

TADEUSZ LIS, JERZY MIERZEJEWSKI

Wpływ pestycydów chloroorganicznych na procesy immunologiczne

Z Ośrodka Naukowo-Badawczego Służby Weterynaryjnej

Trwałość i zdolności kumulacyjne oraz powszechne stosowanie związków polichlorowych sprawiają, że wraz z pożywieniem dostają się one do organizmów zwierzęcych i ludzi, lokalizując się w różnych tkankach. Obliczono, że organizm dorosłego człowieka wchłania rocznie około 50 mg DDT i że 90% tej dawki przypada na żywność. Według danych amerykańskich poziom pochodnych DDT*) wykrytych w tłuszczu okolonerkowym waha się w granicach od 3 do 12,6 mg/kg (4, 22). Podobnie wyniki badań przeprowadzonych w Polsce wykazały, że średnie stężenie DDT w tkance tłuszczowej ludzi wynosi od 8,14 do 12,65 mg/kg (11).

Tab. 1. Nazwy chemiczne wymienionych w tekście preparatów chloroorganicznych

Nazwa zwyczajowa	Nazwa chemiczna
Akar	?
Aldrin	1,2,3,4,10,10-sześciochloro-1,4,4a,5,8,8a, sześciohydro-1,4 endo-exo-5, 8-dwumetanonaftalen
Chlordan	1,2,4,5,6,7,8,8-ośmiochloro-2,3,3a,4,7,7a-sześciohydro-4-7-metanoinden
DDD	1,1-dwuchloro-2,2-bis/p-chlorofenylo/etan
DDT	1,1,1-trójchloro-2,2-bis/p-chlorofenylo/etan
Gamma-HCH	patrz Lindan
Heksachloran	1,2,3,4,5,6-sześciochlorocykloheksan
Heptachlor	1,4,5,6,7,8,8-siedmiochloro-3a,4,7,7a-czterohydro-4,7-endo-metanoinden
Lindan	gamma izomer 1,2,3,4,5,6-sześciochlorocykloheksanu
Milbeks	mieszanina 4-chlorofenylo-2,4,5-trójchlorofenylo-azosiarczku i 1,1-bis/4-chlorofenylo/etanolu

Do niedawna w patologii zatruc pestycydami brak było danych o pośrednich skutkach ich oddziaływania na organizmy, w tym i na procesy immunologiczne. Pewnym sygnałem tych zjawisk były często notowane alergie powstające w następstwie kontaktowania się z preparatami chloroorganicznymi lub spożywania produktów skażonych. Groźniejsze też wydawały się być następstwa tych alergii. Opisano m.in. kilka przypadków ostrych objawów skórnych u ludzi, którzy przypadkowo spożyli produkty pochodzące ze zboża zaprawionego lindanem

(7). U ludzi i zwierząt mających predyspozycje na uczulenie wykazano doświadczalnie możliwość immunologicznego oddziaływania związków polichlorowych. Miana hemaglutynin u ludzi podejrzanych o wrażliwość na DDT wynosiły od 16 do 128, podczas gdy u zdrowych osób od 8 do 16. W surowicy królików obserwowano pojawienie się precypityn swoistych dla azoproteinowej konjugaty DDA (5).

Niezależnie od doświadczalnych obserwacji przeciwiał pestycydowych podjęto badania na ludziach mających stałą styczność z DDT. Na podstawie tych badań zaproponowano wykorzystywanie odczynów serologicznych jako dodatkowych testów w diagnostyce zatruc pestycydami (16).

Badania nad odpowiedzią immunologiczną organizmów skażonych związkami chloroorganicznymi w dawkach wielokrotnie przekraczających dopuszczalne dzienne spożycie zapoczątkowane zostały przez prace nad stymulacją odporności swoistej pod wpływem gamma-HCH (3). U królików immunizowanych trzykrotnie szczepionką tyfusu brzuszego, a następnie zatrutych gamma-HCH stwierdzano aglutyniny swoiste o mianie wyższym, niż u zwierząt kontrolnych (tab. 2).

W przeciwieństwie do wyników uzyskanych przy stosowaniu gamma-HCH, dootrzewnowe podanie DDT w dawce 10 i 20 mg/kg c.c. świniom morskim, immunizowanym następnie anatoksyną dyfterytyczną, nie wpływało na narastanie odporności, zmniejszało natomiast nasilenie szoku anafilaktycznego. Również nie uległy zmianie zarówno wczesna odpowiedź immunologiczna mierzona ochronnymi właściwościami surowicy w stosunku do toksyny, jak i zachowanie się frakcji gamma-globulinowych (8). Podobnie nie stwierdzono różnic w aktywności fagocytarnej leukocytów u szczurów traktowanych dożołądkowo DDT w dawce po 0,25 mg/kg c.c. codziennie przez 31 dni, w porównaniu do kontroli (12).

