

KRYSTYNA JELENIEWICZ

## BADANIA WPLYWU OSTREJ INTOKSYKACJI KARBARYLEM NA NIEKTÓRE WSKAŹNIKI PRZEMIANY AMINOKWASOWEJ U SZCZURA\*

### STUDIES ON THE EFFECT OF ACUTE INTOXICATION WITH CARBARYL ON THE SOME PARAMETERS OF THE AMINO ACID METABOLISM IN RATS

Z Katedry i Zakładu Chemii Toksykologicznej Akademii Medycznej w Lublinie  
Kierownik: prof. dr hab. S. Szczepaniak

*Przebadano wpływ jednorazowego podania szczurom karbarylu p.o. w dawce 1/2 LD<sub>50</sub> na stężenia wolnych aminokwasów tkanki mózgowej i wątrobowej, poziom alfa-ketokwasów we krwi i aktywność wybranych aminotransferaz osoczowych i wątrobowych w zależności od czasu narażenia.*

Karbaryl jest insektycydem najlepiej poznanym spośród innych karbaminianów, jednak jego wpływ na niektóre procesy biochemiczne organizmów stałocieplnych nie jest dokładnie wyjaśniony. Mało uwagi jak dotychczas poświęcono oddziaływaniu karbarylu na przemianę aminokwasową. Piśmiennictwo dotyczące tego tematu, poza pracami własnymi, sprowadza się do jednej pracy radzieckiej, przedstawiającej zmiany poziomu wolnych aminokwasów w surowicy krwi psów, przewlekle zatrutowanych małymi dawkami karbarylu oraz kilku publikacji dotyczących oceny zachowania się ALAT i AspAT pod wpływem ostrych i chronicznych zatruc tym pestycydem. Stwierdza się natomiast całkowity brak badań wyjaśniających wpływ karbarylu na aktywność innych enzymów transaminujących.

Wcześniejsze badania własne wykazały, że ostre zatrucie szczurów karbarylem powoduje istotne spadki stężeń prawie wszystkich wolnych aminokwasów w osoczu i w erytrocytach krwi zwierząt doświadczalnych, największe w 2-iej i 4-iej godzinie intoksykacji. Niniejsze badania zmierzają do pogłębienia wiadomości o działaniu karbarylu na gospodarkę i przemianę aminokwasową i są próbą wyjaśnienia mechanizmów obserwowanej wcześniej hipoaminoacidemii.

Interesujące wydawało się prześledzenie zachowania się wolnych aminokwasów w tkance wątrobowej i mózgowej w zależności od czasu działania pestycydu (2, 4, 24, 72 i 120 h). Tkanka mózgowa jest, jak wiadomo, najbardziej wrażliwa na działanie substancji toksycznych, a wątroba jako główny narząd detoksykacyjny jest w sposób szczególnie narażona na ich działanie.

Zakładając, że zmiany stężeń wolnych aminokwasów w płynach i tkankach ustrojowych mogą być między innymi wynikiem zaburzeń równowagi reakcji transaminacji, wydawało się również celowe sprawdzenie, czy w wyniku ostrego zatrucia

\* Wyciąg z rozprawy habilitacyjnej

karbarylem dochodzi do zmian poziomu alfa-ketokwasów we krwi zatrutych zwierząt i do zmian aktywności aminotransferaz osoczowych i wątrobowych.

Badania wykonane na 584 szczurach, samcach rasy *Wistar* o średniej masie ciała  $249 \pm 10$  g wykazały, że w wyniku ostrego zatrucia karbarylem jednorazową doustną dawką  $1/2 LD_{50}$  (474 mg/kg) dochodzi do zakłóceń w gospodarce aminokwasowej ustroju. Stwierdzono bowiem okresowe zmiany stężeń wolnych aminokwasów w wątrobie i mózgu oraz zmiany aktywności szeregu enzymów transaminujących, zarówno w osoczu, jak i w cytozolu wątrobowym zwierząt doświadczalnych.

Ocena statystyczna wyników wykazała, że ostra intoksykacja karbarylem prowadzi do istotnego obniżenia stężeń większości wolnych aminokwasów w tkance wątrobowej. Największe spadki stwierdzono po 4 godzinach od podania pestycydu i dotyczyły one głównie aminokwasów endogennych. W tym czasie obniża się stężenie kwasu asparaginowego z seryną i glicyną, kwasu glutaminowego, treoniny, leucyny z izoleucyną i alaniny. W dalszych badanych okresach intoksykacji (24, 72 i 120 h) stężenie alaniny wzrasta. Oprócz alaniny podwyższony poziom wykazuje fenyloalanina, ale tylko po 2 godzinach od zatrucia. Stężenia pozostałych aminokwasów powracają do wartości prawidłowych najpóźniej po 72 godzinach intoksykacji.

