

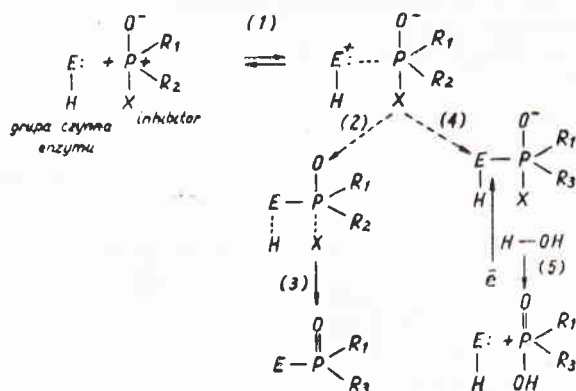
STEFAN KOSSAKOWSKI

Mechanizm działania pestycydów fosforoorganicznych na organizm zwierzęcy.

II. Reaktywacja cholinesteraz w zatruciach pestycydami fosforoorganicznymi

Ośrodek Naukowo-Badawczy Służby Weterynaryjnej w Puławach

Badania prowadzone nad zatruciami zwierząt pestycydami fosforoorganicznymi (FO) nasunęły przypuszczenie, że w organizmie zatrutym zachodzą procesy detoksykacyjne, że w krwi występuje bliżej nieokreślony enzym ograniczający działanie toksycznych związków FO. Odpowiednie prace prowadzone w tym kierunku potwierdziły powyższą hipotezę. Augustinsson i Heimbürger (11) wykryli w surowicy krwi enzym, który nazwali „tabunazą”, gdyż okazał się szczególnie czynny w stosunku do tabunu. Nieco później Adie (2) wyodrębnił substancję podobną w działaniu, którą nazwał sarinazą. Enzymy tego rodzaju określono następnie wspólną nazwą fosforylofosfataz (13). Przypuszcza się, że mechanizm ich działania przedstawia się następująco (ryc. 1). Enzym łączy



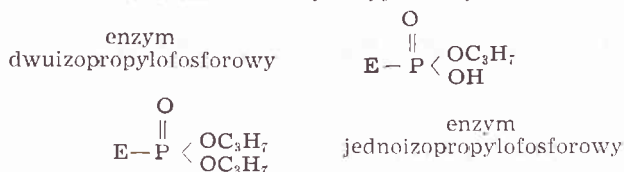
Ryc. 1. Zapobieganie przez FF reakcji ChE — związek FO

się w sposób odwracalny ze związkiem FO poprzez wiązanie estrowe aktywnej grupy fosforowej. Wtedy grupa kwaśna X inhibitora reaguje z atomem wodoru cząsteczki enzymu wytwarzając odpowiedni kwas. Reakcja defosforylacji zablokowanego enzymu jak już poprzednio podkreślano, jest dla większości związków FO bardzo wolna w porównaniu z reakcją defosforylacji (fazy 1, 2, 3) i dlatego enzym pozostaje przez długi czas nieczynny. W oparciu o uzyskane wyniki przypuszcza się, że fosforylofosfataza (E) zapobiega fazie 2 i 3 reakcji fosforylacji.

