

Klinički centar Kragujevac  
Ginekološko-akušerska klinika<sup>1</sup>  
Institut za javno zdravlje Kragujevac<sup>2</sup>

Stručni članak  
Professional article  
UDK 616-036.88-053.31:[615.9:632.95.02  
DOI: 10.2298/MPNS1006414D

## MORBIDITET NOVOROĐENČADI EKSPONIRANIH ORGANOFOSFORNIM PESTICIDIMA

### MORBIDITY IN NEWBORNS EXPOSED TO ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES

Momčilo ĐORĐEVIĆ<sup>1</sup>, Predrag SAZDANOVIĆ<sup>1</sup>, Gordana ĐORĐEVIĆ<sup>1</sup> i Božidar JOVANOVIĆ<sup>2</sup>

**Sažetak** – Insekticidi su otrovi kojima uništavamo štetne insekte. Najčešći insekticidi koji se koriste u današnje vreme su organofosforne pesticidi. U ovu grupu jedinjenja svrstavaju se supstancije čiji se mehanizam dejstva zasniva na inhibiciji acetilholinesteraze u nervnim sinapsama čime se proizvodi holinergični sindrom nastao usled nagomilavanja acetilholina nastalog zbog odsustva razgradnje pod uticajem holinesteraze. U kliničkoj slici akutnog trovanja inhibitorima holinesteraza jasno se razlikuju muskarinski i nikotinski efekti. Osnovni cilj istraživanja bio je da utvrdimo uticaj prisustva organofosforne pesticida u krvi i mleku babinjara na morbiditet novorođenčadi. Studijsku grupu činilo je 18 novorođenčadi kod čijih su majki iz krvi i mleka u trećem posleporodajnom danu izolovani organofosforne pesticidi, a kontrolnu grupu 84 novorođenčadi kod čijih majki nisu izolovani organofosforne pesticidi iz krvi i majčinog mleka. Postoji oko tri puta viši morbiditet, koji je najčešće u kombinaciji sa nekim poremećajem centralnog nervnog sistema, čiji je relativni rizik za nastanak osam puta viši kod novorođenčadi koji su eksponirani organofosfornim pesticidima. Oštećenja koja nastaju kod novorođenčadi koja su izložena pesticidima su mutagena, kancerogena i neurotoksična, a pojedini agensi mogu da poremete imuni sistem, što se i ogleda u povećanju morbiditeta, prvenstveno centralnog nervnog sistema. Prisustvo organofosforne pesticida u krvi i mleku babinjara, nepovoljno utiču na novorođenčad. Organofosforne pesticidi pored inhibicije acetilholinesteraze deluju i drugim mehanizmima.

**Ključne reči:** Morbiditet; Novorođenče; Pesticidi; Insekticidi; Acetilholin; Krv; Mleko; Majka

### Uvod

Insekticidi su otrovi kojima uništavamo štetne insekte. Upotrebljavaju se u poljoprivredi, veterini, medicini, domaćinstvu [1,2].

Insekticidi brzo prodiru u lanac prehrane, masti i ulja, gde se dugo zadržavaju. Najbolji kriterijum za ocenu stanja je analiza humanog mleka. Uzorci iz mnogih zemalja trećeg sveta još uvek pokazuju nivoe koji su daleko viši od dopuštenih vrednosti [3–5].

Najčešći insekticidi koji se koriste u današnje vreme su organofosforne pesticidi. U ovu grupu jedinjenja svrstavaju se supstancije čiji se mehanizam dejstva zasniva na inhibiciji acetilholinesteraze (AChE) u nervnim sinapsama čime se proizvodi holinergični sindrom nastao usled nagomilavanja acetilholina nastalog zbog odsustva razgradnje pod uticajem holinesteraze [6,7].

U kliničkoj slici akutnog trovanja inhibitorima holinesteraza jasno se razlikuju muskarinski i nikotinski efekti. Težina i pojava simptoma je direktno dozno i vremenski zavisna.

Kao jedno od prvih dijagnostičkih sredstava koristi se spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti acetilholinesteraze i ako je ona smanjena iznad 50%, smatra se da je trovanje blagog stepena; ako je smanjena na 20–40% od fiziološke aktivnosti, smatra se da je trovanje umereno; a ako je aktivnost pala na ispod 20% fiziološke, smatra se da je trovanje teško. Treba imati na umu da i samo fiziološko variranje aktivnosti AChE može da bude značajno (i do 40%), da može da zavisi od pola (aktivnost AChE kod muškaraca je i do 15% veća nego kod žena), genetskog faktora i upotrebe nekih lekova (neki anestetici, antibiotici, karbamati, kardiovaskularni lekovi) [8,9].

