A., Alemany M., Arola L.I.; Initial permeability of the 19-day foetus to nickel; Rev Esp Fisiol 1989, 45, 287-290
71. Mas A., Yeger H., Sarkar B.; Nickel binding by isolated human trophoblast cells; Res Commun Chem Pathol Pharmacol 1990, 67, 271-278
72. Mason H.J.; Occupational cadmium exposure and testicular endocrine function; Hum Exp Toxicol 1990, 9, 91-94
73. Masse A.; Histoire et epidemiologie de la luxation congenitale de la hanche en Bretagne; Acta Orthop Belg 1990, 56, 43-52
74. McFadden D.E., Kalousek D.K., Survey of neural tube defects in spontaneously aborted embryos; Am J Med Genet 1989, 32, 356-8
75. McGregor A.J., Mason H.J.; Chronic occupational lead exposure and testicular endocrine function; Hum Exp Toxicol 1990, 9, 371-376
76. Merlob P., Mogilner B., Muhlbauer B., Aitkin I., Dulitzky F.; Time trends (1978-86) of anencephaly and spina bifida in four hospitals affiliated with the International Clearinghouse: a warning; Israel J Med Sci 1989, 25, 441-444

77. Mocan H., Bozkaya H., Mocan M., Furtun E.; Changing incidence of anencephaly in the eastern Black Sea region of Turkey and Chernobyl; *Paediatr Perinat Epidemiol*, 1990, 4, 264-268
78. Rozporządzenie ministra ochrony środowiska, zasobów naturalnych i leśnictwa z dnia 12 lutego 1990r. w sprawie ochrony powietrza przed zanieczyszczeniem; *Dziennik Ustaw Rzeczypospolitej Polskiej* 1990, 15
79. Morton N.E.; Genetic tests under incomplete ascertainment, *Am J Hum Genet*, 1959, 11, 1-16
80. Mutchinick O., Orozco F., Lisker R., Babinsky V., Nunez C.; Risk factors associated with neural tube defects: exposure during the first trimester of gestation; *Gac Med Mex* 1990, 126, 227-234
81. Naruse I., Hayashi Y.; Amelioration of the teratogenicity of cadmium by the metallothionein induced by bismuth nitrate; *Teratology* 1989, 40, 459-465
82. Natush DFS, Bauer CF.; Collection and analysis of trace elements in the atmosphere w *Air pollution control*. Ed Strauss Werner, t.III. Wiley-Interscience Publications, New York 1978, 217
83. Nurminen M.; Analysis of epidemiologic case-base studies for binary data; *Stat Med* 1989, 8, 1241-1254
84. Oakley Jr. G.P.; Frequency of human congenital malformations; *Clin Perinatol* 1986, 13, 545-554
85. Opitz J.M.; The developmental field concept in clinical genetics; *J Pediatr* 1982, 101, 805-809
86. Palmer S.R.; Epidemiology in search of infectious diseases: methods in outbreak investigation; *J Epidemiol Community Health* 1990, 43, 311-314
87. Perez-Coll C.S., Herkovits J.; Stage dependent susceptibility to lead in *Bufo Arenatum* embryos; *Environ Pollution* 1990, 63, 239-245

88. Pietrzyk J., Grochowski J., Kańska B.; CNS malformations in the Kraków Region. Birth prevalence and seasonal incidence during 1979-1981; *Am J Med Genet* 1983, 14, 181-188
89. La pollution de l'air en France. Resultats de mesure; La Documentation Francaise 1973 (praca zbiorowa)
90. Rao D.C., Wette R.; Environmental index in genetic epidemiology: an investigation of its role, adequacy, and limitations; *Am J Hum Genet* 1990, 46, 168-178
91. Rivera O.E., Belmonte N., Herkovits J.; Zinc protection against cadmium effect on estrual cycle of Wistar rat; *Biol Trace Elem Res* 1990, 25, 35-38
92. Rumeau-Rouquette C., Breart G., Padiou R.; *Methodes en epidemiologie*; Flammarion Medicine Sciences, Paris, 1970
93. Sandahl B.; Seasonal Incidence of some congenital malformations in the central nervous system in Sweden 1965 - 1972; *Acta Paediatr Scand* 1977, 66, 65 - 72
94. Sato M., Nagai Y.; Effect of zinc deficiency on the accumulation of metallothionein and cadmium in the rat liver and kidney; *Arch Environ Contam Toxicol* 1989, 18, 587-593
95. Saxen L., Holmberg P., Kurppa K., Kuosma E., Pyhala R.; Influenza epidemics and anencephaly; *Am J Public Health*, 1990, 80, 473-475
96. Seller M.J.; Neural tube defects: are neural tube and canalization forms causally distinct; *Am J Med Genet* 1990, 35, 394-396
97. Seymour C.A.; Copper toxicity in man; w Mc.Howell J., Gawthorne J.; *Copper in animals and man*, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, 1987
98. Shaw G., Croen L., Curry C.; Isolated oral cleft malformations: associations with maternal and infant characteristics in California population; *Teratology*; 1991, 43, 225-228
99. Sheppard T.H.; *Catalog of teratogenic agents*, The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1980

