Neurotoksični učinci pesticida

Hasl, Nino

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:061981

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-21**

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Nino Hasl

Mentor: doc.dr.sc. Mirna Velki

Neurotoksični učinci pesticida

Završni rad

Osijek, 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA **Završni rad**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

NEUROTOKSIČNI UČINCI PESTICIDA

Nino Hasl

Rad je izrađen na: Zavod za zoologiju

Mentor: doc.dr.sc Mirna Velki

Kratak sadržaj: Postoji mnogo skupina pesticida no 4 najveće su organofosfati, karbamati, piretroidi i organokloridi. Insekticidi ovih skupina pesticida svoj učinak, kako na kukce, pokazuju i na sisavce jer im je molekularni mehanizam jednak u obje skupine organizama. Molekularni mehanizam temelji se na inhibiciji serinskih esteraza i kolinesteraza u slučaju osganofosfata i karbamata te mijenjanju kinetike natrijskih i drugih ionskih kanala, što je slučaj kod piretroida i organoklorida. Insekticidi ovih skupina pesticida djeluju na živčani sustav pa se najveći toksični učinci pokazuju u središnjem i perifernom živčanom sustavu.

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: insekticidi, piretroidi, organofosfati, karbamati, organokloridi

Rad je pohranjen: na mrežnim stranicama Odjela za biologiju te Nacionalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice u Zagrebu

BASIC DOCUMENTATION CARD **Bachelor thesis**

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Department of Biology

Undergraduate university study programme in Biology

Scientific Area: Natural Sciences

Scientific Field: Biology

NEUROTOXIC EFFECTS OF PESTICIDES

Nino Hasl

Thesis performed at: Subdepartmant of Zoology

Supervisor: Asst. Prof. Mirna Velki

Short abstract: There are many types of pesticides but 4 most commonly used are organophosphates, carbamates, pyrethroids and organochlorides. Insecticides from those groups of pesticides affect insects as well as mammalian species, for they share the same molecular entities that insecticides act on. Molecular mechanism of organophosphates and carbamates is bases on inhibition of serine esterases and colinesterases and for pyrethroids and organochlorides it's changing kinetical properties of sodium and other ion channels. Insecticides of these groups primarily act on nerve cells so their toxicity is exhibited the most in central and peripheral nervous system.

Original in: Croatian

Key words: insecticides, pyrethroids, organochlorides, carbamates, organophosphates.

Thesis deposited: on he Department of Biology website and the Croatian Digital Theses Repository of the National and University Library in Zagreb.

Sadržaj

1. Uvod 1
2. Organokloridi 2
3. Karbamati 7
4. Piretroidi 10
5. Organokloridi 14
6. Zaključak 17
7. Literatura 18

1. Uvod

Pesticidi su kemijski spojevi koji se koriste kao sredstvo ubijanja, odbijanja i kontrole neželjenih organizama, biljnih i životinjskih, na poljoprivrednim kulturama. Prema svojoj uporabi mogu se podijeliti na herbicide, insekticide, nematocide, moluscide, avicide, rodenticide, bakteriocide i fungicide. Prema svojoj kemijskoj prirodi dijele se na 4 glavne skupine: organofosfati, karbamati, piretroidi, organoklorni spojevi (Costa i sur. 2008), no postoji puno više skupina pesticida, a neki od njih su spinozini, nikotinoidi, neonikotinoidi, avermektini, fiproli, sulfoksimini, formamidini, juvenoidi, bupropezini, kloropikrini, semilarbazoni (Sparks i Nauen, 2015).

Prema Pimantelu (2005) godišnja svjetska potrošnja pesticida iznosi 3 miliona tona od čega na SAD otpada 500 000 tona U Europi, Njemačka je najveći proizvođač i drugi najveći potrošač odmah nakon Francuske (Zhang i sur., 2011).

Velik problem pesticida je taj što nisu selektivni za određenu vrstu organizama već imaju toksičan učinak i na ne ciljane organizme uključujući i ljude. Iz tog razloga su često u središtu pažnje ekotoksikoloških istraživanja koja nerijetko pokazuju negativne učinke pa ljudi često izbjegavaju namirnice tretirane pesticidima te se okreću namirnicama organskog uzgoja. Štetni učinci mogu biti različitog intenziteta, mogu sezati od blagih iritacija pa sve do oštećivanja funkcije jetre i pluća. Neki su kancerogeni, neki štetno djeluju na reproduktivni sustav ili pak ometaju endokrini sustav. Nekoliko ih je neurotoksično, najviše iz skupine insekticida dok nekolicina iz drugih skupina pesticida ima neurotoksičan učinak (Stenersen, 2004). Takav učinak može se manifestirati kao izraženi simptomi nakon visokog akutnog izlaganja pesticidu ili pak kroničnog izlaganja niskim dozama. (Stenersen, 2004).

Pesticidi u organizam mogu biti uneseni oralnim putem, preko kože ili pak inhalacijom. Oralan unos pesticida često je slučajan ili pak rezultat suicidalnih radnji a rezultiraju teškim otrovanjem i smrću, pretpostavlja se, 250 000-370 000 ljudi godišnje (Dawson i sur., 2010). No, šira populacija kronično je izložena niskim dozama koje ulaze u organizam preko kože. Takav kontakt teško je izbjeći jer se tragovi pesticida nalaze na hrani i u pitkoj vodi te ima najveći potencijal izlaganja (WHO, 1990). Zbog posljedica trovanja pesticidima godišnje se hospitalizira nekoliko milijuni ljudi od čega ih stotine tisuće umire (Bertolote i sur., 2006).

Neurotoksičnost možemo definirati kao štetno djelovanje kemijskog, biološkog ili fizičkog agensa na središnji i periferni živčani sustav (Costa i sur., 2008). Živčani sustav

posebno je osjetljiv na djelovanje različitih štetnih djelovanja zbog svojih karakteristika kao što su ovisnost o aerobnom metabolizmu, aksonalni transport i neurotransmisija (Moser i sur., 2008). Nadalje, mozak u razvoju, kada se događa replikacija, migracija, diferencijacija, mijelinizacija te stvaranje sinapsi, posebice je osjetljiv na neurotoksično djelovanje što je posljedica nepotpuno razvijene krvno-moždane barijere. Zbog toga se ispoljavanje neurotoksičnosti uvelike razlikuje u mozgu odraslih i mozgu djece (Spencer, 2000).

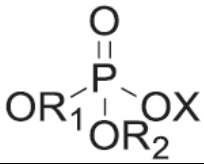
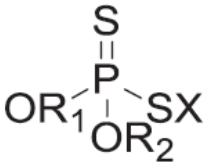
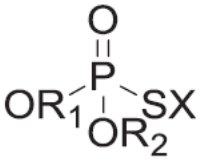
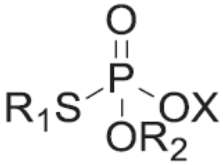
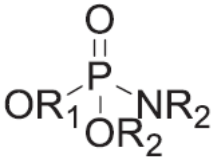
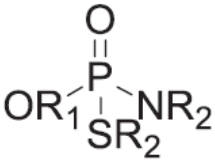
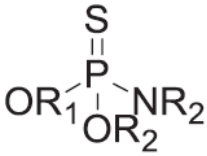
Neurotoksini mogu se podijeliti u 4 skupine, ovisno o mehanizmu djelovanja. Pa tako postoje neurotoksini koji uzrokuju neuronopatije, aksonopatije kada dolazi do propadanja aksona, oni koji uzrokuju mijelinopatije i toksini koji utječu na neurotransmitere. Mnogi toksini koji uzrokuju neuronopatije, odnosno propadanje neurona, odgovorni su za stvaranje nekroza ili poticanje apoptoze neurona. Propadanje neurona je ireverzibilno a posljedično dolazi do stvaranja encefalopatije. Primjerice, djelovanjem MPTPa (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin) propadaju dopaminergički neuroni u regiji *supstantia nigra* što rezultira pojavom simptoma sličnih onima Parkinsonovoj bolesti (Smeyne i Jackson-Lewis, 2005). Neurotoksini uzrokuju smrt stanica raznim mehanizmima poput razaranja citoskeleta, oštećivanje mitohondrija, induciranje oksidativnog stresa i preopterećivanje stanica kalcijem. Velik broj kemikalija oštećuje sam akson stvarajući aksonopatije. Akson propada zajedno sa svojom mijelinskom ovojnicom dok tijelo neurona ostaje netaknuto. Rezultat toga često su periferne neuropatije karakterizirane gubljenjem osjeta i motorike u nogama i rukama. Drugi spojevi pak djeluju na mijelin tvoreći intramijelinske edeme i uzrokuju demijelinizaciju. Neuroni su strukturalno netaknuti ali je njihova funkcionalnost promijenjena. Također postoje neurotoksini koji djeluju na proces neurotransmisije. Takvi toksini mogu inhibirati otpuštanje neurotransmitera, djelovati kao agonisti/antagonisti ili ometaju proces širenja signala. Učinci takvih toksina često su reverzibilni, no unatoč tome oštećuju živčani sustav te su nemalo puta i smrtonosni. U neurotoksine ubrajaju se i pesticidi, poglavito insekticidi kojima se molekularni mehanizam temelji na djelovanju na živčani sustav (Costa i sur., 2008).

