

## Poliklorirani bifenili v materinem mleku kot dejavnik tveganja za nastanek razvojnih okvar sklenine

J. Jan, M. Uršič, A. Pogačnik, M. Vrecl

### Izvleček

**Izhodišče:** Razvojne okvare sklenine prvih stalnih kočnikov so pogoste. Ker je vnos polikloriranih bifenilov (PCB) prek materinega mleka lahko eden od dejavnikov tveganja nastanka teh razvojnih okvar, nas je zanimalo, v kolikšni meri se v materino mleko izločajo toksični PCB-kongeneri. **Material in metode:** Uporabili smo dva para strukturno različnih kongener PCB-jev (IUPAC št. -54, -80, -155 in -169), ki se razlikujejo glede na toksičnost, hitrost metabolične razgradnje in sterično strukturo. PCB-kongeneri smo injicirali dvema ovčama intramuskularno in nato njihove vrednosti določali v mleku ovac v določenih časovnih presledkih z visoko ločljivo plinsko kromatografijo. **Rezultati:** V mleku je bilo v sestavi PCB-kongener glede na vnos veliko manj nižje kloriranih PCB-kongener. Po daljšem času (37. dan) je prevladal PCB-169. **Zaključek:** V mleko se izločajo predvsem višje klorirane, planarne, metabolično stabilne in bolj toksične spojine. PCB-ji v materinem mleku so lahko dejavnik tveganja nastanka razvojnih okvar sklenine prvih stalnih kočnikov.

**Ključne besede:** materino mleko, PCB-ji, razvojne okvare sklenine

## Polychlorinated biphenyls in mother's milk as a risk factor for developmental defects of enamel

### Abstract

**Background:** The prevalence of developmental defects of enamel in first permanent molars has been reported to be high. As polychlorinated biphenyls (PCBs) in mother's milk could be a risk factor for developmental defects of enamel, we were interested in the transfer of toxic PCB congeners to the milk of lactating sheep. **Materials and Methods:** Two pairs of structurally diverse PCB congeners were used (IUPAC Nos. -54, -80, -155, and -169) with different toxicity, resistance to metabolism and steric structure. Individual PCB congeners were administered to sheep after parturition by intramuscular injection and their residual levels in blood and milk determined at different time intervals after administration by high-resolution gas chromatography. **Results:** The pattern of PCB congeners in milk changed considerably from the composition of PCB congeners administered; the enrichment of individual PCB congeners in milk occurred in the order -54, -80, -155, and -169. **Conclusion:** Milk is the main excretion route for higher chlorinated, planar, metabolically stable and more toxic congeners. Based on our results, it could be assumed that PCBs in mother's milk could be a risk factor for developmental defects of enamel in first permanent molars.

**Key words:** developmental defects of enamel, mother's milk, PCBs

## Uvod

PCB-ji so lipofilni, obstojni in povsod razširjeni organoklorni onesnaževalci okolja. Njihove ugodne fizikalno-kemijske lastnosti so omogočile široko uporabo v industriji. Posledica nepravilnega ravnanja z njihovimi odpadki pa je resno onesnaženje okolja (Walker, 2001).

Z izjemo poklicne izpostavljenosti (delavci v kemični in elektroindustriji, poljedelci) je za človeka glavni vir vnosa lipofilnih organoklornih onesnaževalcev hrana, zlasti tista, ki je bogata z lipidi (Ahlborg in sod., 1992). Obseg razgradnje organoklornih onesnaževalcev v organizmu je majhen. Posledica tega je njihovo počasno izločanje iz organizma in zaradi lipofilnosti znatno kopičenje v tkivih in organih. Ker ima mleko veliko lipidov, je laktacija prevladujoča pot izločanja PCB-jev iz organizma. Zato ne preseneča, da so povprečne koncentracije teh onesnaževalcev v tkivih in organih pri ženskah nižje kot pri moških. Vnos organoklornih onesnaževalcev prek materinega mleka v dojenega otroka je v industrializiranih deželah 10- do 100-krat višji od dopustnega dnevnega vnosa. Po priporočilih Svetovne zdravstvene organizacije ta znaša od 1 do 4 pikogramov toksičnih ekvivalentov na kilogram telesne teže (WHO, 1998). Koncentracije PCB-jev v materinem mleku v Sloveniji so podobne kot v ostalih evropskih deželah (Jan in sod., 1974). Dolgoročne posledice takšnega onesnaženja so še neznane (Przyrembel in sod., 2000).