Immunodepresyjnego działania DDT w intoksykacji chronicznej nie wykazano też u drobiu (13). Codzienne podawanie kurom DDT w dawce 10, a nawet 100 mg/kg w okresie 11 miesięcy i kaczkom w ciągu 14 dni nie wpływało na poziom hemaglutynin, IgG i IgM. U królików otrzymujących DDT w dawce 1 mg/kg c.c. codziennie w okresie 6 miesięcy obserwowano nawet wzrost liczby leukocytów o 32% w porównaniu do kontroli, a dopiero po 6 miesiącach spadek do 22% wartości wyjściowych. Indeks

*) Nazwy chemiczne wymienionych w tekście preparatów podano w tab. 1.

Tab. 2. Miana aglutynin surowicy krwi królików będących w stanie chronicznej intoksykacji pod wpływem codziennego podawania w ciągu 3 miesięcy γ -HCH w dawce 10 mg/kg i u królików zdrowych (cyt. za 4)

Grupa zwierząt	Miana aglutynin						
	wyjściowe	7 dzień po I immuniz.	7 dzień po II immuniz.	7 dzień po III immuniz.	2 mies. po III immuniz.	7 dzień po rewalcynacji	14 dzień po rewalcynacji
Immunizowane i skażone	1:20	1:240	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:1800
Kontrolne	1:40	1:320	1:730	1:760	1:360	1:1600	1:1900

fagocytarny pod wpływem DDT wzrastał do 2-miesiąca, a począwszy od 3-go miesiąca spadał do 62% wartości kontrolnej (17).

W badaniu odporności nabytej u królików otrzymujących DDT i immunizowanych szczepionką paratyfusową miana aglutynin oraz ochronne właściwości surowicy były niższe w porównaniu do kontrolnych (tab. 4). U zwierząt skażonych obserwowano również limfocytozę (75%) i neutropenię (23%). Podobnie u królików, którym podawano DDT w wodzie pitnej w dawce 200 ppm przez 30 dni obserwowano statystycznie istotne obniżenie przeciwciał dla *S. typhi* oraz poziomu gamma-globulin, głównie kosztem IgG (tab. 3) (20).

Były też prowadzone pojedyncze prace nad zachowaniem się odporności nabytej u zwierząt skażonych innymi preparatami chloroorganicznymi, takimi jak milbeks, chlordan, akar, aldrin i heksachloran.

U kóz immunizowanych szczepionką tyfusu brzuszego i jednorazowo skażonych milbeksem drogą dożołądkową stwierdzono pewną inhibicję w wytwarzaniu przeciwciał. Miano ich było 3—8-krotnie niższe u kóz badanych, aniżeli u kontrolnych. Podobnie fagocytoza oraz bakteriobójczość skóry i krwi u kóz badanych były znacznie słabsze, aniżeli u kontrolnych (1).

Zbliżone wyniki uzyskano w chronicznej,

Tab. 3. Miana przeciwciał i ogólna zawartość γ -globulin oraz frakcji 7S i 19S u czterech grup królików: zakażonych *Salmonella typhi* (1), skażonych DDT i zakażonych (2), immunizowanych krwinkami owczymi (3) oraz skażonych i immunizowanych (4) (cyt. za 20)

Grupy doświadczalne	Miana przeciwciał		γ -globuliny surowicy w mg/ml		
	po 7 dniach	po 7 tygodniach	ogólna zawartość	7S	19S
<i>Salmonelle</i>	2633	1705	17,1	15,4	2,47
DDT + <i>Salmonelle</i>	939	421	12,4	9,7	2,51
Krwinki	640	—	19,1	17,7	1,76
DDT + krwinki	256	—	15,9	14,1	1,71

Zbliżony do DDT ale mniej toksyczny DDD wykazywał niejednakowe działanie na odporność przeciwważną. W trakcie przebiegu takich chorób zakaźnych u drobiu, jak wirusowe zapalenie jelit o charakterze krwiotocznym, choroba Mareka czy mykoplazmoza — odporność wzrastała, natomiast w infekcjach kolibakteryjnych zmniejszała się. Przypuszcza się, że DDT posiadając właściwości inhibicyjne oddziaływania na wytwarzanie kortikosteronu powoduje w konsekwencji zmiany w stanie odporności przeciwważnej (6).