Fosforylofosfatazy nie mają nic wspólnego z fosfatazą kwaśną ani alkaliczną, nie posiadają też budowy podobnej do esterazy cholinowej. W największych ilościach występuje fosforylofosfataza w surowicy krwi. W narządach zawartość enzymu jest 5–6 razy mniejsza aniżeli w surowicy. Jeśli idzie o narządy to w największych ilościach występuje w śledzionie i nadnerczach, a najmniej zaś w rdzeniu kręgowym, krwinkach czerwonych, mózgu, mięśniach i sercu. Poziom fosforylofosfatazy jest różny u człowieka i poszczególnych gatunków zwierząt. Surowica krwi królika posiada np. około 10-krotnie większą aktywność aniżeli surowica człowieka, najniższą aktywność wykazuje surowica świnek morskich. Obecność fosforylofosfatazy w surowicy krwi wyjaśnia zjawisko hamowania, przez większość związków FO przede wszystkim czynności AChE znajdującej się głównie w erytrocytach. Dowodem tego jest fakt, że nie stwierdzono różnicy w działaniu związku FO na AChE i PChE jeżeli podłoże, w którym znajdowały się te enzymy nie zawierało fosforylofosfatazy. Stwierdzono także, że fosforylofosfataza obniża nieco (około 10%) aktywność PChE, wzmacnia natomiast aktywność AChE. Na czynności fosforylofosfatazy wpływają w znacznej mierze zawarte w środowisku jony metali — najsilniej Cu i Pd, nieco słabiej Au, a bardzo słabo Ni, Co, Zn. Przypuszcza się, że jony metali sprzyjają tworzeniu się kompleksu enzym — substrat przez miejscowe zwiększenie stężenia jonów OH przyspieszających hydrolizę (12).

Odnośnie detoksykacyjnych właściwości organizmu nie można pomijać bezpośredniego chemicznego współdziałania związku FO z białkami. Fakt ten wykazano stwierdzając u zatrutych zwierząt zanikanie drobin trucizny, utratę jej właściwości toksycznych i uwalnianie grup kwasowych. Zjawisko to ma miejsce niezależnie od tego jaka grupa czynna drobiny FO bierze udział w bezpośredniej reakcji z białkiem. Zdolność związku FO do szybkiego łączenia się z białkami wpływa na rozmieszczenie się związku w organizmie. Związki FO gromadzą się przede wszystkim w tkankach tej okolicy organizmu gdzie nastąpiło ich wnikięcie. Wykazał to White (55), który stwierdził, że po wstrzyknięciu 0,16 mg DFP do prawego jądra ogoniastego mózgu (*nucleus caudatum cerebri*), związek FO nie przechodził poza obręb tej części mózgu. Z kolei Aprison i wsp. (7) wstrzykiwali DFP królikom do prawej tętnicy słonecznej i wykazywali, że aktywność cholinesterazy była bardziej nieczynna w prawej części mózgu aniżeli w lewej.

lanu DFP na cholinesterazę wiąże się w pierwszej fazie grupa dwuizopropylfosforowa, z której następnie odszczepia się jedna grupa izopropylowa i tworzy się enzym jednoizopropylfosforowy. W tej też fazie zanika zdolność reaktywacyjna enzymu.



Z danych tych wynika więc, że zdolność reaktywacyjna enzymu zależy nie od szybkości hipotetycznego przeniesienia reszty fosforylowej z jednego odcinka powierzchni enzymu na drugi, a od budowy reszty fosforylowej związanej z białkiem enzymu.

Istnieją również dane wskazujące, że współdziałanie reaktywatora z fosforyzowanym enzymem nie jest jedyne. Reaktywatory cholinesteraz mogą współdziałać również bezpośrednio ze związkami FO i w wyniku tworzą się nietoksyczne produkty hydrolizy. Możliwe też jest bezpośrednie współdziałanie reaktywatora z cholinesterazami powodujące krótkotrwałe unieczynnienie enzymu co może stanowić zabezpieczenie cholinesteraz przed inhibicyjnym działaniem związku FO. Możliwe jest również współdziałanie reaktywatora z ACh, w wyniku którego następuje bardziej lub mniej wyraźna hydroliza substratu (Holmstedt- za 29). Ostatnio zaś wysunięto hipotezę, że oksymy cechują się również zdolnością hamowania syntezy ACh (27).

Poszczególne reaktywatory cholinesteraz charakteryzują się na ogół dobrymi efektami leczniczymi przy ostrych zatruciach związkami FO (z wyjątkiem somanu), przy czym różne reaktywatory odznaczają się różną skutecznością przy różnych związkach FO. Ogólnym zaś ich mankamentem jest to, że zbyt szybko są wydalane z organizmu (37).