Osnovni cilj istraživanja bio je da utvrdimo uticaj prisustva organofosforne pesticida u krvi i mleku babinjara na morbiditet novorođenčadi.

### Materijal i metode

Tokom 2006. godine sprovedena je kohortna studija, *Analiza prisustva pesticida u majčinom mleku i telesnim tečnostima*, na Ginekološko-akušerskoj klinici Kliničkog centra Kragujevac u Kragujevcu i Toksikološkoj laboratoriji Vojnomedicinske akademije u Beogradu, koja je bila deo projekta Medicinskog fakulteta u Kragujevcu. Ispitanice su bile sa teritorije Šumadijskog okruga koje su se porodile na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Kragujevac u Kragujevcu, kao i njihova novorođenčad.

Studijsku grupu činilo je 18 novorođenčadi kod čijih su majki iz krvi i mleka u trećem posleporodajnom danu izolovani organofosforne pesticidi, a kontrolnu grupu 84 novorođenčadi kod čijih majki nisu izolovani organofosforne pesticidi iz krvi i majčinog mleka. Pošto se radilo o kohortnoj studiji u razmatranje su uzete sve ispitanice da bi se odredila incidenca prisustva pesticida u ispitivanoj populaciji bez obzira na faktore rizika i načina ekspozicije pesticidima.

U studiju su bile uključene jednodne, donesene trudnoće. Novorođenčad su bila isključivo na ishrani majčinim mlekom, bez dodatka dopunske ishrane ili tečnosti. Obe grupe upoređivane su među sobom po svim relevantnim parametrima.

Grupa pesticida koja je bila predmet ispitivanja analizirala se u krvi i majčinom mleku u trećem posleporodajnom danu. Analizirani su organofosforne pesticidi dimetoat, diazinon i malation, sa limitom detek-

**Skraćenice**

AChE – acetilholinesteraza

CNS – centralni nervni sistem

cije od 0,1 µg/l i limitom kvantifikacije od 0,33 µg/l. U svim slučajevima gde su detektovani pesticidi u krvi detektovani su i u majčinom mleku.

Kod novorođenčeta su određivani sledeći parametri: prisustvo morbiditeta sa najčešćim oboljenjima tokom prvih dana života, sa posebnim akcentom na oboljenja centralnog nervnog sistema (CNS).

Zaključivanje o validnosti razlika između pojedinih parametara i njihovih verovatnoća utvrđena je primenom odgovarajućih statističkih testova i to *Mann-Whitney U* testa. Za nivo pouzdanosti uzeto je do 5% ili  $p < 0,05$ .

**Rezultati**

**Tabela 1** predstavlja raspodelu svih oboljenja i normalnog nalaza nakon rođenja, po istraživanim grupama. Vidno je, sa pomenute tabele, da postoji veća učestalost obolevanja odojčadi čije su majke bile nosioci pesticida neposredno posle porođaja, a verovatno i tokom dela trudnoće. U ovoj grupi novorođenčadi, normalan nalaz javlja se u 38,9% slučajeva, za razliku od kontrolne grupe gde je normalan nalaz bio u 67,9% slučajeva. Karakteristično je da su odojčad iz ispitivane grupe najčešće imala kombinaciju više oboljenja i da je u svakoj od njih bio neki od poremećaja CNS.

**Tabela 1.** Oboljenja novorođenčadi**Table 1.** Diseases in newborns

Dijagnoza/Diagnosis	Ispitivana grupa Study group (N=18)		Kontrolna grupa Control group (N=84)	
	N	%	N	%
Normalan nalaz/Normal finding	7	38,9	57	67,9
Infekcija/Infection	1	5,6	15	17,9
Hiperbilirubinemija Hyperbilirubinemia	2	11,1	6	7,1
Poremećaj CNS/CNS disorder	0	0	3	3,6
Sepsa/Sepsis	1	5,6	0	,0
Kombinovano * Combined *	7	38,9	3	3,6
Ukupno/Total	18	100	84	100

\* poremećaj CNS je u svakoj kombinaciji

\* CNS disorder is present in any combination

Morbiditet odojčadi, kod čijih su majki detektovani pesticidi u krvi i majčinom mleku, značajno je veći u poređenju sa kontrolnom grupom, gde nije postojala kontaminacija babinjare pesticidom utvrđena analizom krvi i majčinog mleka (*Mann-Whitney U* test,  $p=0,001$ ).