Posamezne komponente PCB-jev ali kongenere se razlikujejo med seboj v številu in legi klorovih atomov, imajo pa tudi različno biološko aktivnost in različne fizikalno-kemijske lastnosti, kot so lipofilnost, sorpcija in hitrost metabolične razgradnje, ki vplivajo na njihovo porazdelitev in kopičenje v tkivih ter izločanje iz organizma (Tabela 1). Kopičenje toksičnih PCB-kongenere v organizmu povzroča okvare jeter, imunskega, živčnega, kožnega in reprodukcijskega sistema ter ima teratogene in kancerogene učinke (Pohl in Holler, 1995).

Le malo je študij o škodljivih vplivih organoklornih onesnaževalcev na zobni organ. Študije na poskusnih živalih so pokazale, da PCB-ji povzročajo spremembe na odontoblastih in ameloblastih (Hashiguchi in sod., 1985; McNulty, 1985). V epidemioloških študijah otrok, ki so bili intrauterino izpostavljeni tehničnim PCB-jem in polikloriranim dibenzofuranom, so ugotovili večjo pogostnost zakasnelega izraščanja stalnih zob, večjo pogostnost natalnih zob, hipodontije stalnih zob, nenormalne izoblikovanosti korenin in zlomljenih ter karioznih zob (Hara, 1985; Rogan in sod., 1988). V naši prejšnji raziskavi smo ugotovili, da PCB-ji lahko povzročijo razvojne okvare sklenine stalnih zob (Jan in Vrbič, 2000). Raziskava je potekala na onesnaženem področju Bele krajine.

V zadnjem času ugotavljajo, da lipofilni organoklorni onesnaževalci v materinem mleku morda povzročajo razvojne okvare sklenine prvih stalnih kočnikov, katerih grizna ploskev se mineralizira v prvem letu življenja (Alaluusua in sod., 1996). Pogostnost teh okvar na Finskem, Švedskem in Nizozemskem dosega že 13-19 % (Jälevik in Norén, 2000; Weerheijm in sod., 2001) (Slika 1A). Opažamo jih tudi v slovenskem prostoru (Sliki 1B, C). Ker se trda zobna tkiva ne obnavljajo, so tako nastale okvare nespremenljive in so trajen zapis motenj. Okvare so različno poimenovali: hipomineralizacija prvih stalnih kočnikov, nefluoridna hipomineralizacija prvih stalnih kočnikov, "cheese molars", idiopatska hipomineralizacija sklenine. Prizadet ni samo estetski videz, večja je tudi potreba po zdravljenju (Leppäniemi in sod., 2001); takšni zobje imajo pogosto nenavadno obsežne plombe. Danes, ko smo

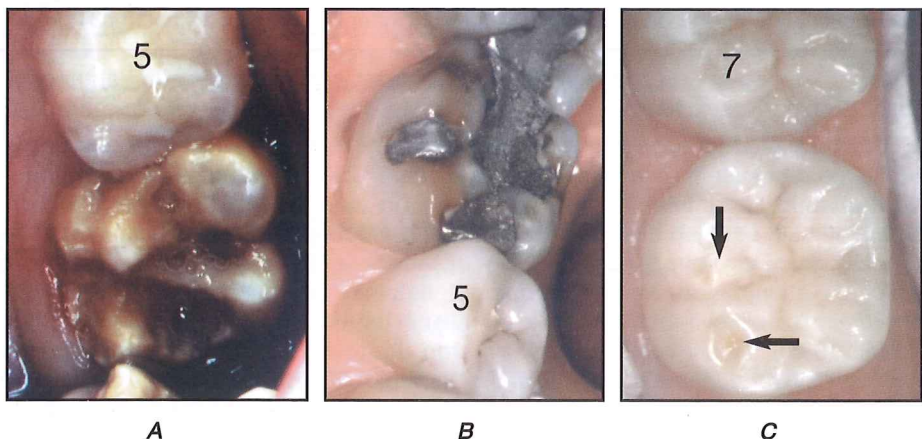
z uspešnimi preventivnimi ukrepi zmanjšali pogostnost kariesa, so prišle te okvare v ospredje in že predstavljajo socialnomedicinski problem.