Piśmiennictwo

- Abashkina L. I., Rosengart W. I.: Zdravookhr. Turm. 1, 15, 1968.
- Adie P. A.: Canad. Jour. Bioch. 34, 654, 1956.
- Adrian E. D., Feldberg W., Kirby B. A.: Brit. Jour. Pharmacol. 2, 56, 1947.
- Aldridge W.: Bioch. Jour. 53, 62, 1953.
- Aldridge W., Davison A.: Bioch. Jour. 55, 763, 1953.
- Aniczko S. W.: Farmak. Toks. 23, 194, 1960.
- Aprison M. H., Nathan P., Himwich H. E.: Science 119, 158, 1954.
- Arbuzow A., Arbuzow B.: Jour. Proc. Chem. 238, 103, 1931.
- Augustinsson K. B.: Acta Chem. Scand. 13, 571, 1959.
- Augustinsson K. B.: Acta Chem. Scand. 13, 1105, 1959.
- Augustinsson K. B., Heimbürger G.: Acta Chem. Scand. 8, 753, 1954 oraz 8, 915, 1954.
- Augustinsson K. B., Heimbürger G.: Acta Chem. Scand. 9, 983, 1955.
- Augustinsson K. B., Heimbürger G.: Acta Chem. Scand. 9, 310, 1955.
- Bajgar J.: Toxicol. Pharmacol. 22, 93, 1972.
- Birch R., Mc Intosh F. C.: Brit. Med. Bull. 13, 157, 1957.
- Binenfeld Z., Boskovic B., Rakin D.: Acta Pharm. Jugoslav. 21, 113, 1971.
- Cohen J. A., Osterbahn R. A.: Jour. Cell. Comp. Physiol. 54, 231, 1959.
- Davies D., Holland P., Rumens J.: Brit. Jour. Pharmac. 15, 271, 1960.
- Davies D. R., Green A. L.: Biochem. Jour. 63, 529, 1956.
- Davison A.: Bioch. Jour. 54, 19, 1953.
- Diggle W. M., Gage J. C.: Nature 168, 998, 1951.
- Durham W. F., Hayes W. J.: Arch. Envir. Health 5, 81, 1962.
- Du Bois K. P., Doull J., Coon J. M.: Jour. Pharmacol. Exp. Ther. 99, 376, 1950.
- Eccles J. C.: Fiziologia synaps nerwowych. PZWL, 1968.
- Erdmann W. D.: Arch. Pharmacol. Exp. Pathol. 263, 61, 1969.
- Freedman A. M., Himwich H. E.: Am. Jour. Physiol. 153, 121, 1948.
- Fèvre H. P., Ole K.: Acta Pharmacol. Toxicol. 32, 83, 1973.
- Ginsburg S., Wilson I. B.: Jour. Am. Chem. Soc. 79, 481, 1957.
- Golikow S. N., Rosengart W. I.: Rukowodstvo po toksikologii otrawljajuszczich wieszczestw. Kiew. 1964.
- Hais K.: Vedec. Prace V. U. V. L. 2, 241, 1962.
- Heymans C., Jacobs J.: Arch. Int. Pharmacodyn. 74, 233, 1947.
- Hobbiger F.: Brit. Jour. Pharmac. 11, 295, 1956.
- Hobbiger F.: Chem. Ind. Dec. 52, 1574, 1954.
- Jakowlew W. A., Agabekian R. S.: Molek. Biol. 2, 201, 1968.
- Jandorf B. J.: Feder. Proc. 14, 231, 1955.
- Kibiakow A. W.: Chemiczeskaja peredacza nerwnogo wozbuźdenia. Moskwa Nauka 1964.
- Kisielewski T.: Lek. Wojsk. 46, 397, 1970.
- Kitz R. J., Kremzner L. T.: Molek. Pharmacol. 4, 104, 1968.
- Koelle G. B.: Hand. Exp. Pharmacol. 15, 187, 1963.
- Mac Ilzejn C. W.: Biochimia i centralnaja nerwnaja sistema. Moskwa Nauka 1964.
- Mc Combie C., Saunders H.: Nature 157, 476, 1946.
- Melichar B., Hais K.: Vedec. Prace V. V. CSAZV. 2, 251, 1962 oraz 3, 91, 1964.
- Nachmansohn D.: Chemical and Molecular Basis of Nerve Activity. New York 1959.
- Nachmansohn D., Wilson I.: Meth. in Ensym. 1, 642, 1955.
- O'Brien R. D.: Toxic Phosphorus Esters. London, Acad. Press 1960.
- Oldiges H., Schoene K.: Arch. Toxicol. 26, 293, 1970.
- Paleolog A.: Dys. dokt. WSR Lublin 1969.
- Saunders B. Ch.: Some Aspects of the Chemistry and Toxic Action of Organic Compounds Containing Phosphorus and Fluorine. Cambridge 1957.
- Severin S. E.: Usp. Sowr. Biol. 64, 181, 1967.
- Sokolowski W. Ł.: Histochemicznejskie issledowania w toksikologii. Moskwa Medicina 1971.
- Stedman E., Stedman E. A., Esson L. H.: Bioch. Jour. 26, 2056, 1933.
- Stevanovic M.: Arch. Farm. 4, 229, 1970.
- Supniewski J.: Post. Hig. 7, 80, 1953.
- Szczepklik E.: Enzymologia kliniczna. PZWL 1967.
- White R. P.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 93, 113, 1956.
- Wilson I. B.: The Mechanism of Ensym Action. Baltimore J. Hopcins Press, 1954.
- Wilson I. B., Meislich E.: Jour. Am. Chem. Soc. 75, 4628, 1953.
- Wilson I. B., Ginsburg S.: Biochim. Biophys. Acta 18, 168, 1955.
- Wirth W.: Dsch. Med. Woch. 79, 1205, 1954.
- Michelson M. Ja., Zejmal E. W.: Acetylcholin. Leningrad Nauka 1970.