Badania wykazały, że karbaryl powoduje również istotne spadki stężeń prawie wszystkich wolnych aminokwasów w tkance mózgowej, a więc zarówno tych, które odgrywają istotną rolę w przewodnictwie nerwowym, jak i tych, które nie pełnią takich funkcji. Największe ubytki zanotowano po 2 godzinach od zatrucia, a więc wcześniej niż w wątrobie i dotyczą one następujących aminokwasów: glutaminy z kwasem asparaginowym, seryną i glicyną, leucyny z izoleucyną, GABA, alaniny, kwasu glutaminowego z treoniną i lizyny z histydyną i argininą. Stężenia niektórych aminokwasów mózgowych wracają do normy już w 4-tej godzinie intoksykacji. Najdłużej utrzymujące się zmiany dotyczą zespołu aminokwasów, w skład którego wchodzi glutamina z kwasem asparaginowym, seryną i glicyną. Nieco odmiennie zachowuje się walina z fenyloalaniną, ponieważ stężenie tych aminokwasów utrzymuje się w granicach poziomu fizjologicznego po 2 i 4 godzinie od zatrucia, a po 24, 72 i 120 godzinach wzrasta.

Wykazane zmiany stężeń wolnych aminokwasów wątrobowych i mózgowych spowodowane ostrym zatruciem karbarylem zdają się świadczyć o tym, że badany karbaminian powoduje zaburzenia w funkcjonowaniu mechanizmów regulujących przemianę aminokwasową. Można przypuszczać, że w wyniku podania szczurom dużej dawki karbarylu dochodzi do zakłócenia procesów metabolicznych zachodzących w wątrobie i mózgu. Nie jest wykluczone, że obniżenie stężeń wolnych aminokwasów w badanych tkankach, jak i we krwi (wykazane we wcześniejszych badaniach) może mieć związek z antycholinoesterazowym działaniem karbarylu, bowiem zbiega się ono z czasem maksymalnego blokowania cholinoesteraz. Szczególnie dotyczyć to może aminokwasów glukogennych, zawierających grupę hydroksylową (seryna i treonina).

Zmiany stężeń aminokwasów w wątrobie i mózgu szczurów zatrutych karbarylem zdają się być jeszcze jednym dowodem, potwierdzającym hepatotoksyczność i neurotoksyczność badanego pestycydu.

W dalszych badaniach wykazano, że karbaryl powoduje nieznaczne, ale istotne obniżenie stężenia sumy ketokwasów w erytrocytach po 4 godzinach od podania pestycydu, nie wpływa natomiast na poziom pirogronianu w osoczu i erytrocytach krwi zatrutych szczurów oraz na poziom sumy ketokwasów w osoczu.

Ostra inoksykacja karbarylem prowadzi do istotnego wzrostu aktywności ALAT w osoczu krwi po 24 i 72 godzinach od zatrucia przy jednoczesnym spadku aktywności tego enzymu we frakcji cytoplazmatycznej homogenatu wątrobowego w tych samych okresach narażenia. W osoczu zanotowano również wzrost aktywności AspAT po 72 godzinach od podania szczyrom karbarylu, natomiast w wątrobie aktywność AspAT nie ulega istotnym zmianom we wszystkich badanych okresach intoksykacji. Po 72 godzinach od zatrucia wskaźnik *de Ritisa* ulega w osoczu obniżeniu, a w wątrobie – wzrasta po 24 i 72 godzinach.

Podobnie jak ALAT zachowuje się aminotransferaza katalizująca reakcję między alfa-ketoglutaranem i asparaginą: w osoczu stwierdzono wzrost jej aktywności, a w wątrobie spadek po 4, 24 i 72 godzinach od zatrucia.

Aminotransferaza katalizująca reakcję między alfa-ketoglutaranem i lizyną zachowuje się podobnie do AspAT: przy braku zmian aktywności tego enzymu w wątrobie zanotowano istotny wzrost aktywności w osoczu, przy czym wykazany on został we wszystkich okresach intoksykacji.

Zatrucie karbarylem powoduje ponadto wzrost aktywności aminotransferazy wątrobowej, uczestniczącej w reakcji między alfa-ketoglutaranem i fenyloalaniną w 24-ej godzinie narażenia, przy nie zmieniającej się aktywności enzymu w osoczu.

Inne przebadane enzymy transaminujące, katalizujące reakcje między alfa-ketoglutaranem i trzema dalszymi donorami grup aminowych, a mianowicie cysteiną, leucyną i waliną nie zmieniają swej aktywności ani w osoczu, ani w cytozolu wątrobowym przez cały okres trwania eksperymentu.