**Tabela 1:** Nekatere fizikalno-kemijske in biološke lastnosti opazovanih PCB-kongener

	PCB-54	PCB-80	PCB-155	PCB-169
Kemijska zgradba	2,2',6,6'-tetra-CB (neplanaren)	3,3',5,5'-tetra-CB (planaren)	2,2',4,4',6,6'-heksa-CB (neplanaren)	3,3',4,4',5,5'-heksa-CB (planaren)
Molekulska masa	292	292	361	361
$K_{ow}^a$ (log)	5,21	6,48	6,41	7,42
Hitrost metabolizma (log)	0,95 (najmanj obstojen)	-0,69	-1,2	-1,9 (najbolj obstojen)
TEF <sup>b</sup>	0	0,0005	0	0,01

<sup>a</sup>  $K_{ow}$  podaja porazdelitev spojine med oktanolom in vodo. V praksi je merilo lipofilnosti (višja vrednost - bolj je spojina lipofilna)

<sup>b</sup> toksični ekvivalentni faktor, relativno na 2,3,7,8-tetraklorodibenzodioksin, ki ima vrednost



**Slika 1:** **A** - Pacientka A. I., stara 7 let. Zob 16 ima rumenorjavo sklenino, tak zob je dovzetenjši za nastanek kariesa in njegovo hitro napredovanje. Pacientka toži, da je prizadeti zob bolj občutljiv na toplotne in mehanske dražljaje, mlečna petica (5) je normalna (slika je plod sodelovanja avtorjev prispevka s citiranimi avtorji). **B** - Pacientka N. S., stara 67 let. Zob 46 ima obsežno amalgamsko plombo, na bukalnih vrških so omejeni predeli rumenorjave sklenine. Kontralateralni zob je bil verjetno podobno okvarjen, ker so ga zaščitili s prevleko. Stalna petica (5) je normalna. **C** - Pacient M. N., star 34 let. Zob 46 ima okvare sklenine, vidne kot motne, belorumene madeže (↓). Hipomineralizirana sklenina se hitro obrabi ali odkruši, razgali dentin (↔). Okvare so bile simetrične (ni prikazano), kar kaže na sistemski vzrok, sedmica (7) bila normalna.

Mehanizem škodljivega delovanja organoklornih onesnaževalcev v zobnih tkivih je v veliki meri neznan in potrebne so nadaljnje študije, da ugotovimo dejavnike tveganja nastanka razvojnih okvar sklenine na prvih stalnih kočnikih.

Vnos PCB-jev prek materinega mleka je lahko eden od takšnih dejavnikov tveganja, zato nas je zanimalo, v kolikšni meri se v materino mleko izločajo toksični planarni PCB-kongeneri in v katerem obdobju dojenja je tveganje glede na količino izločenih PCB-jev največje. V ta namen smo želeli proučiti izločanje posameznih kongener PCB-jev v mleko v različnih obdobjih dojenja in vpliv nekaterih fizikalno-kemijskih lastnosti posameznih PCB-kongener na izločanje v mleko. Za razliko od študij, ki so bile objavljene v tuji literaturi in v katerih so uporabili tehnične zmesi PCB-jev (McLachlan, 1994; Thomas in sod., 1999), smo za model izbrali štiri značilne PCB-kongenerne z različnimi fizikalno-kemijskimi in biološkimi lastnostmi.

### Materiali in metode

Za model smo izbrali štiri PCB-kongenerne: izomeri tetra- in izomeri heksaklorobifenila s planarno strukturo (PCB-80 in PCB-169) in neplanarno strukturo (PCB-54 in PCB-155). Izbrane PCB-kongenerne imajo različno toksičnost, hitrost metabolične razgradnje in sterično strukturo; od teh je kongenera PCB-169 najbolj toksična (Tabela 1).

Za poskusne živali smo izbrali ovce, ker so najbolj primerna molzna žival. Dvema ovcama v času laktacije (telesne teže 50 in 55 kg) smo intramuskularno injicirali odmerek PCB-54, -80, -155 in -169\* v količini 1,3; 0,5; 1,4 in 0,7 mg/kg telesne teže. Uporabljene koncentracije so bile nižje od letalne doze, a vendarle dovolj visoke, da so omogočile zanesljiv analizni postopek in ugotavljanje teh spojin v mleku.