Morbiditet odojčadi, kod čijih su majki detektovani pesticidi u krvi i majčinom mleku, značajno je veći u poređenju sa kontrolnom grupom, gde nije postojala kontaminacija babinjare pesticidom utvrđena analizom krvi i majčinog mleka (*Mann-Whitney U* test,  $p=0,001$ ).

U nastavku analize morbiditeta novorođenčadi primenjena je statistička procerura za procenu relativnog rizika za obolevanje (analiza rizika).

Iz odnosa verovatnoća da se oboljenje pojavi u ispitanjoj, odnosno kontrolnoj grupi, zaključuje se da postoji oko tri puta više šansi da ono bude u grupi odojčadi čije majke imaju detektovane pesticide u krvi i majčinom mleku ( $OR=3,317$ ; 95%  $CI=1,158-9,504$ ) (**Tabela 2**).

**Tabela 2.** Morbiditet novorođenčadi**Table 2.** Morbidity in newborn.

Morbiditet/Morbidity	Ispitivana grupa Study group (N=18)		Kontrolna grupa Control group (N=84)	
	N	%	N	%
Da/Yes	11	61,1	27	32,1
Ne/No	7	38,9	57	67,9
Ukupno/Total	18	100,0	84	100,0

Analiza za procenu rizika primenjena je i po grupama oboljenja, prvenstveno posmatrajući udeo oboljenja CNS, odnosno poremećaja CNS.

Utvrđeno je da od svih oboljenja novorođenčadi kod čijih su majki izolovani pesticidi u krvi i majčinom mleku, najveći rizik postoji za oboljenja koja uključuju neki od poremećaja CNS. Postoji preko osam puta veća šansa da će od svih oboljenja ono biti više zastupljeno kod odojčadi ispitivane grupe ( $OR=8,273$ ; 95%  $CI=2,34-29,16$ ) (**Tabela 3**).

**Tabela 3.** Oboljenja CNS.**Table 3.** CNS diseases

Morbiditet/Morbidity	Ispitivana grupa Study group (N=18)		Kontrolna grupa Control group (N=84)	
	N	%	N	%
Da/Yes	7	38,9	6	7,1
Ne/No	11	61,1	78	92,9
Ukupno/Total	18	100	84	100

**Diskusija**

Novorođenčad koja su apsorbovala izvesne količine pesticida preko placente i nastavljanjem tog procesa preko majčinog mleka, imaju u prvim danima, sa značajno većom verovatnoćom, pojavu morbiditeta u poređenju sa kontrolnom grupom, gde nije postojala kontaminacija babinjare pesticidom utvrđena analizom krvi i majčinog mleka. U ovoj grupi novorođenčadi, normalan nalaz javlja se u 38,9% slučajeva, za razliku od kontrolne grupe gde je normalan nalaz bio u 67,9% slučajeva. Karakteristično je da su novorođenčad iz ispitivane grupe najčešće imala kombinaciju više oboljenja i da je u svakoj od njih bio neki od poremećaja CNS.

Iz odnosa verovatnoća da se oboljenje pojavi u ispitanjoj, odnosno kontrolnoj grupi, zaključuje se da postoji oko tri puta više šansi da ono bude u grupi novorođenčadi čije majke imaju detektovane pesticide u krvi i majčinom mleku.

Dosadašnja saznanja ukazuju da je uticaj pesticida na ljudsko zdravlje najveći u slučajevima akutno visokog nivoa izloženosti, ali se vrlo malo zna o konsekvencama hronično niskog nivoa izloženosti, koje je od ključnog značaja u procesu dojenja. Oštećenja koja nastaju kod novorođenčadi koja su izložena pesticidima su mutagena, kancerogena i neurotoksična, a pojedini agensi mogu poremetiti imuni sistem – to je ono što je neosporno i to je ono sa čime se ljudstvo mora suočiti kao sa urgentnim zadatkom [10,11].