100. Shiota K.; Maternal fertility, reproductive loss, and defective human embryos; *J Epidemiol Community Health*, 1989, 43, 261-7
101. Shiota K.; Natural prenatal screening of abnormal conceptuses (theratothanasia) and the prevalence of malformations during gestation; *Proceedings of 8th International Congress of Human Genetics, Washington 1991*, *Am J Hum Genet* 1991, 49, Suppl. 22
102. Skorkowska-Zieleniewska J.; Biochemiczna ocena stanu odżywienia mineralnego, wpływ czynników środowiskowych na poziom spożycia pierwiastków; *Przegl Pediatr* 1987, 17, 88-94
103. Smith P.J.; Bayesian methods for prevalence estimation from incomplete administrative lists; *Stat Med*, 1990, 10, 113-118
104. Snyder R.D., Fakadej A.F., Riggs J.F.; Anencephaly in the United States, 1968-1987: the declining incidence among white infants; *J Child Neurol* 1991, 6, 304-305
105. Stern A.C.; *Air pollution*. Academic Press, London, 1968
106. Stoll C., Alembik Y., Dott B., Roth M.; Epidemiological and genetic study in 207 cases of oral clefts in Alsace, north-eastern France; *J Med Genet* 1991, 28, 325-329
107. Stoll C., Dott B., Roth M., Alembik Y.; Aspects etiologiques et epidemiologiques des anomalies du tube neural; *Arch Fr Pediatr*, 1988, 45, 617-622
108. Sunderman Jr, F.W., Hopfer S.M., Sweeney K.R.; Nickel absorption and kinetics in human volunteers; *Proc Soc Exp Biol Med* 1989, 191, 5-11
109. Thom, G.C., Wayne T., Ott R.; *Air pollution indices. A compendium and assessment of indices used in United States and Canada*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor USA 1975
110. Tolarova M.; Orofacial clefts in Czechoslovakia. Incidence, genetics and prevention of cleft lip and palate over a 19-year period; *Scand J Plast Reconstr Surg* 1987, 21, 19-25
111. Warkany J.; *Terathanasia; Teratology*, 1978, 17, 187-192

112. World Health Organisation; Spontaneous and induced abortion. World Health Organisation Technical Report Series, 461, WHO, Geneva, 1970
113. Werler M., Lammer F., Rosenberg L., Mitchell A.; Maternal smoking during pregnancy in relation to oral clefts; *Am J Epidemiol* 1990, 132, 926-932
114. Werler M., Lammer F., Rosenberg L., Mitchell A.; Maternal alcohol use in relation to selected birth defects; *Am J Epidemiol* 1991, 134, 691-698
115. Whorton M.D., Wong O., Morgan R.W.; An epidemiologic investigation of birth outcomes in relation to dibromochloropropane contamination in drinking water in Fresno County, California, USA; *Int Arch Occup Environ Health*; 1989, 61, 403-407
116. Widhe T., Aaro S., Elmstedt E.; Foot deformities in the newborn - incidence and prognosis; *Acta Orthop Scand* 1988, 59, 176-179
117. Wild J., Read A.P., Sheppard S., Seller M.J., Smithells R.W., Nevin N.C., Schorah C.J., Fielding D.W., Walker S., Harris R.; Recurrent neural tube defects, risk factors and vitamins; *Arch Dis Child* 1986, 61, 440-444
118. Wilson J.G.; Environmental chemicals; w *Handbook of Teratology* t.I; red.; Wilson J.G, Fraser F.C., New York - London 1977, 366-370
119. Wilson, G.N; Genomics of human dysmorphogenesis; *Am J Med Genet* 1992, 42, 187-196
120. Womersley J., Stone D.; Epidemiology of facial clefts; *Arch Dis Child* 1987, 62, 717-720
121. Xiao K.Z., Zhang Z.Y., Su Y.M., Liu F.Q., Yan Z.Z., Jiang Z.Z., Zhou S.F., He W.G., Wang B.Y., Jiang H.P.; Central nervous system congenital malformations, especially neural tube defects in 29 provinces, metropolitan cities and autonomous regions of China: Chinese Birth Defects Monitoring Program; *Int J Epidemiol* 1990, 19, 978-982
122. Xiao K.; Epidemiology of cleft lip and cleft palate in China; *Chung Hua T Hsueh Tsa Chih*; 1989, 69, 192-194 (abstrakt w języku angielskim)

- 123.** Zamorska L., Niweliński J.; Niektóre aspekty rozrodu u człowieka w aktualnej sytuacji ekologicznej Krakowa; *Folia Med Cracov*, 1983, 24, 203-209
- 124.** Zielonka E., Lewińska J., Wodzień M.; Poziom ołowiu we krwi mieszkańców Krakowa na tle jego stężeń w powietrzu i w wodzie; *Folia Med Cracov* 1986, 27, 37-52