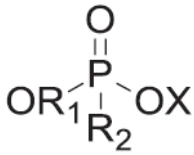
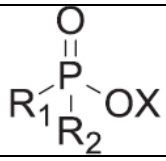
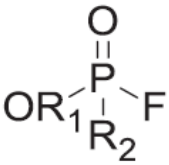
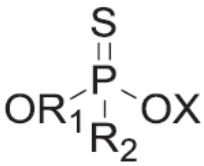
2. Organofosfati

Organofosfati se sastoje od središnjeg atoma fosfora za koji je duplom vezom vezan atom kisika ili sumpora, dvije alkilne ili arilne skupine vezane jednostrukom vezom preko kisika, sumpora ili pak direktno (R_1, R_2), te od izlazne supine (X) koja se zamjenjuje

nukleofilnom supstitucijom s kisikom amonokiselinskog ostatka serina u aktivnom mjestu ciljanog proteina (Mangas i sur., 2016). Postoji najmanje 13 različitih tipova organofosfata prikazanih u tablici 1., zajedno sa njihovim strukturama. U tablici su prikazane osnovne strukture organofosfata gdje R1 i R2 predstavljaju metilnu, etilnu ili izopropilnu skupinu (Mangas i sur., 2016).

Tablica 1. Različiti tipovi organofosfatnih spojeva i njihove kemijske strukture. (Mangas i sur., 2016.)

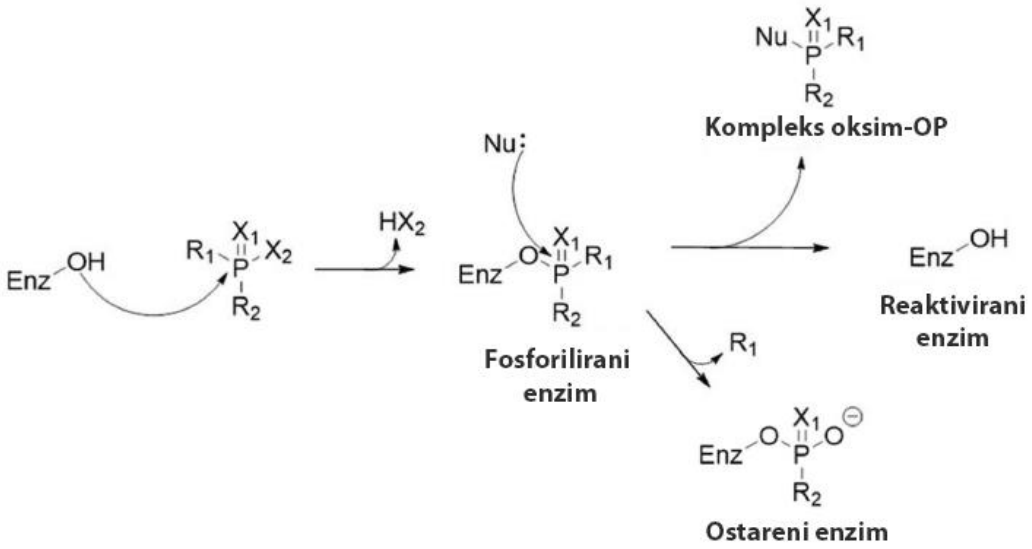
O,O' Dialkil-fosfat	
O,O' Dialkil fosforoditioat	
O,O' Dialkil fosforotioat	
O-Alkil, *S*-alkil fosforotioat	
O,O' Dialkil fosforamidat	
O-Alkil, *S*-alkil fosforotioamidat	
O,O' Dialkil fosforotioamidat	

O, Alkil, alkil fosfonat	
Dialkil fosfonat	
O, Alkil, alkil fosfonofluoridat	
O, Alkil, alkil fosfonotioat	

Esteraze kao i kolinesteraze kataliziraju hidrolizu karboksilestera reakcijom u kojoj je acilna skupina kovalentno vezana za enzim uz otpuštanje izlazne skupine. Organofosfati toksično djeluju tako da se kovalentno vežu u aktivno mjesto enzima esteraza i kolinesteraza (Mangas i sur., 2016). Takvi enzimi su nefunkcionalni sve dok se organofosfatna skupina ne ukloni iz aktivnog mjesta, što se dešava rijetko ili ne uopće. U nekim slučajevima dolazi do spontane reaktivacije (Sogorb i Vilanova, 2006) ili pak reaktivaciju mogu potaknuti fluoridi i oksimi. Osim reakcija reaktivacije, enzim može proći reakciju dealkilacije zvanu starenje enzima (Sogorb i Vilanova, 2002). Oksimi reaktiviraju fosforilirane enzime tvoreći reverzibilan Michaelisov konjugat nakon čega slijedi uklanjanje fosfatne skupine (Slika 1.) (Mangas i sur., 2016). Iako se provode mnoga istraživanja za razvoj oksima, danas se u liječenju otrovanja organofosfatima u ljudi koriste samo pralidoksim, obidoksim i TMB-4. Smatra se da je dizajn novih tipova oksima ključan za liječenje intoksikacije organofosfatima (Worek i sur., 2012).

Organofosfati izazivaju različite neurotoksične učinke koji ovise o dozi, prirodi organofosfatnog spoja, frekvenciji izlaganja te o fiziološkom stanju osobe (Mangas i sur., 2016.). Prema ozbiljnosti simptoma, unesena doza može se podijeliti u 3 kategorije: mala, srednja i velika. Mala doza unesena je kada pacijent ne pokazuje simptome a razina kolinesteraze u serumu je veća od 50% normalne vrijednosti. Pri unosu srednje doze

pojavljuje se umor, vrtoglavica, glavobolja, povraćanje i ukočenost udova, a količina kolinesteraze u serumu iznosu 20-50% normalne vrijednosti. Ukoliko je došlo do unosa velike količine organofosfata pacijent manifestira teže simptome: mioza i gubitak pupilarnog refleksa, fascikulacija, flakcidna paraliza, respiratorne bolesti, cijanoza i nesvjestica. Razina kolinesteraze u serumu je manja od 10% normalne vrijednosti (Terry i sur., 2003). Primijećeno je da različiti organofosfatni spojevi inhibiraju kolinesterazu u približno jednakoj mjeri, no pokazuju različite neurotoksične učinke (Mach i sur., 2008).



Slika 1. Mehanizam inhibicije enzima esteraza i kolinesteraza organofosfatima te njihova reaktivacija. (Mangas i sur., 2016.)

Organofosfati izazivaju različite neurotoksične učinke koji ovise o dozi, prirodi organofosfatnog spoja, frekvenciji izlaganja te o fiziološkom stanju osobe (Mangas i sur., 2016.). Prema ozbiljnosti simptoma, unesena doza može se podijeliti u 3 kategorije: mala, srednja i velika. Mala doza unesena je kada pacijent ne pokazuje simptome a razina kolinesteraze u serumu je veća od 50% normalne vrijednosti. Pri unosu srednje doze pojavljuje se umor, vrtoglavica, glavobolja, povraćanje i ukočenost udova, a količina kolinesteraze u serumu iznosu 20-50% normalne vrijednosti. Ukoliko je došlo do unosa velike količine organofosfata pacijent manifestira teže simptome: mioza i gubitak pupilarnog refleksa, fascikulacija, flakcidna paraliza, respiratorne bolesti, cijanoza i nesvjestica. Razina kolinesteraze u serumu je manja od 10% normalne vrijednosti (Terry i sur., 2003).