Ovim istraživanjem je nedvosmisleno potvrđeno da se konsekvence koje nosi toksično delovanje pesticida u organizmu novorođenčeta, ostvareno verovatno transplacentarnim transportom pri kraju trudnoće i evidentno preko majčinog mleka posle rođenja, sa najvećom verovatnoćom, odnose na devijacije u centralnom nervnom sistemu, što su pokazala i druga istraživanja u svetu [12,13].

Smatra se da su mozak i nervni sistem programirani i da postoje brojne tačke u vremenu i poziciji na kojoj pesticidi stupaju u interakciju. Pojedini autori tvrde da pesticidi napadaju neurone u ranoj fazi razvoja mozga i centralnog nervnog sistema. Informacije o neuronskim procesima signaliziraju se preko transmitujućih elemenata nervnog sistema. Oštećenja neurona u ranoj fazi razvoja mogu biti neotkrivena u dužem vremenskom periodu. Pojedini, rani simptomi izloženost toksičnom delovanju, mogu nestati u pojedinim fazama razvoja, da bi se pojavili u kasnijem životu kao različiti neurološki simptomi [14,15].

Pojedini autori iznose tvrdnju da organofosforni pesticidi nisu samo inhibitori holinesteraze, nego da je njihovo štetno delovanje i mnogo kompleksnije. Za vreme pojedinih faza rasta, određeni regioni mozga su osetljivi na interferiranje pesticida sa G-proteinom u adenilil-ciklazi, što je samo korak u narušavanju transkripcije jezgra DNA. Pesticidi suprimiraju sintezu DNA u prozencefalni epitelijum i replikaciju neuralnih ćelija. Autori tvrde da bi serumski proteini mogli imati protektivnu ulogu u aktivnosti antimitoze DNA, ali pošto fetus i novorođenčad imaju niže koncentracije serumskog proteina nego odrasli, oni postaju mnogo ranjiviji [16,17].

Pored očiglednih strukturalnih defekata, postoje defekti u neurološkom razvoju koji ne mogu biti otkriveni odmah po rođenju, a ponekad ni kasnije u životu. Najčešće je vrlo teško kvantifikovati stvarni neurološki defekt i skoro uvek on je predstavljen u formi individualne funkcionalnosti i ponašanja [18].

### Zaključak

Prisustvo organofosfornih pesticida u krvi i mleku babinjare nepovoljno utiču na novorođenčad, izazivajući tri puta viši morbiditet, koji je najčešće u kombinaciji sa nekim poremećajem centralnog nervnog sistema, čiji je relativni rizik za nastanak osam puta viši. Organofosforni pesticidi, pored inhibicije acetilholinesteraze, deluju i drugim mehanizmima.