Adres autora: dr hab. Stefan Kossakowski, ul. Wojska Polskiego 5 m. 4, 24-100 Puławy.

BROWN A. L., MERRY D. L., BECKENHAUER W. H.: Szczepionka przeciwko wścieklicznie oparta o żywy zmodyfikowany wirus, HEP, szczep Flury namnożony na ustalonej linii komórkowej nerki psa. Badanie trzy lata trwającej odporności u psów. (Modified live-virus rabies vaccine produced from Flury, high-passage virus grown on an established canine-kidney cell-line: three year duration of immunity study in dogs). Am. J. vet. Res. 34, 1427--1432, 1973 (11).

Psy w sześciu grupach szczepiono domięśniowo lub podskórnie pełną, względnie 1/10 dawki, czasami 1/100 dawki żywej szczepionki przeciw wścieklicznowej. Szczepionka zawierała atenuowany szczep Flury, HEP, namnożony na ustalonej linii komórkowej nerki psa. Próbkę do badań w odczynie seroneutralizacji pobierano przed szczepieniem oraz po 1, 2, 3, 4 i 8 tygodniach oraz 6, 12, 24 i 36 miesiącach po szczepieniu. Po 41 miesiącach po szczepieniu szczepione zwierzęta zakażono domięśniowo, zaś po 38 miesiącach podskórnie żywym pełnojadliwym szczepem ulicznym wirusa wściekliczny. Dawka wirusa wynosiła 10^{-5,68} MCLD50/0,03 ml. Wszystkie psy szczepione domięśniowo, za wyjątkiem psa zaszczepionego 1/100 dawki szczepionki, były w pełni odporne na zakażenie wirusem ulicznym. Spośród 20 psów zaszczepionych podskórnie 17 było odpornych na zakażenie. Wyniki odczynu seroneutralizacji wykazały, że najlepszą odporność uzyskuje się po szczepieniach domięśniowych. Wzrost wysokości miana po zakażeniu u sztuk szczepionych przemawia za reakcją anamnesticzną na antygen wirusa ulicznego.

R.