Primijećeno je da različiti organofosfatni spojevi inhibiraju kolinesterazu u približno jednakoj mjeri, no pokazuju različite neurotoksične učinke (Mach i sur., 2008).

Trovanje organofosfatnim spojevima rezultira trima različitim kliničkim sindromima koji imaju svoj određeni kronološki slijed. Najprije nastupa akutni kolinergični sindrom, a zatim intermedijski sindrom. Oba sindroma predstavljaju opasnost po život pacijenta. Posljednja faza je organofosfatima inducirana zakašnjela polineuropatija (OPIDP) (Karallidde i sur., 2006).

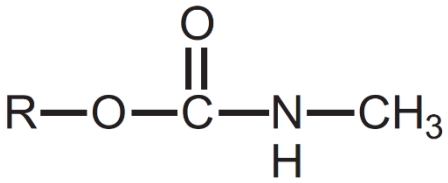
Kao što je prikazano na Slici 1., organofosfati djeluju inhibirajuće na acetilkolinesterazu (AChE) koja uklanja višak acetilkolina u sinaptičkoj pukotini neurona. Njena inhibicija sprječava razgradnju acetilkolina u sinapsama koji se nakuplja i prekomjerno stimulira receptore postsinaptičkog neurona (Mangas i sur., 2016.). Učinci inhibicije AChE mogu se podijeliti u tri kategorije: učinci na muskarinske receptore, učinci na nikotinske receptore i učinci na središnji živčani sustav. Klinički simptomi pojedine kategorije učinaka prikazani su u Tablici 2. Simptomi se pojavljuju nakon akutnog otrovanja organofosfatima odnosno opisuju se kao akutni kolinergični sindrom (Mangas i sur., 2016.).

Tablica 2. Učinci prevelike stimulacije receptora acetilkolinom nakon trovanja organofosfatima. (Mangas i sur., 2016.)

Receptor	Simptom
Muskarinski receptor	diarea, urinarna inkontinencija, bradikardia, mioza, bronhokonstrikcija, hipertenzija, abdominalni grčevi, povećano lučenje sline
Nikotinski receptor	hipertenzija, tahikardija, fibrilacija, fascikulacija, nekroza skeletnih mišića
Muskarinski i nikotinski receptori	tremor, gubitak koordinacije pokreta, prestanak disanja, koma, smrt

3. Karbamati

Karbamati su derivati *N*-metil karbaminske kiseline a opća formula im je ROC(O)NHCH3 (slika 2.). R skupina može biti fenol ili drugi heterociklični spoj. Slabo su topljivi u vodi ali se dobro otapaju u organskim otapalima poput alkohola metanola i etanola te acetonu (Vale i Lotti, 2015).

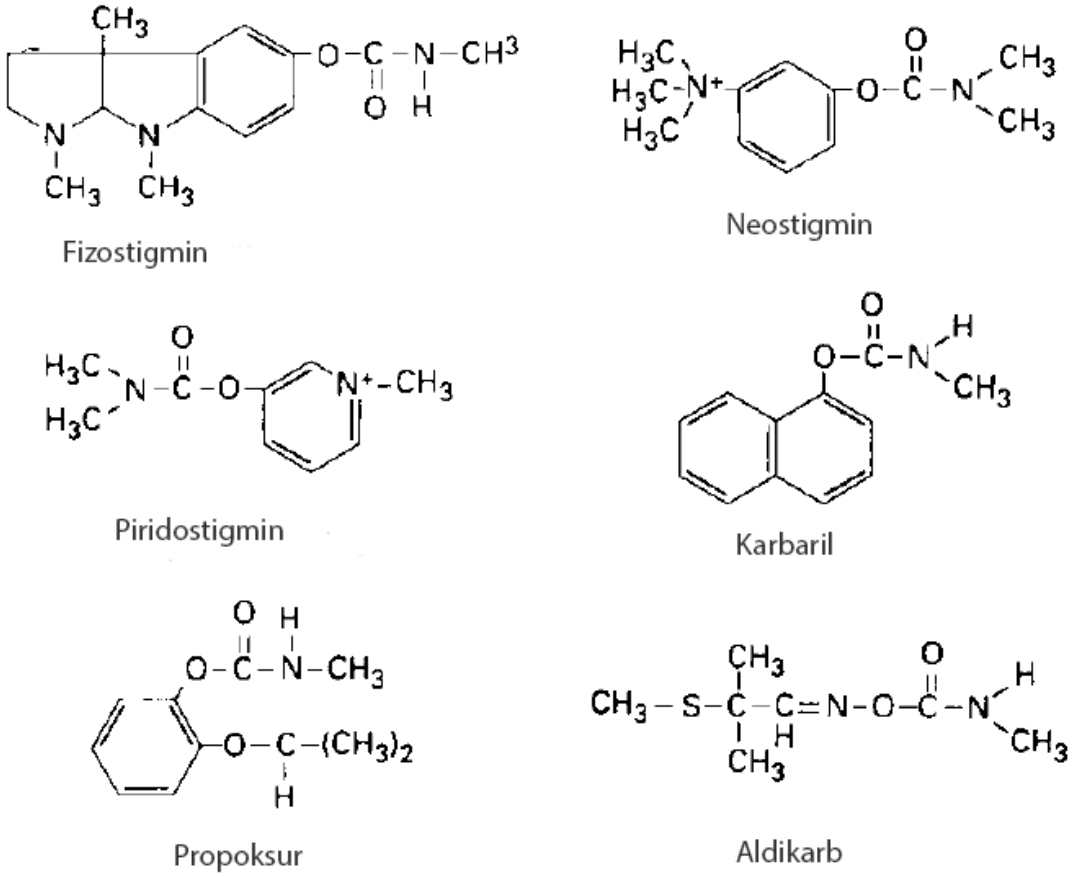


Slika 2. Opća strukturna formula karbamata (Alvares, 1992).

Karbamati su se počeli primjenjivati kao insekticidi 50-ih godina prošloga stoljeća kada. Tada je razvijen 5,5-dimetil dihifroresorcinol dimetil karbamat koji je pokazao kao obećavajući insekticid. Nakon njega razvijeni su brojni spojevi koji su imali visoku efektivnost i potentno neurotoksično djelovanje (Alvares, 1992). Danas se koriste propoksur i karbaril koji je veoma efektivan insekticid sa širokim spektrom djelovanja, nije veoma toksičan za sisavce te se brzo raspada u okolišu. Propoksur je čest insekticid u kućanstvima (Ghupta, 2006). Strukture nekih karbamata prikazane su na slici 3.

Mehanizam djelovanja karbamata sličan je onom organofosfata, njihova meta je enzim AChE u čije se aktivno mjesto vežu. Oni karbamiliraju -OH skupinu aminokiselinskog ostatka serina koji se nalazi u aktivnom mjestu (Vale i Lotti, 2015). Karbamati su alternativni supstrat esterazama koje ih hidroliziraju. Brzina reakcije je manja nego hidroliza acetilkolina, no za razliku od acetiliranog enzima, karbamilirani enzim je mnogo stabilniji (Alvares, 1992). Inhibicijom AChE dolazi do nakupljanja acetilkolina u sinapsama neurona središnjeg živčanog sustava, neuromuskularnim pločama i efektorskim mjestima parasimatikusa (Vale i Lotti, 2015). Aktivnost AChE vraća se u normalno stanje nakon spontane hidrolize karbamiliranog enzima, što za razliku od inhibicije organofosfatima, traje relativno kratak period. Nadalje, karbamati teže prolaze krvno-

moždanu barijeru pa je učinak na cerebralnu AChE manji nego kod organofosfata (Mach i sur., 2008).