Vzorke mleka (50 ml) ovac smo odvzeli pred vnosom (negativna kontrola) in v 12-ih časovnih intervalih v obdobju dveh mesecev po vnosu. Koncentracijo PCB-kongener v krvi in mleku smo določali z metodo plinske kromatografije z detektorjem na zajetje elektronov. Za označevanje smo uporabili oštevilčenje IUPAC\*\*.

Poskus na živalih je bil opravljen v sodelovanju z Inštitutom za anatomijo, histologijo in embriologijo Veterinarske fakultete v Ljubljani v sklopu projekta MZT "Oralno zdravje", št. J3-8713-0381-99.

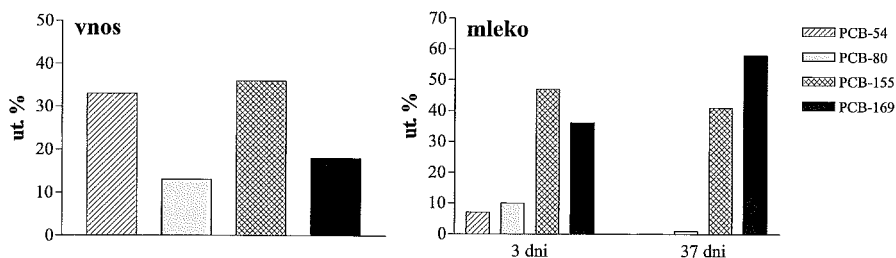
### Rezultati

Slika 2 podaja sestavo PCB-kongener pri vnosu v ovco in v mleku 3. in 37. dan po vnosu (srednja vrednost meritev pri obeh ovcah). Sestava PCB-kongener se je v mleku v opazovanih obdobjih 2 mesecev spreminjala glede na sestavo v injicirani zmesi: v mleku je bilo v sestavi PCB-kongener veliko manj nižje kloriranih PCB-kongener, po daljšem času (37. dan) pa je prevladal PCB-169.

---

\*Promochem, Wesel, Nemčija

\*\*Ballschmiter in Zell, 1980



Slika 2: Sestava PCB-kongener (ut. %) pri vnosu ter v mleku ovac 3. in 37. dan po vnosu.

## Razpravljanje

Prevladuje mnenje, da na prehod lipofilnih PCB-jev v posamezno tkivo in njihovo kopičenje v njem vpliva predvsem vsebnost lipidov v tkivu (Bertelsen in sod., 1998). Vendar iz rezultatov naše raziskave sklepamo, da so poleg lipofilnosti pomembne tudi druge fizikalno-kemijske lastnosti opazovanih spojin in poleg tkivnih lipidov tudi druge tkivne lastnosti. Če bi bili lipofilnost PCB-jev in količina lipidov v materinem mleku odločilna dejavnika, bi morale biti v mleku od PCB-kongener največ PCB-169, ki ima najvišjo vrednost konstante  $K_{ow}$ , vendar se je ta v večji meri začela izločati v mleko šele v kasnejšem obdobju laktacije.

Pri kongenerah PCB-80 in PCB-155, ki imata skoraj enako vrednost konstante  $K_{ow}$ , bi pričakovali podobno izločanje v mleko, a se je prva izločala vedno manj, druga pa vedno bolj. Eden od vzrokov za počasnejše izločanje zelo lipofilne in planarne, toksične kongenere PCB-169 v mleko je verjetno počasna difuzija v mleko; hitrost difuzije pada s številom klorovih atomov v molekuli in planarnostjo bifenila (Garner in Matthews, 1998). Difuzijo ovirajo verjetno tudi pregrade med krvjo in mlekom. Podobno lahko pojasnimo tudi razkorak med pričakovanimi in izmerjenimi vrednostmi kongener PCB-80 in PCB-155.

Razmerje med nizko kloriranim PCB-54 in visoko kloriranim PCB-169 ter med neplanarnim PCB-155 in planarnim PCB-169 je bilo različno v injicirani zmesi in v mleku. Verjetno je to (poleg razlik v difuziji) tudi posledica različne hitrosti metabolizma posameznih PCB-ejev na poti od mesta injiciranja do mleka. Nizka vrednost konstante hitrosti metabolizma pri PCB-169 kaže, da je ta odporen proti metabolični razgradnji; vzrok so s klorovimi atomi zamenjana mesta na položajih meta in para v molekuli bifenila (Kannan in sod., 1995). Neplanarni PCB-54, ki ima s klorom substituirana samo mesta na položajih orto v molekuli bifenila, pa se hitro metabolično razgradi in ga je verjetno tudi zato v mleku malo.