### Literatura

1. Barr DB, Barr JR, Maggio VL, Whitehead RD, Sdowsky MA, Whyatt RM, et al. A multi-analyte method for the quantification of contemporary pesticides in human serum and plasma using high-resolution mass spectrometry. *J Chromatography B* 2002;778:99-111.
2. Williams MK, Barr DB, Camann DE, Carton EJ, Borjas M, Carlton, et al. An intervention to reduce residential insecticide exposure during pregnancy among an inner-city cohort. *Environ Health Perspect* 2005;114(11):1684-9.
3. Kristoforović-Ilić M. Pesticides and the environment. *Med Pregl* 2004;57(11-12):523-35.
4. Perera FP, Jadrychowski W, Rauh V, Whyatt RM. Molecular epidemiologic research on the effects of environmental pollutants on the Fetus. *Environ Health Perspect* 2005;107(Suppl 3):451-60.
5. Smith D. Worldwide trends in DDT levels in human breast milk. *Int J Epidemiol* 1999; 28(2):179-88.
6. Zhao Q, Gadagbui G, Dourson M. Lower birth weight as a critical effect of chlorpyrifos: a comparison of human and animal data. *Regul Toxicol Pharmacol* 2005;42(1):55-63.
7. Ricceri L, Venerosi A, Capone F, Cometa MF, Lorenzini P, Fortuna S, et al. Developmental neurotoxicity of OP pesticides: fetal and neonatal exposure to chlorpyrifos alters sex-specific behaviors at adulthood in mice. 2006;93(1):105-13.
8. Schuh RA, Lein PJ, Beckles RA, Jett DA. Noncholinesterase mechanisms of chlorpyrifos neurotoxicity: altered phosphorylation of Ca<sup>2+</sup>/cAMP response element binding protein in cultured neurons. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002;182:176-85.
9. Vergaraa P, Fargalloa JA, Bandab E, Parejoc D, Lemusa JA, Montijanod MG. Low frequency of anti-acetylcholinesterase pesticide poisoning in lesser and Eurasian kestrels of Spanish grassland and farmland populations. *Biol Conserve* 2008;141:499-505.
10. Meyer A, Seidler FJ, Cousins MM, Slotkin TA. Developmental neurotoxicity elicited by gestational exposure to chlorpyrifos: When is adenylyl cyclase a target? *Environ Health Perspect* 2003;111:1871-6.
11. Dewailly E, Ayotte P, Bruneau S, Gingras S, Belles-Isles M, Roy R. Susceptibility to infections and immune status in Inuit infants exposed to organochlorines. *Environ. Health Perspect.* 2000;108:205-11.
12. Bradman A, Barr DB, Henn BGC, Drumheller T, Curry C, Eskenazi B. Measurement of pesticides and other toxicants in amniotic fluid as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. *Environ Health Perspect.* 2003;111:1779-82.
13. Rosso SB, Garcia GB, Madariaga MJ, Evangelista de Duffard AM, Duffard RO. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid in developing rats alters behaviour, myelination and regions brain gangliosides pattern. *Neurotoxicology* 2000;21:155-63.
14. Roy TS, Seidler FJ, Slotkin TA. Morphologic effects of subtoxic neonatal chlorpyrifos exposure in developing rat brain: regionally selective alterations in neurons and glia. *Dev Brain Res.* 2004;148:197-206.
15. Slotkin TA, Seidler FJ, Fumagalli F. Exposure to organophosphates reduces the expression of neurotrophic factors in neonatal rat brain regions: similarities and differences in the effects of chlorpyrifos and diazinon on the fibroblast growth factor. *Environ Health Perspect* 2007;115(6):99-16.
16. Ostrea EM Jr, Morales V, Ngoumgna E, Prescilla R, Tan E, Hernandez E, et al. Prevalence of fetal exposure to environmental toxins as determined by meconium analysis. *Neurotoxicology* 2002;23:329-39.

17. Aldridge JE, Seidler FJ, Slotkin TA. Developmental exposure to chlorpyrifos elicits sex-selective alterations of serotonergic synaptic function in adulthood: critical periods and regional selectivity for effects on the serotonin transporter, receptor subtypes, and cell signaling. *Environ Health Perspect* 2004;112:148-55.

### Summary

#### Introduction

*Insecticides are toxins by which we destroy harmful insects. The most frequent insecticides which are used today are organophosphorus pesticides. This group of compounds make substances whose activity mechanism is based on the inhibition of acetylcholinesterase in nerve synapsis, thus producing cholinergic syndrome, resulting from the accumulation of acetylcholine which developed due to the absence of decomposition under the influence of cholinesterase. In the clinical picture of acute toxication by cholinesterase inhibitors there is a clear difference between muscarinic and nicotine effects. The basic aim of the study was to establish the effects of organophosphorus pesticides present in blood and breast milk of mothers on newborns morbidity.*

#### Material and methods

*The study group consisted of 18 newborns whose mothers had isolated organophosphorus pesticides in their blood and breast-milk on the third day after delivery, and the control group con-*

*sisted of 84 newborns whose mothers did not have isolated organophosphorus pesticides in their blood and breastmilk.*

#### Results

*Morbidity is three times greater, often in combination with some disorders of the central nervous system, and the relative risk for its appearance is eight times greater in newborns exposed to organophosphorus pesticides.*

#### Discussion

*Disorders that appear in newborns exposed to pesticides are mutagenic, cancerogenic and neurotoxic and some agents could disturb the immune system which is reflected in morbidity increase, primarily of the central nervous system.*

#### Conclusion

*The presence of organophosphorus pesticides in blood and breast milk has negative effects on newborns. In addition to acetylcholinesterase inhibition, organophosphorus pesticides react by means of other mechanisms as well.*

**Key words:** Morbidity; Infant, Newborn; Pesticides; Insecticides; Acetylcholine; Blood; Milk; Mothers

Rad je primljen 13. V 2008.

Prihvaćen za štampu 17. V 2008.

BIBLID.0025-8105:(2010):LXIII:5-6:414-417.