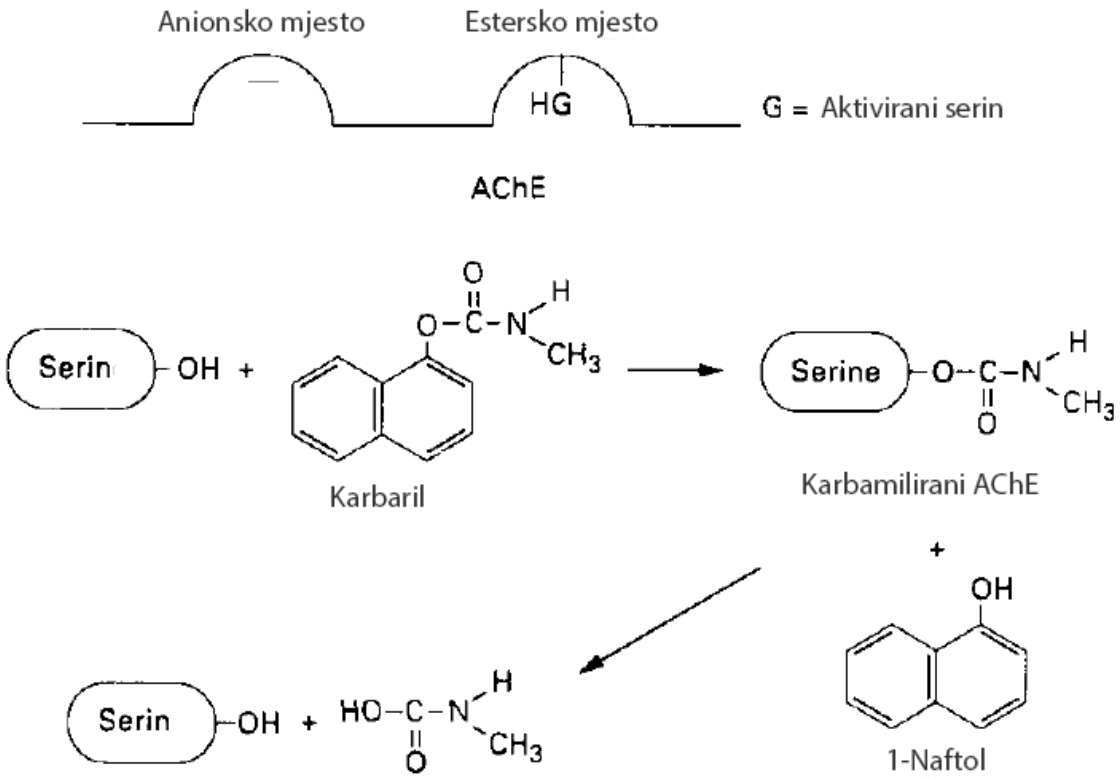


Slika 3. Strukture nekih karbamata.(Alvares, 1992).

Nakon gutanja, inhalacije ili kontaminacije kože može doći do sistemske toksičnosti, a teže trovanje zabilježeno je kod novorođenčadi prilikom transplacentalnog prijenosa (Sarkar i sur., 1994). Iako karbamati nisu toksični poput organofosfata, nikako nisu bezopasni. Akutno trovanje može biti teško i rezultirati smrću. (Alvares, 1992).

Za djelovanje karbamata nije potrebna bioaktivacija pa se toksičnost očituje veoma brzo, najčešće unutar sat vremena od ingestije (Padilla i sur., 2007). Javlja se kolinergični sindrom, a u najtežim slučajevima grčenje mišića, slaboća, inkontinencija, mentalne konfuzije i progresivni prestanak respiratorne i srčane funkcije (Tracqui i sur., 2001). U manje težim slučajima otrovanja kolinergični sindrom nastupa unutar 2 sata a simptomi nestaju unutar 24 sata. Također postoje dokazi da je učinak na središnji živčani sustav veći kod djece nego kod odraslih osoba što bi se moglo objasniti još nepotpuno razvijenom krvno-

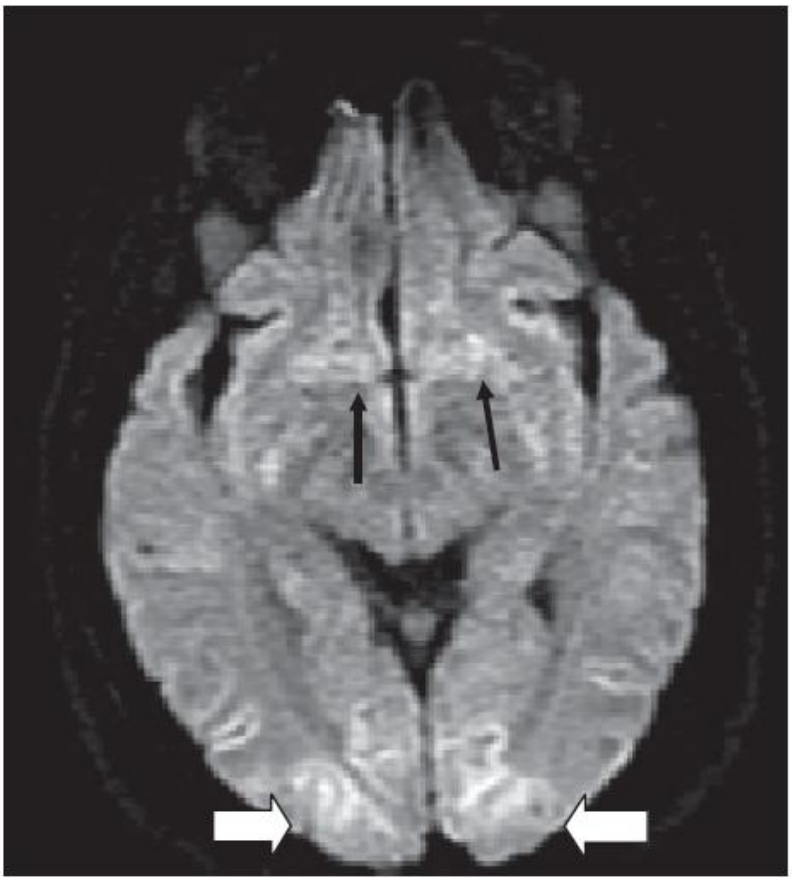
moždanom barijerom u male djece (Lifshitz i sur., 1997). Kod neliječenih slučajeva trovanja smrt je nastupila unutar nekoliko sati, a uzroci smrti u većini slučajeva bili su prestanak disanja. Prilikom obdukcija nađeni su plućni edem i moždane ozljede uzrokovane hipoksijom (Tsatsakis i sur, 1996; Al-Samarraie i sur., 2009).



Slika 4. Mehanizam djelovanja karbamata. (Alvares, 1992).

Smatra se da trovanje karbamatima ne uzrokuje odgođenu polineuropatiju kakvu uzrokuju organofosfati, no zabilježeni su slučajevi prilikom ingestije karbarila, m-tolil metilkarbamata i karbofurana. Pacijenti su razvili senzorimotornu neuropatiju, gubitak velikih mijeliniziranih vlakana te propadanje aksona, različite senzorne simptome i slabost mišića (Dickoff i sur., 1987; Umehara i sur., 1991; Yang i sur., 2000). Prema ovakvim izvještajima znanstvenici su zaključili da karbamati mogu prouzročiti senzorimotornu polineuropatiju sličnu onoj nastaloj djelovanjem organofosfata. Također, karbamati mogu pogoršati polineuropatije ranije inicirane organofosfatima ili već postojeće mirujuće aksonalne bolesti (Lotti i Moretto, 2005). Postoje slučajevi u kojima se razvila periferna

neuropatija (Winnik i sur., 1997) te sljepoća za koju se otkrilo da je posljedica štete u okcipitalnom režnju i bazalnom gangliju (Hu i sur., 2010).