Ker je v mleku sestava posameznih PCB-kongener drugačna kot v injicirani zmesi, je tudi potencialno toksično delovanje drugačno. Rezultati kažejo, da se z mlekom izločajo predvsem višje klorirane, planarne in metabolično bolj obstojne PCB-kongenere, ki so bolj toksične in zato predstavljajo tudi večje zdravstveno tveganje za dojenega otroka. V mleku se tekom daljšega obdobja najbolj poviša vsebnost PCB-169, ki je od opazovanih spojin najbolj toksična (ima najvišjo vrednost toksičnega ekvivalentnega faktorja - Tabela 1).

Ocenjujejo, da po 6-ih mesecih dojenja mati prek mleka izgubi okoli 20 % PCB-jev (Walker, 2001). Če upoštevamo, da dojeni otrok 90 % zaužitih PCB-jev absorbira v črevesju (Moser in McLachlan, 2001), prehod teh onesnaževalcev v otroka z mlekom zelo poveča obremenitev njegovega organizma in lahko škodljivo vpliva na njegovo rast in razvoj. Naša raziskava je pokazala, da se v dobi dojenja vnesejo z mlekom v znatni meri metabolično obstojne, toksične PCB-kongenere prav v času največjega tveganja za nastanek razvojnih okvar sklenine na grizni tretjini prvih stalnih kočnikov.

Materino mleko je v prvih mesecih življenja najprimernejša hrana in dojenje ima številne pozitivne učinke na zdravje matere in otroka, ki prevladujejo nad možnimi negativnimi učinki onesnaževalcev. Prispevek naj bo opozorilo na potrebne ukrepe za zmanjšanje onesnaženosti okolja.

## Literatura

- Ahlborg UG, Brouwer A, Fingerhut MA, Jacobson JL, Jacobson SW, Kennedy SW et al. Impact of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls on human and environmental health, with special emphasis on application of the toxic equivalency factor concept. *Eur J Pharmacol* 1992; 228: 179-99.
- Alaluusua S, Lukinmaa PL, Koskimies M, Pirinen S, Hölttä P, Kallio M, Holttinen T, Salmenperä L. Developmental dental defects associated with long breast feeding. *Eur J Oral Sci* 1996; 104: 493-7.
- Ballschmitter K, Zell M. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by glass capillary gas chromatography. *Fresenius Z Anal Chem* 1980; 302: 20-31.
- Bertelsen SL, Hoffman AD, Gallinat CA, Elonen CM, Nichols JW. Evaluation of log Kow and tissue lipid content as predictors of chemical partitioning to fish tissues. *Environ Toxicol Chem* 1998; 17: 1447-55.
- Garner CE, Matthews HB. The effect of chlorine substitution on the dermal absorption of polychlorinated biphenyls. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998; 149: 150-8.
- Hara I. Health status and PCBs in blood of workers exposed to PCBs and of their children. *Environ Health Perspect* 1985; 59: 85-90.
- Hashiguchi I, Akamine A, Hara Y, Maeda K, Anan H, Abe T. Effects on the hard tissue of teeth in PCB poisoned rats. *Fukuoka Igaku Zasshi* 1985; 76: 221-8.
- Jälevik B, Norén JG. Enamel hypomineralization of permanent first molars: a morphological study and survey of possible aetiological factors. *Int J Paediatr Dent* 2000; 10: 278-89.
- Jan J, Komar M, Sancin A. Rezidua polikloriranih bifeniлов v materinem mleku v Sloveniji. *Zdrav Vestn* 1974; 43: 145-7.
- Jan J, Vrbič V. Polychlorinated biphenyls cause developmental enamel defects in children. *Caries Res* 2000; 34: 469-73.
- Kannan N, Reusch TBH, Schulz-Bull DE, Petrick G, Duinker JC. Chlorobiphenyls: model compounds for metabolism in food chain organisms and their potential use as ecotoxicological stress indicators by application of the metabolic slope concept. *Environ Sci Technol* 1995; 29: 1851-9.
- Leppäniemi A, Lukinmaa PL, Alaluusua S. Nonfluoride hypomineralizations in the permanent first molars and their impact on the treatment need. *Caries Res* 2001; 35: 36-40.
- McLachlan MS. Model of the fate of hydrophobic contaminants in cows. *Environ Sci Technol* 1994; 28: 2407-14.
- McNulty WP. Toxicity and fetotoxicity of TCDD, TCDF and PCB isomers in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Environ Health Perspect* 1985; 60: 77-88.
- Moser GA, McLachlan MS. A non-absorbable dietary fat substitute enhances elimination of persistent lipophilic contaminants in humans. *Chemosphere* 1999; 39: 1513-21.
- Pohl H, Holler J. Halogenated aromatic hydrocarbons and toxicity equivalency factors (TEFs) from the public health assessment perspective. *Chemosphere* 1995; 31: 2547-59.
- Przyrembel H, Heinrich-Hirsch B, Vieth B. Exposition to and health effects of residues in human milk. *Adv Exp Med Biol* 2000; 478: 307-25.
- Rogan WJ, Gladen BC, Hung KL, Koong SL, Shih LY, Taylor JS, Wu YC, Yang D, Ragan NB, Hsu CC. Congenital poisoning by polychlorinated biphenyls and their contaminants in Taiwan. *Science* 1988; 241: 334-6.
- Thomas GO, Sweetman AJ, Jones KC. Input-output balance of polychlorinated biphenyls in a long-term study of lactating dairy cows. *Environ Sci Technol* 1999; 33: 104-22.