W przebiegu histomonadozy obserwowano wcześniejsze występowanie typowych zmian anatomopatologicznych u kurcząt będących w stanie chronicznej intoksykacji DDT. U ptaków skażonych stwierdzano zmiany w jelitach ślepych i w wątrobie, natomiast w grupie kontrolnej w okresie 30 dni obserwacji zmiany chorobowe nie wystąpiły (18). Zjawisko to można tłumaczyć immunodepresyjnym oddziaływaniem DDT, skutkiem czego zwiększała się intensywność inwazji.

trwającej 3 miesiące intoksykacji kóz pod wpływem codziennego podawania milbeksu w dawkach od 1/100 do 1/1000 LD₅₀. U badanych zwierząt w pierwszych 30—45 dniach obserwowano uaktywnienie immunogenezy, a następnie jej inhibicję (2).

U myszy pod wpływem jednorazowego podania *per os* 1 LD₅₀ akaru obserwowano wyraźne zmniejszenie narastania miana hemaglutynin (14). Zjawisko to występowało równolegle ze spadkiem liczby immunokompetentnych komórek śledziony. Analogiczną immunodynamikę stwierdzano u szczurów przy chronicznym podawaniu akaru w dawkach od 1/10 do 1/100 LD₅₀.

W badaniach przeprowadzonych na myszach zatrutych jednorazowo aldrinem w dawce 10 mg/kg c.c. obserwowano zmiany w immunologicznej swoistości białek. Objawiały się one wytwarzaniem autoprzeciwciał, prowadzących do zmian morfologicznych oraz zaburzeń funkcjonalnych wątroby (15).

Przeciwciała pestycydowe wykryto u królików otrzymujących heksachloran w dawce 10 mg/kg *per os* w ciągu 14 dni (16). Miana przeciwciał wahały się w zależności od czasu obserwacji i charakteru zatrucia. Najwyższe (1/80) obserwowano w 10-tym i 14-tym dniu intoksykacji.

Tab. 4. Wskaźniki immunologiczne przy chronicznym skażeniu królików różnymi dawkami DDT (cyt. za 17)

DDT (mg/kg)	Aktywność fagocytarna leukocytów (indeks fagocytarny w % do kontroli)	Miano aglutynin w % do kontroli	Właściwości ochronne surowicy (przeżywalność białych myszy w % do kontroli)	
			3 m-c zatrucia	6 m-c zatrucia
0,1	92	70	85	
0,5	83	60	54	
1,0	62	37	31	

Były też prowadzone prace nad zachowaniem się odporności przeciwważnej skażonych hodowli tkankowych. Komórki HeLa rosnące w obecności chlordanu stawały się bardziej wrażliwe na wirus polio, a komórki już zakażone wirusem szybciej ulegały degeneracji. Chociaż brak jest tutaj pośredniej odpowiedzi immunologicznej, obserwacje te wydają się być wystarczająco przekonujące, że chlordan był odpowiedzialny za zmiany powstające w badanych komórkach, doprowadzające do zwiększenia wrażliwości (9).

Są także doniesienia o działaniu pestycydów na syntezę białek u zwierząt. Wykazano, że heptachlor powodował zmniejszenie poziomu frakcji gamma-globulinowych u szczurów (7). Zmniejszenie poziomu frakcji gamma-globulinowych, przy wzroście ilości albumin obserwowano tak samo u szczurów, które były traktowane DDT (21).

Wykazano również bezpośrednio oddziaływanie heptachloru na *Bursa Fabricii* u drobiu, a więc na narząd odpowiedzialny za produkcję limfocytów B. Być może, iż obserwowane tutaj *hypoplasia Bursa Fabricii* i spadek poziomu kwasów nukleinowych mogły powodować zaburzenia w syntezie immunocytów (19).

Mechanizm naruszenia procesów immunologicznych organizmów pod wpływem działania węglowodorów chlorowanych nie jest jednoznacznie powtarzalny i głównie dlatego dotychczas nie wyjaśniony. Przyjmując model wiązań Van der Waalsa w neuronach, można tłumaczyć, że cząsteczka DDT blokuje pory w otocze włókna nerwowego zmieniając jej przepuszczalność wobec jonów sodu, co może z kolei powodować zaburzenia w przewodnictwie nerwowym (10). Podobnie w błonie mitochondrialnej następuje połączenie tego typu związków z

grupami sulfhydrylowymi białek, co również pociąga zmiany w jej przepuszczalności, a w konsekwencji zahamowanie fosforylacji oksydatywnej (7).