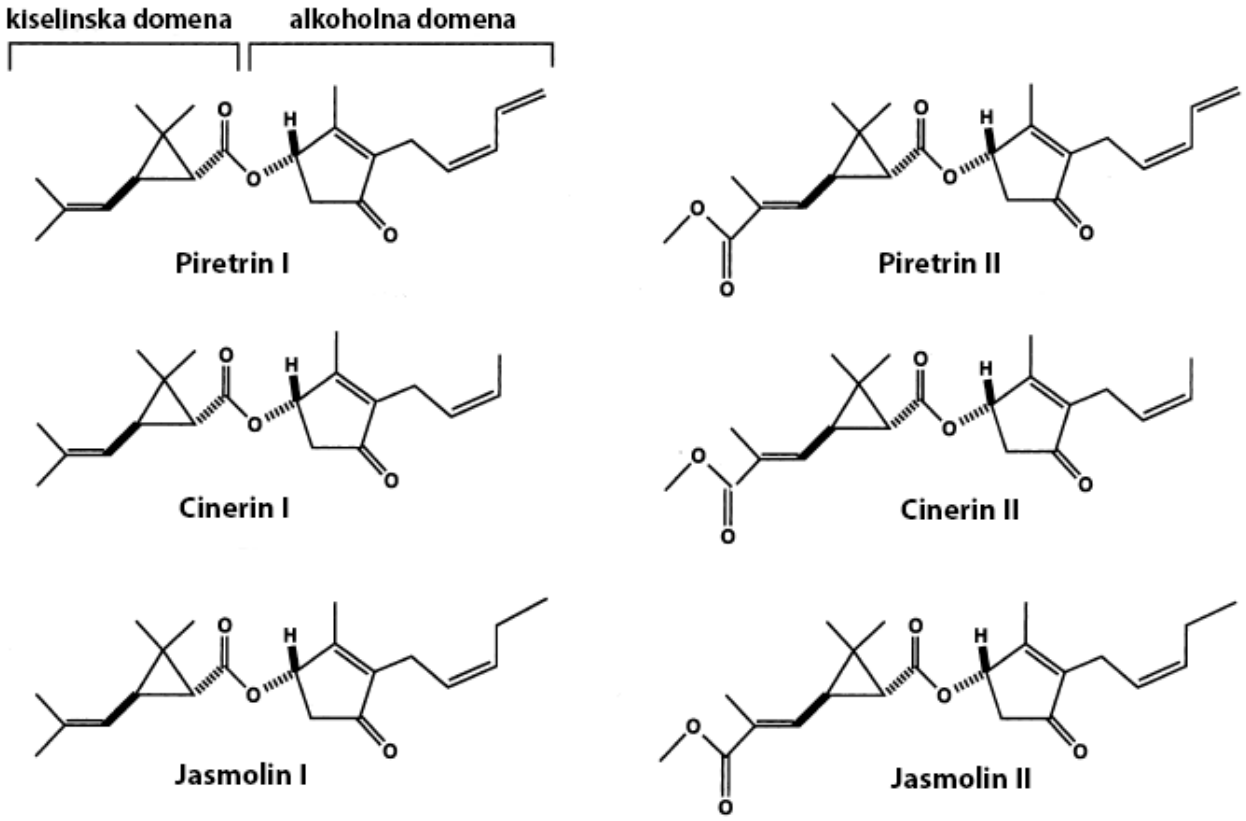


Slika 5. Snimka magnetske rezonancije snimljena nakon 7 dana od intoksikacije motomil-alfametrinom. Na snimci se vidi neuobičajeno aktivno područje na bazalnom gangliju (crne strelice) i okcipitalnom režnju (bijele strelice). (Hu i sur., 2010)

4. Piretroidi

Piretroidi su sintetički insekticidi dobiveni strukturnim promjenama prirodnih piretrina (Ray i Fry, 2006). Godine istraživanja i razvoja dale su mnogobrojne strukture piretroida koji se koriste u različite svrhe, od poljoprivrede do kontrole štetočina u domaćinstvima (Sonderlund i sur., 2002). Velika mana piretrina je ta što nije stabilan na zraku i suncu tako da se ne može primjenjivati u zaštiti usjeva. Sintetički piretroidi dobivaju se modificiranjem strukture prirodnih piretrina kako bi se povećala fotostabilnost, potencirala otrovnost za

štetnike a istovremeno smanjila štetnost za ljude (Ray i Fry, 2006). Velik dio piretroida nastao je zamjenom strukturalnih elemenata piretrina novim skupinama odabranih zbog svoje prostorne konfirmacije, oblika i fizikalnih svojstava. Po svojoj kemijskoj strukturi piretrini su esteri ciklopropankarboksilne kiseline i ciklopentanola. Prvi primijenjeni piretroid u poljoprivredi bio je permetrin zahvaljujući svojoj fotostabilnosti (Elliott, 1995). Dodatkom α-cijano supstituenta dobiven je deltametrin, spoj sa mnogo većom toksičnošću negoli permetrin, ali jednake fotostabilnosti (Sonderlund i sur., 2002).



Slika 6. Strukturne formule prirodnih piretrina. (Soderlund i sur., 2002)

Mehanizam djelovanja piretroida temelji se na mijenjanju kinetičkih svojstava natrijskih kanala osjetljivih na napon u živčanim stanicama kukaca što dovodi do povećanja propusnosti za natrij (Sonderlund i sur., 1989). Istraživanja na muhama otpornim na piretroide identificirala su gen *Vssc1* kao odgovoran za otpornost, gen koji kodira a natrijski kanal (O'Reilly i sur., 2006). Istraživanja na drugim kukcima, također otpornim, pronašla su vezu između otpornosti i ortologa gena *Vssc1* (Soderlund, 1999). Sekvenciranjem ovih gena

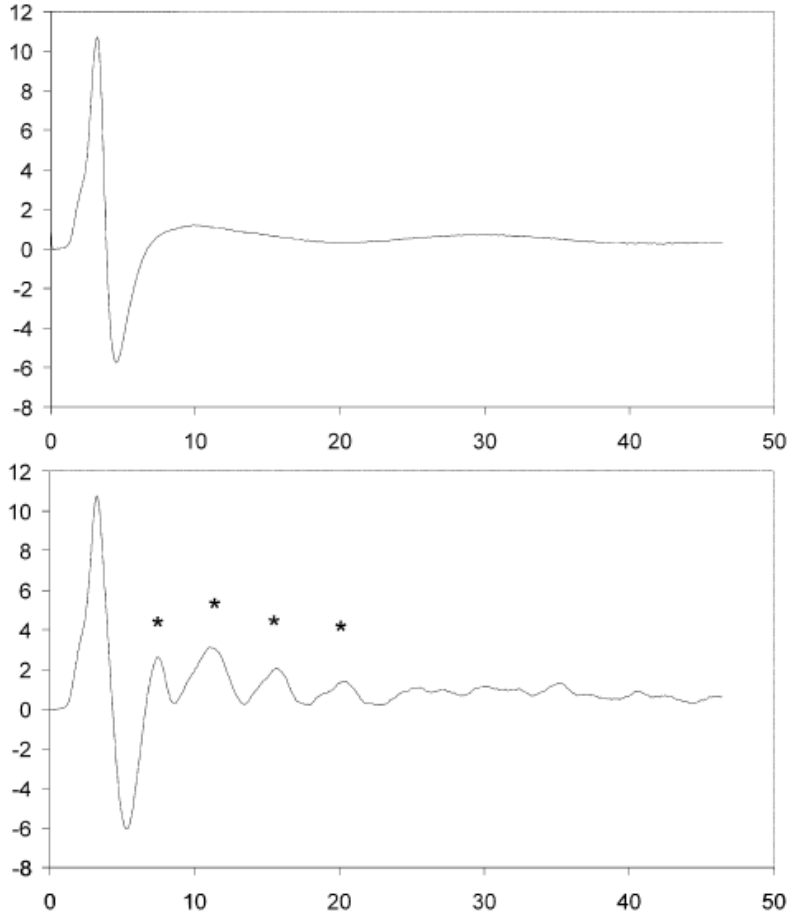
otpornih i neotpornih muha nađena je jedna mutacija zajednička svim muhama otpornim na pesticide. Još jedna takva mutacija pronađena je kod muha *super-kdr* soja koje imaju pojačanu otpornost na piretroide. Insercijom cDNA mutiranog *Vssc1* u nemutirane jedinke dolazi do pojave otpornosti na piretroide (Sun i sur., 2016). Ovim istraživanjima identificiran je molekularni mehanizam djelovanja piretroida koji se temelji na mijenjanju kinetičkih svojstava natrijskih kanala (Sonderlund, 1997).