Walker CH. Organic pollutants: an ecotoxicological perspective. London: Taylor&Francis; 2001.

Weerheijm KL, Jälevik B, Alaluusua S. Molar-incisor hypomineralisation. Caries Res 2001; 35: 390-1.

World Health Organization. Polychlorinated biphenyls and terphenyls (2<sup>nd</sup> ed). In: Environ Health Crit 140. Geneva: WHO; 1998.

Doc. dr. Janja Jan, dr. stom., Katedra za zobne bolezni in normalno morfologijo zobnega organa, Medicinska fakulteta, Ljubljana

Asist. dr. Matjaž Uršič, dr. vet. med., prof. dr. Azra Pogačnik, dr. vet. med., doc. dr. Milka Vrecl, dr. vet. med., Inštitut za anatomijo, histologijo in embriologijo, Veterinarska fakulteta, Ljubljana

## Povzetek iz tuje revije

*Maltz M, de Oliviera EF, Fontanella V, Bianchi R. A clinical, microbiologic, and radiographic study of deep caries lesions after incomplete caries removal. Quintessence Int 2002, 33: 151-8.*

Pri odstranjevanju globokega kariesa zobozdravnik lahko nehote eksponira zobno pulpo. Direktno kritje takšnega primera je pri odraslih bolnikih pogosto neuspešno, zato nekateri v prvi seji pri globokem kariesu odstranijo le toliko karioznega dentina na pulpni steni, da ne eksponirajo pulpe, na ostali kariozni dentin pa položijo preparat kalcijevega hidroksida in kaviteto zaprejo za nekaj mesecev. V tem času bakterijam zmanjka hrane, njihovo število se zmanjša in kariozni proces se ustavi. Poleg tega pulpa sklerozira dentinske kanale in izdelava reparativni dentin. Tako je odstranjevanje preostalega karioznega dentina nekaj mesecev po prvi seji varnejše, kar se tiče odkritja pulpe. Avtorji so v svoji klinični študiji takšen potek potrdili v večini primerov. Postopno odstranjevanje globokega kariesa pa ima tudi slabe strani:

- potrebni sta dve seji;
- nevarnost pulpitisa in nekroze pulpe, če se kariozni proces ne ustavi dovolj hitro ali če se pulpa ne brani dovolj;
- preostali kariozni dentin se skrči, ko se osuši in otrdi, zato nastane prazen prostor med materialom začasne zapore - plombe - in dnom kavitete;
- če popusti začasna zapora ali plomba, se kariozni proces obnovi, kar je posebno slabo, če pacient ne pride na drugo sejo.

**Pojasnilo poročevalca:** po naši doktrini kariozni dentin v celoti odstranimo v prvi seji. Če pri tem eksponiramo pulpo, naredimo direktno kritje s preparatom kalcijevega hidroksida, vendar mora biti eksponirano mesto v zdravem in ne v karioznem dentinu, ne sme biti večje od 1 mm, zob pa nima pulpitičnih znakov. Če samo eden od teh pogojev ni izpolnjen, naredimo vitalno ekstirpacijo.

*Poročevalec: D. Gašperšič*