Odmienne zachowują się aminotransferazy w układzie z pirogronianem. We frakcji cytoplazmatycznej homogenatu wątrobowego wykazano wzrost aktywności enzymów transaminujących, uczestniczących w reakcjach z udziałem siedmiu donorów grup aminowych: leucyny, argininy, kwasu glutaminowego, izoleucyny, kwasu asparaginowego i waliny. Nie zanotowano zmian aktywności aminotransferazy wątrobowej, katalizującej reakcję z udziałem lizyny. Stymulację aktywności aminotransferaz zanotowano już w 2-ej godzinie intoksykacji dla kwasu glutaminowego i leucyny, przy czym aktywność enzymu katalizującego pierwszą z wymienionych reakcji wraca do normy po 4 godzinach od zatrucia, a drugiego jest podwyższona również w dalszych okresach narażenia. Największy przyrost aktywności enzymatycznej w cytozolu wątrobowym obserwuje się po 24 godzinach od podania zwierzętom karbarylu.

W osoczu krwi szczurów zatrutych karbarylem dochodzi do wzrostu aktywności enzymu transaminującego reakcję z udziałem pirogronianu i leucyny po 24 godzinach intoksykacji oraz do spadku aktywności enzymu biorącego udział w reakcji pirogronianu z argininą w 2-ej, 4-ej i 24-ej godzinie narażenia.

W stanie ostrej intoksykacji karbarylem stwierdzono ponadto pojawienie się w osoczu krwi aminotransferaz, których aktywności nie wykazano w grupie zwierząt kontrolnych. Dotyczy to enzymów, które wykazują wzmożony udział w reakcjach transaminacji w cytozolu wątrobowym, a więc ich poziomy w osoczu zdają się być odzwierciedleniem ich poziomów w wątrobie.

W 4-ej godzinie od zatrucia stwierdzono aktywność enzymu katalizującego reakcję między pirogronianem i kwasem glutaminowym, a w 24-ej i 72-ej – między pirogronianem i izoleucyną. Enzymy uczestniczące w reakcjach z udziałem asparaginy, kwasu asparaginowego i waliny pojawiają się w osoczu dopiero po 72 godzinach od zatrucia.

Różne zachowanie się enzymów transaminujących w osoczu i we frakcji cytoplazmatycznej homogenatu wątrobowego zwierząt doświadczalnych zatrutych karbarylem świadczy o tym, że zaobserwowane zmiany mogą być spowodowane przez wielorakie czynniki.

Na podstawie wyników niniejszej pracy, jak i danych piśmiennictwa można przypuszczać, że w wyniku ostrego zatrucia szczurów karbarylem dochodzi do zmian czynnościowych w przepuszczalności błon komórkowych hepatocytów i do nieprawidłowego przenikania enzymów transaminujących z wnętrza komórki do płynu pozakomórkowego i do osocza. Nie jest wykluczone, że wzrost aktywności aminotransferaz osoczowych spowodowany jest niedotlenieniem i zaburzeniami gospodarki energetycznej ustroju.

Zakłócenia w przebiegu reakcji transaminacji wyrażające się zmianami aktywności większości oznaczonych aminotransferaz, wykazane w warunkach ostrej intoksykacji karbarylem mają niewątpliwie związek z obserwowanymi zmianami stężeń wolnych aminokwasów zarówno w tkance wątrobowej i mózgowej, jak i we krwi. Nieprawidłowe poziomy oznaczonych wskaźników przemiany aminokwasowej świadczą o poważnych zakłóceniach w metabolizmie aminokwasów.

Wydaje się, że zmiany w aktywnościach aminotransferaz osoczowych łącznie ze zmianami w obrazie wolnych aminokwasów osocza i erytrocytów, wykazanymi we wcześniejszych badaniach, mogą być pomocne jako uzupełnienie testu inhibicji cholinoesteraz w diagnostyce laboratoryjnej ostrych zatruc karbarylem, w przypadku potwierdzenia tych zmian w badaniach klinicznych.

K. Jeleniewicz

## STUDIES ON THE EFFECT OF ACUTE INTOXICATION WITH CARBARYL ON THE SOME PARAMETERS OF THE AMINO ACID METABOLISM IN RATS

### Summary

Male *Wistar* rats were orally poisoned with carbaryl in a single dose 474 mg/kg (1/2 LD<sub>50</sub>). After 2, 4, 24, 72 and sometimes 120 hours from the administration of the insecticide the studied biochemical parameters have been determined.

Trials showed an essential effect of carbaryl on the amino acid balance and metabolism. Significant decreases of the most amino acids concentrations in the brain tissue (a maximum decrease in the second hour) and in the liver (at 4-th h of intoxication). Normalization of the amino acid levels occurred more early in the brain than in the liver.

Furthermore a decrease of total keto-acids concentration in erythrocytes (at 4-th h) and activity changes of some plasma and liver plasmatic aminotransferases in the reaction with alpha-ketoglutarate and pyruvate was observed.

### PIŚMIENNICTWO

Piśmiennictwo (412 pozycji) znajduje się w pracy habilitacyjnej u autora.

Dn. 1989.12.06

20-080 Lublin, ul. Dymitrowa 5