Natrijski kanali osjetljivi na napon presudni su normalnu funkciju ekscitabilnih stanica, a odgovorni su za stvaranje struje natrija u stanicu koja stvara akcijski potencijal (Conley i Brammar, 1999). Ovi kanali sastavljeni su od α podjedinica koje čine samu poru i od β_1 i β_2 podjedinice koje mogu nedostajati u drugih vrsta koje ne pripadaju sisavcima te koje reguliraju funkciju α podjedinice. Kanali također mogu biti glikozilirani i fosforilirani kako bi se modificirala njihova funkcija (Marban i sur., 2003).

α podjedinica natrijskog kanala sačinjena je od jedenog peptidnog lanca podijeljenog u 4 domene, svaku domenu sačinjava 6 transmembranskih uzvojnica (Silver i sur, 2014). Piretroidi se vežu na transmembranskim uzvojnicama S5 i S6 no studije specifičnih mjesta vezanja otežava visoka lipofilnost piretroida (O'Reilly i sur., 2006). Interakcije između molekule piretroida i natrijskog kanala usporava njegovu aktivaciju i inaktivaciju što dovodi do hiperekscitabilnog stanja (Silver i sur, 2014). Iako je aktivacija usporena na razini jednog kanala, velika gustoća natrijskih kanala osigurava dovoljnu količinu nemodificiranih kanala odnosno ne dolazi do kašnjenja aktivacijske faze akcijskog potencijala. No, u fazi pada akcijskog potencijala čak i male količine modificiranih kanala mogu generirati dovoljno struje da inaktivacija zakasni. Sporija stopa inaktivacije kanala modificiranih piretroidima uzrokuje prolongaciju depolarizacije odnosno „rep" koji prati akcijski potencijal. Taj „rep" može prouzročiti dodatan akcijski potencijal ukoliko je struja dovoljno velika i traje dovoljno dugo da susjedni nemodificirani natrijski kanali povrate ekscitabilnost (Silver i sur, 2014). Tako normalno jedan akcijski potencijal može prerasti u nekoliko njih. Amplituda akcijskog potencijala ostaje konstantna jer se zakašnjelo otvaranje natrijskih kanala, što bi smanjilo akcijski potencijal, i njihovo zakašnjelo zatvaranje, što bi povećalo amplitudu, međusobno poništavaju (Silver i sur, 2014).

Važno svojstvo djelovanja piretroida je to da nakon modifikacije natrijskih kanala, oni zadržavaju svoja druga svojstva. I dalje ostaju selektivni samo za natrij i provodljivost im ostaje nepromijenjena. Također ostaju osjetljivi na potencijal membrane (Ray i Fry,

2006). Nakon administracije umjerene doze piretroida, stanice funkcioniraju relativno stabilno, no u stanju hiperekscitabilnosti. Kod kukaca ovo stanje izaziva ošamućenost, no nije letalno, a kod sisavaca uzrokuje simptome trovanja (Narahashi, 1985).



Slika 7. Graf koji prikazuje normalan akcijski potencijal (gore) te repetitivna ispaljivanja uzrokovana modificiranim natrijskim kanalima. (Ray i Fry, 2006)

Različiti tipovi natrijskih kanala različito su osjetljivi na piretroide. Primjerice, natrijski kanali kod kukaca su 100 puta osjetljiviji od IIa kanala u mozgu štakora što bi djelomice objasnilo otpornost sisavaca (Warmke i sur., 1997). Nadalje, postoji određena regionalna selektivnost učinaka piretroida u mozgu što korespondira s različitom distribucijom osjetljivih natrijskih kanala. Na rezovima striatuma došlo je do otpuštanja neurotransmitera kao odgovor na piretroid tipa II, fenvalerat. Ova pojava se ne očituje na rezovima hipokampusa (Dong sur., 2014). Prilikom *in vivo* ispitivanja ovih regija mozga na EEG-u, striatum je prvi pokazao znakove aktivnosti i hiperekscitabilnost, dok je hipokampus pokazivao znakove inhibicije (Pittman i sur., 2003).

Kompleksnost učinaka piretroida na središnji živčani sustav mnogi znanstvenici pokušavaju objasniti antagonističkim djelovanjem na GABA receptore, modulaciji nikotinske kolinergične transmisije, pojačavanjem lučenja noradrenalina ili direktnim djelovanjem na kanale kalcija i klora (Hildebrand i sur., 2004). No, malo je vjerojatno da je bilo koji od tih mehanizama alternativni primarni mehanizam djelovanja piretroida (Eells i sur., 1992).

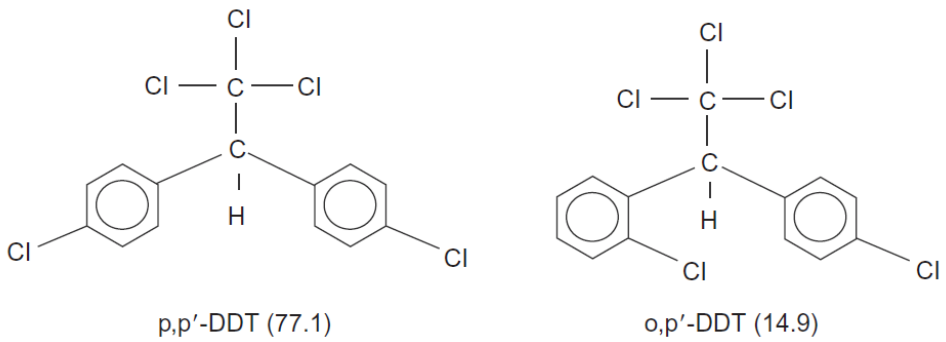
5. Organokloridi

Nekoliko tipova organoklorida koristi se kao insekticidi, a razlikuju se u svojoj strukturi te u mehanizmima toksičnosti i ciljanosti na određene vrste životinja. Najpoznatiji organokloridni pesticid je 1,1,1-trikloro-2, 2-*bis* (4-klorofenil) etan odnosno DDT, zajedno sa svojim analozima. Druga važna skupina organoklorida su ciklodieni koji uključuju klordan, dieldrin, aldrin, heptaklor i endrin (Costa, 2015). Danas su svi organokloridni insekticidi zabranjeni osim DDT-a koji se još proizvodi u Indiji, Kini i Sjevernoj Koreji a koristi se za kontrolu vektora bolesti, najviše malarije (Van den Berg, 2009). Zabranjeni su iz razloga što perzistentni u okolišu te je dokazana njihova bioakumulacija i biomagnifikacija u hranidbenim lancima (Costa, 2015). Prvi dokazi o štetnosti bili su smanjenje reproduktivne sposobnosti ptica, a jedan od znakova bio je smanjenje debljine ljuske jajeta (Peakall, 1970).

Što se tiče toksičnosti za ljude, DDT pokazuje umjerenu akutnu toksičnost prilikom oralne administracije, a LD_{50} je oko 250 mg/kg. Izomer *p,p'*-DDT 10 puta je toksičniji od *o,p'*-DDT-a (Smith, 2010). Oralna doza od 10-20 mg/kg uzrokuje bolesti kod čovjeka (Smith, 2010). DDT se nakon apsorpcije distribuira u sva tkiva sa najvećom koncentracijom u adipoznom tkivu. Također se metabolizira u velikoj mjeri ali sporo, a DDE (diklorodifenildikloroetilen, koji se također pohranjuje u adipoznom tkivu), DDD (diklorodifenildikloroetan) i DDA (2,2-bis(4-klorofenil)acetična kiselina) su primarni produkti metabolizma DDT-a. Luči se kroz žuč, urin i mlijeko (Smith, 2010).

Akutno trovanje visokim dozama DDT-a uzrokuje povećanu vjerojatnost spontanog pokreta, abnormalnu osjetljivost na strah, te povećanu osjetljivost na vanjske stimulanse (Jayaraj, 2016). Nakon toga dolazi do razvijanja blagih tremora koji progresivno postaju grublji, sve do razvoja tonično-koničnih konvulzija. U nekim slučajevima može nastupiti

smrt izazvana respiratornim zatajenjem (Costa, 2015). Nema dokaza o većoj osjetljivosti mladih, oni pokazuju veću osjetljivost kao i starije osobe (Ecobichon i Joy. 1982).