Z przedstawionych danych wynika ogólny wniosek, że preparaty chloroorganiczne nie są immunologicznie obojętne. Z tego względu poszukiwania innych środków ochrony roślin należy uznać za kierunek badań korzystny również m. in. z punktu widzenia immunologii człowieka i zwierząt.

Piśmiennictwo

1. Aribdżanov T. M.: *Gig. Sanit.* 5, 101, 1973.
2. Aribdżanov T. M.: *Gig. Sanit.* 7, 39, 1973.
3. Burkackaja E. N.: *Gig. Sanit.* 8, 29, 1963.
4. Campbell J. E., Richardson L. A., Schafer M. L.: *Archs envir. Hlth* 10, 831, 1965.
5. Centeno E. R., Johnson W. I., Sehon A. H.: *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 37, 1, 1970.
6. Calmano G., Gross W. B.: *Poult. Sci* 3, 850, 1971.
7. Ercegovich C. D.: *Fedn. Proc.* 9, 2010, 1973.
8. Gabliks J., Askari E. M., Yolen N.: *Archs envir. Hlth* 2, 305, 1973.
9. Gabliks J.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 120, 172, 1965.
10. Juszkiewicz T.: *Biul. I.O.R.* 41, 21, 1968.
11. Juszkiewicz T., Stec J.: *Pol. Tyg. lek.* 13, 462, 1971.
12. Kaliser L. A.: *Toxic. appl. Pharmac.* 13, 353, 1960.
13. Kosutzky J., Adamec O., Ferencik M., Ladec M., Bobakova A.: *Vet. Med. Praga.* 6, 373, 1974.
14. Nikolaev A. I., Ponomareva L. A., Geller I. S., Rozgon M. I., Garipova F. S.: *Farmak. Toks.* 3, 352, 1972.
15. Nikolaev A. I., Subchankulova F. B., Geller I. S.: *Farmak. Toks.* 6, 737, 1970.
16. Nikolaev A. I., Usmanova J. Ja.: *Lab. Delo* 11, 676, 1971.
17. Pevelyn V. M., Spirt M. B., Aripov O. A., Ersova W. I.: *Gig. Sanit.* 12, 29, 1971.
18. Radhakrishnan C. V., Thompson N. P., Forrester D. J.: *Bull. env. Cont. Toxic.* 3, 147, 1972.
19. Rodica G., Stefania M.: *Arch. exp. Vet. Med.* 27, 723, 1973.
20. Wasserman M., Wasserman D., Kedar E., Djavaherian M.: *Bull. env. Cont. Toxic.* 5, 426, 1971.
21. Wasserman M., Wasserman D., Gershon Z., Zellenmayer L.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 160, 393, 1969.
22. Zvon M. R., Hine C. H., Parker K. D.: *J. Am. med. Ass.* 193, 337, 1965.

Adres autora: lek. wet. Tadeusz Lis, ul. Cichockiego 4/16, 24-100 Puławy.

DEPORTER D. A., CAPASSO F., WILLOUGHBY D. A.: Wpływ zmiany poziomu śródkomórkowego cyklicznego AMP na reakcje nadwrażliwości typu wspólnego *in vivo*. (Effect of modification of intracellular cyclic AMP levels on the immediate hypersensitivity reaction *in vitro*). *J. Pathol.* 119, 147—158, 1976 (3).

Badania miały na celu określenie wpływu czynników powodujących wzrost poziomu śródkomórkowego cyklicznego AMP na przebieg biernego odczynu Art-husa w jamie otrzewnowej szczurów. Odczyn nadwrażliwości produkowano na szczurach rasy Wistar uodpornionych dożylnie albuminą surowicy bydlecej po dootrzewnowym podaniu, po 30 minutach po iniekcji dożylniej odpornościowej surowicy króliczej skierowanej przeciwko białkom surowicy bydła. Poziom cyklicznego AMP określono wg metody Browna i wsp. Szczury z grupy 1 stanowiły kontrolę. Zwierzęta z 2 grupy otrzymały teofilinę, z 3 dwumasłowy cykliczny AMP zaś z 4 obydwie te preparaty. Badane preparaty stosowano w dawce 25 mg/kg wagi ciała. Po 3 godzinach od chwili wystąpienia odczynu obserwowano zahamowanie wydzielania histaminy przebiegające równolegle do wzrostu poziomu śródkomórkowego cyklicznego AMP. Obserwacje przeprowadzone po 6 godz. wykazały istnienie zależności między stężeniem cyklicznego AMP i prostaglandyny E w leukocytach. Poziom prostaglandyny spadał całkowicie w leukocytach i w płynie wysiękowym pod działaniem preparatów zwiększających stężenie cyklicznego AMP.

G.