Slika 8. Kemijska struktura *p,p'*-DDT i *o,p'*-DDT izomera. (Costa, 2015)

Prema simptomima akutnog trovanja jasno je da organokloridi djeluju na živčani sustav. DDT mijenja normalna fiziološka svojstva natrijskih kanala kako kukaca, tako i sisavaca, mehanizam sličan onome djelovanju piretroida (Vijverberg i sur., 1982). DDT ne utječe na potencijal mirovanja i na rastuću fazu akcijskog potencijala, no uvelike prolongira repolarizaciju odnosno padajuću fazu akcijskog potencijala. U tom periodu, neuron je povećane ekscitabilnosti što povećava šansu repetitivnog ispaljivanja akcijskog potencijala. Istraživanja su dokazala da DDT usporava zatvaranje natrijskih kanala što za posljedicu ima opisano ponašanje akcijskog potencijala. Ovaj mehanizam jednak je onom u piretroida (Woolley, 1982).

DDT također inhibira Ca^{2+}-ATPazu čija je funkcija održavanje niske koncentracije kalcijevih iona unutar stanice. Inaktivacijom ove crpke koncentracija kalcijevih iona unutar stanice se povećava, a membrana postaje nestabilna i podložna repetitivnoj depolarizaciji (Matsumura i Ghiusaddin, 1979). Izlaganje DDT-u mijenja količine nekih neurotransmitera poput acetilkolina, noradrenalina, serotonina, a tako i sekundarnih glasničkih molekula kao što je cGMP. No vjeruje se kako su te promjene posljedica, a ne uzrok neurotoksičnosti inducirane DDT-om (Woolley, 1982). Liječenje intoksikacije DDT-om fokusira se na živčani sustav primjenom fenitoina i kalcijeva glukonata kako bi se zaustavio tremor, a uz dekontaminaciju diazepam i fenobarbital se koriste u liječenju ljudi (Costa, 2015).

Heksaklorocikloheksani i ciklodieni velika su skupina organoklorida koji imaju sličan mehanizam djelovanja (Vale i sur., 2003). Lindan i ciklodieni imaju umjerenu do visoku akutnu oralnu toksičnost, ali za razliku od DDT-a lako se apsorbiraju kroz kožu. Ova skupina organoklorida primarno djeluje na središnji živčani sustav (Brooks, 2010). Za razliku od DDT-a, tremori izostaju ali su konvulzije uobičajeni simptom otrovanja. Vjeruje se kako su konvulzije posljedica interferencije ovih insekticida s GABA povezanom neurotransmisijom (Ray, 2010). GABA je važan neurotransmiter u živčanom sustavu sisavaca i kukaca. Za njegove receptore povezane s kanalom klora vežu se lindan i ciklodieni, blokiraju njegovo otvaranje te tako inhibiraju inhibitorno djelovanje GABA-e (Narahashi i sur., 2007). Liječenje akutnog trovanja je simptomatsko, koriste se fenobarbital i diazepam za prestanak konvulzija (Costa, 2013).

6. Zaključak

Kada govorimo o neurotoksičnim pesticidima najčešće su to insekticidi koji djeluju na živčani sustav kukaca. U molekularnom pogledu živčani sustav kukaca i njima srodstveno udaljenim organizmima, kao što su primjerice sisavci, veoma su slični pa tako ni jedan insekticid ne može biti specifičan samo za pojedinu vrstu. Tako insekticidi štetno djeluju na ljudsko zdravlje, posebice onih koji su uključeni u njihovu proizvodnju i raspršivanje. Šira populacija izložena je manjim dozama putem hrane i vode. Novijim istraživanjima i razvojem novih kemijskih spojeva pokušava se smanjiti štetnost insekticida te povećati njihovu učinkovitost. Također razvijaju se nove metode i terapeutici kako bi se smanjio rizik od neurotoksičnih učinaka pesticida.

7. Literatura

G. L. Costa, Lucio & Giordano, Gennaro & Guizzetti, Marina & Vitalone, Annabella. (2008). Neurotoxicity of pesticides: A brief review. Frontiers in bioscience : a journal and virtual library 13: 1240-1249

Sparks T. C., Nauen R. (2015) IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. Pesticide Biochemistry and Physiology 121: 122–128.

Pimentel, D. (2005) Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. Environment, Development and Sustainability, 7: 229-252.

Zhang W., Jiang F., Ou J. (2011) Global pesticide consumption and pollution: With China as a focus. Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences 1: 125-144.

Stenersen J. (2004) Chemical pesticides: mode of action and toxicology. CRC Press LLC. Boca Raton, Florida.

WHO (World Health Organization) (1990) *Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture*. Geneva

Bertolote, J. M., Fleischmann, A., Eddleston, M., Gunnell, D. (2006) Deaths from pesticide poisoning: a global response. British Journal of Psychiatry 189: 201–203

Dawson, A. H., Eddleston, M., Senarathna, L., Mohamed, F., Gawarammana, I., Bowe, S. J., Buckley, N. A. (2010). Acute Human Lethal Toxicity of Agricultural Pesticides: A Prospective Cohort Study. PLoS Medicine 7: e1000357

Moser, V. C., Aschner, M., Richardson, R. J., Philbert, M. A. (2008) Toxic responses of the nervous system. U: Klaassen, C. (ur.) Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. McGraw-Hill, New York, str. 631-664

Spencer, P.S., Schaumburg, H.H., Ludolph, A.C. (ur.) (2000) Experimental and Clinical Neurotoxicology. Oxford University Press, Oxford

Smeyne R.J., Jackson-Lewis V. (2005) The MPTP model of Parkinson's disease. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 134: 57-66

Mangas I., Vilanova E., Estevez. J., França T. C. C. (2016). Neurotoxic Effects Associated with Current Uses of Organophosphorus Compounds. *J. Braz. Chem. Soc.* 27: 809-825

Sogorb, M. A.; Vilanova, E. (2006) Anticholinesterases Pesticides. U: Satoh, T., Gupta, R. C. (ur) Metabolism, Neurotoxicity, and Epidemiology. Academic Press. San Diego.

Sogorb M. A., Vilanova E. (2002) Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicol Lett.* 128: 215-228

Worek, F., von der Wellen, J., Musilek, K., Kuca, K., & Thiermann, H. (2012) Reactivation kinetics of a homologous series of bispyridinium bis-oximes with nerve agent-inhibited human acetylcholinesterase. Archives of Toxicology 86: 1379–1386

Terry A.V. Jr, Stone J.D., Buccafusco J.J., Sickles D.W., Sood A., Prendergast M.A. (2003) Repeated exposures to subthreshold doses of chlorpyrifos in rats: hippocampal damage, impaired axonal transport, and deficits in spatial learning. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 305: 375-384

Mach M., Grubbs R.D., Price W.A., Nagaoka M., Dubovický M., Lucot J.B. (2008) Delayed behavioral and endocrine effects of sarin and stress exposure in mice. Journal of Applied Toxicology 28: 132-139

Karalliedde L., Baker D., Marrs T. C. (2006) Organophosphate-Induced Intermediate Syndrome. Toxicological Reviews 25: 1-14

Emerick, G. L., Fernandes, L. S., de Paula, E. S., Barbosa, F., Santos, N. A. G. dos, Santos, A. C. dos. (2015) In vitro study of the neuropathic potential of the organophosphorus compounds fenamiphos and profenofos: Comparison with mipafox and paraoxon. Toxicology in Vitro 29: 1079–1087

Vale A., Lotti M. (2015) Organophosphorus and carbamate insecticide poisoning. Handbook of Clinical Neurology 131: 149-169

Alvares A. L. (1992) Pharmacology and toxicology of carbamates. U: Ballantyne B., Marrs T. C. (ur.) Clinical and Experimental Toxicology of Organophosphates and Carbamates. Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford, 1992, 40-47

Ghupta, R. C. (2006) Classification and Uses of Organophosphates and Carbamates. U: Ghupta, R. C. (ur.) Toxicology of Organophosphate & Carbamate Compounds. Academic Press, Hopkinsville, str. 5-24

Sarkar S, Narang A, Singh S (1994) Transplacentally acquired carbamate insecticide (Baygon) poisoning in a neonate. Indian Pediatrics 31: 343–346

Padilla S., Marshall R.S., Hunter D.L. (2007). Time course of cholinesterase inhibition in adult rats treated acutely with carbaryl, carbofuran, formetanate, methomyl, methiocarb, oxamyl or propoxur. Toxicology and Applied Pharmacology 219: 202–209

Tracqui A., Flesch F., Sauder P. (2001) Repeated measurements of aldicarb in blood and urine in a case of nonfatal poisoning. Human & Experimental Toxicology 20: 657–660

Lifshitz M., Shahak E., Bolotin A. (1997) Carbamate poisoning in early childhood and in adults. Journal of Toxicology: Clinical Toxicology 35: 25–27

Tsatsakis A.M., Tsakalof A.K., Siatitsas Y. (1996) Acute poisoning with carbamate pesticides: the Cretan experience. Science & Justice 36: 35–39

Al-Samarraie M.S.J., Karinen R., Rognum T. (2009) Lethal poisoning with ethiofencarb and ethanol. Journal of Analytical Toxicology 33: 389–392

Dickoff D.J., Gerber O., Turovsky Z. (1987) Delayed neurotoxicity after ingestion of carbamate pesticide. Neurology 37: 1229–1231

Umehara F., Izumo S., Arimura K. (1991) Polyneuropathy induced by m-tolyl methyl carbamate intoxication. Journal of Neurology 238: 47–48

Yang P-Y, Tsao T. C. Y., Lin J-L et al. (2000) Carbofuran-induced delayed neuropathy. Journal of Toxicology: Clinical Toxicology 38: 43–46

Lotti M., Moretto A. (2005) Organophosphate-induced delayed polyneuropathy. Toxicological Reviews 24: 37–49

Winnik L., Pach D., Gawlikowski T. (1997) Multiorgan damage in acute oral carbamates poisonings. Przeglad Lekarski 54: 684–688

Hu Y-H., Yang C-C., Deng J-F. (2010) Methomylalphamethrin poisoning presented with cholinergic crisis, cortical blindness, and delayed peripheral neuropathy. Clinical Toxicology 48: 859–862

Soderlund D. M., Clark J. M., Sheets L. P., Mullin L. S., Piccirillo V. J., Sargent D., Stevens J. T., Weiner M. L. (2002) Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. Toxicology 171: 3–59

Ray, D. E., Fry, J. R. (2006) A reassessment of the neurotoxicity of pyrethroid insecticides. Pharmacology & Therapeutics 111: 174–193

Soderlund, D.M., Bloomquist, J.R., (1989) Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. Annu. Rev. Entomol. 34, 77–96

Elliott, M. (1995) Chemicals in insect control. U: Casida, J.E.,Quistad, G.B. (ur.) Pyrethrum Flowers: Production, Chemistry, Toxicology, and Uses. Oxford University Press, New York, str. 3–31

Soderlund, D.M., 1997. Molecular mechanisms of insecticide resistance. U: Sjut, V. (ur.), Molecular Mechanisms of Resistance to Agrochemicals. Springer, Berlin, 21–56

Sun, H., Tong, K. P., Kasai, S., & Scott, J. G. (2015) Overcomingsuper-knock down resistance(super-kdr) mediated resistance: multi-halogenated benzyl pyrethroids are more toxic tosuper-kdrthankdrhouse flies. Insect Molecular Biology 25: 126–137

Soderlund, D.M., Knipple, D.C., (1999) Knockdown resistance to DDT and pyrethroids in the house fly (Diptera: Muscidae): from genetic trait to molecular mechanism. Annals of the Entomological Society of America 92: 909–915

O'Reilly, A. O., Khambay, B. P. S., Williamson, M. S., Field, L. M., WAllace, B. A., & Davies, T. G. E. (2006) Modelling insecticide-binding sites in the voltage-gated sodium channel. Biochemical Journal 396: 255–263

Marban, E., Yamagishi, T., & Tomaselli, G. F. (1998). Structure and function of voltage-gated sodium channels. The Journal of Physiology 508: 647– 657

Conley, E. C., Brammar, W. J. (1999) The Ion Channel Facts Book. San Diego, Academic Press

Narahashi, T. (1985) Nerve membrane ionic channels as the primary target of pyrethroids. Neurotoxicology 6: 3– 22

Warmke, J. W., Reenan, R. A. G., Wang, P., Qian, S., Arena, J. P., Wang, J., … Cohen, C. J. (1997) Functional Expression of Drosophila para Sodium Channels. The Journal of General Physiology 110: 119–133

Silver, K. S., Du, Y., Nomura, Y., Oliveira, E. E., Salgado, V. L., Zhorov, B. S., & Dong, K. (2014) Voltage-Gated Sodium Channels as Insecticide Targets. Target Receptors in the Control of Insect Pests: Part II: 389–433

Dong, K., Du, Y., Rinkevich, F., Nomura, Y., Xu, P., Wang, L., Zhorov, B. S. (2014) Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance. Insect Biochemistry and Molecular Biology 50: 1–17.

Pittman, J. T., Dodd, C. A., & Klein, B. G. (2003) Immunohistochemical Changes in the Mouse Striatum Induced by the Pyrethroid Insecticide Permethrin. International Journal of Toxicology 22: 359–370

Hildebrand, M. E., McRory, J. E., Snutch, T. P., & Stea, A. (2004) Mammalian voltage-gated calcium channels are potently blocked by the pyrethroid insecticide allethrin. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 308: 805– 813

Eells, J. T., Bandettini, P. A., Holman, P. A., & Propp, J. M. (1992) Pyrethroid insecticide-induced alterations in mammalian synaptic membrane-potential. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 262: 1173– 1181

Costa L.G. (2015) The neurotoxicity of organochlorine and pyrethroid pesticides. Handbook of Clinical Neurology, 131: 135-149

Van den Berg, H. (2009) Global Status of DDT and Its Alternatives for Use in Vector Control to Prevent Disease. Environmental Health Perspectives 117: 1656–1663

Peakall D.B. (1970) Pesticides and the reproduction of birds. Scientific American 222: 72–78

Smith A.G. (2010) Toxicology of DDT and some analogues. U: Krieger R. (ur:.), Hayes's Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, San Diego, 1975–2032

Ecobichon D.J., Joy R.M. (1982) Pesticides and Neurological Diseases, CRC Press, Boca Raton, 1–281

Vijverberg H.P.M., van der Zalm J.M., van den Bercken J. (1982) Similar mode of action of pyrethroids and DDT on sodium channel gating in myelinated nerves. Nature 295: 601–603

Jayaraj, R., Megha, P., & Sreedev, P. (2016) Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. Interdisciplinary Toxicology 9: 90–100

Woolley D.E. (1982) Neurotoxicity of DDT and possible mechanisms of action. U: Prasad K.N., Vernadakis A. (ur.), Mechanisms of Action of Neurotoxic Substances, Raven Press, New York, 95–141

Matsumura F., Ghiasuddin S.M. (1979) Characteristics of DDT-sensitive Ca-ATPase in the axonic membrane.U: Narahashi T. (ur.), Neurotoxicology of Insecticides and Pheromones, Plenum Press, New York, 245–257

Brooks G.T. (2010) Interactions with the gamma-aminobutyric acid A-receptor: polychlorocycloalkanes and recent congeners and other ligands. U: Krieger R. (ur..), Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, San Diego, 2065–2092

Ray D. (2010) Organochlorine and pyrethroid insecticides. U: Philbert M. (ur.), Nervous System and Behavioral Toxicology, Elsevier, New York, 445–45

Vale, C., Fonfra, E., Bujons, J., Messeguer, A., Rodrguez-Farr, E., & Suol, C. (2003) The organochlorine pesticides γ-hexachlorocyclohexane (lindane), α-endosulfan and dieldrin differentially interact with GABAA and glycine-gated chloride channels in primary cultures of cerebellar granule cells. Neuroscience 117: 397–403

Narahashi T., Zhao X., Ikeda T. et al. (2007) Differential actions of insecticides on target sites: basis for selective toxicity. Human and Experimental Toxicology 26: 361–366

Costa L.G. (2013) Toxic effects of pesticides. U: Klaassen C.D. (ur.), Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons, 8th Edition, McGraw-Hill, New York, 933–980