**ZATRUCIE ZWIĄZKAMI FOSFOORGANICZNYMI**

Estrowe związki fosforoorganiczne znajdują zastosowanie w rolnictwie jako insektycydy, wykazują również właściwości chwasto- i grzybobójcze. Insektycydy fosforoorganiczne są triestrami kwasów fosforowych i tiofosforowych o następującym wzorze

ogólnym:



R 1 i R 2 - podstawniki alkilowe (C 2 H 5 lub CH 3 );

X - grupy kwasowe, chlorowiec, CN, reszty fenylowe, łańcuchy alifatyczne, arylowe.

Grupy (X) warunkują działanie toksyczne związków fosforoorganicznych, ich trwałość i rozpuszczalność. Związki fosforoorganiczne występują w formie krystalicznej lub oleistych cieczy o ostrym, nieprzyjemnym zapachu. W wodzie rozpuszczają się trudno lub wcale, natomiast łatwo w olejach i rozpuszczalnikach organicznych. W pH 7-8 ulegają bardzo łatwo hydrolizie do diestrów, monoestrów, a nawet do fosforu nieorganicznego. Reaktywność cząsteczki insektycydów fosforoorganicznych jest związana z elektrofilowym charakterem estrowego wiązania fosforu. Łatwo reagują one ze związkami lub ugrupowaniami nukleofilowymi, uwalniając aktywne reszty alkilofosforowe z rozbiciem wiązania P = O lub uwalniają reszty alkilowe, z rozbiciem wiązania C = O. Związki tlenofosforowe wchodzą głównie w reakcje fosforylacji, a tiofosforany w reakcje alkilacji. Typowe dla tych związków są reakcje utleniania, szczególnie łatwo ulegają utlenieniu związki zawierające ugrupowania: tionosiarkowe, tiolosiarkowe, fosforoamidowe. Utlenienie cząsteczki zwiększa jej podatność hydrolityczną. Reakcje te zachodzące zarówno „in vitro”, jak i „in vivo” i mają bezpośredni wpływ na aktywność biologiczną związków fosforoorganicznych:

- rozpad hydrolityczny warunkuje możliwość fosforylacji biologicznej i hamowanie

aktywności cholinoesteraz,

- reakcje utleniania prowadzą do powstania biologicznie czynnych analogów

tlenowych,

- niektóre insektycydy fosforoorganiczne są inhibitorami enzymów przez alkilację grup

sulfhydrylowych – SH.

Większość insektycydów fosforoorganicznych jest zaliczana do I i II klasy toksyczności, a więc trucizn. Różnią się budową, właściwościami fizykochemicznymi i toksycznością, łączy je wspólny dla wszystkich związków biochemiczny mechanizm działania toksycznego.

Średnio już 10-20 mg związku silnie działającego może powodować zatrucie u człowieka, a 0,3 g – zgon. Zgony notowano już po 2 mg parationu (0,1 mg/kg) u 5. i 6. letnich dzieci oraz po 120 mg u dorosłych. Zgon nastąpił również po ekspozycji na stężone preparaty: diazinonu, dichlorfos (DDVP), systoksu, tetraetylopirofosforanu (TEPP) i karbofenotionu.

**1. LOSY INSEKTYCYDÓW FOSFOROORGANICZNYCH W ORGANIZMIE.**

**1.1. Wchłanianie i wydalanie.**

Dobra rozpuszczalność w tłuszczach ułatwia ich przenikanie przez bariery lipidowo- białkowe i rozprzestrzenianie się w organizmie. Ulegając szybkim przemianom, nie wykazują zdolności do kumulacji materialnej w organizmie. Związki te mogą wchłaniać się następującymi drogami:

- przez przewód pokarmowy,

- przez układ oddechowy, te drogi mają największe znaczenie

- przez skórę, w narażeniu zawodowym

- przez błony śluzowe,

Wydalają się w formie produktów przemiany o różnej budowie, w niewielkim stopniu w formie niezmienionej przez:

- nerki,

- przewód pokarmowy.

**1.2. Biotransformacja.**

Biotransformacja jest głównym czynnikiem modyfikującym działanie toksyczne tej grupy związków. Wystąpienie oraz siła i czas trwania toksycznego działania insektycydów fosforoorganicznych są wypadkową jednocześnie przebiegających procesów uczynniania metabolicznego i detoksykacji przebiegających jednocześnie w żywym organizmie. Przewaga jednego z nich, warunkująca wzrost lub ograniczenie toksyczności, zależy od budowy chemicznej insektycydu oraz stanu biologicznego organizmu.

Triestry kwasu fosforowego są bezpośrednimi inhibitorami cholinoesteraz (wszystkie ich przemiany osłabiają ich toksyczność). Tio- i ditiofosforany oraz większość stosowanych obecnie insektycydów fosforoorganicznych są pośrednimi inhibitorami cholinoesteraz, wymagającymi wewnątrzustrojowego uczynnienia metabolicznego.

Uczynnienie metaboliczne prowadzi do powstania związków czynnych o większej toksyczności. Reakcje zachodzą w mikrosomalnej frakcji komórek wątroby i są katalizowane przez układ oksydaz o mieszanej czynności zależnych od NADPH. Powstają:

- z tiofosforanów czynne tlenofosforany,

- z ditiofosforanów – tiolofosforany,

- związki o budowie amidofosforanów są uczynniane metabolicznie przez N-

demetylację,

- tioetery ulegają utlenianiu, tworząc odpowiednie sulfony.

Produkty tych przemian mają zdolność hamowania acetylocholinoesterazy.

Detoksykacja związków fosforoorganicznych zachodzi głównie poprzez reakcje hydrolizy triestrów fosforoorganicznych do odpowiednich diestrów z udziałem fosfataz z grupy tzw. A – esteraz (aryloesteraz) niewrażliwych na działanie estrów fosforoorganicznych, np. aryloesteraza katalizująca przemianę parationu u ssaków, nie występuje u owadów (zw. owoadobójczy). Hydroliza insektycytów zawierających wiązanie P = S zachodzi dwuetapowo: najpierw desulfuracja z wytworzeniem analogu tlenowego, następnie jego hydroliza. Kinetyka i wydajność tej reakcji zależy od wieku i płci zwierząt.

Reakcje dealkilacji – są drugim istotnym etapem procesu detoksykacji insektycydów

fosforoorganicznych. Udział enzymów katalizujących te procesy zależy od rodzaju grup

alkilowych występujących w cząsteczce insektycydu, np.

a) dietylofosforany (paration, chlorfenwinfos) ulegają oksydatywnej deetylacji w

mikrosomalnej frakcji komórek wątroby z wydzieleniem odpowiedniego aldehydu i pochodnej monoalkilowej. Reakcja ta jest swoista gatunkowo, najszybciej zachodzi u psów (mała wrażliwość np. na działanie chlorfenwinfosu);

b) analogi dimetylowe lub diizopropylowe ulegają monodealkilacji z udziałem

alkilotransferazy glutationowej w rozpuszczalnej frakcji komórek wątroby. Ta reakcja nie wykazuje znaczących różnic gatunkowych;

c) karboksyloestry fosforoorganiczne (malation) są hydrolizowane przez swoiste

karboksyloesterazy osocza i tkanek ssaków, w niewielkim stopniu występują u owadów. Stanowi to podstawę wybiórczego działania owadobójczego;

d) uzupełniającym sposobem unieczynniania insektycydów fosforoorganicznych jest

ich wiązanie w „miejscach aktywnych” tkanki wątrobowej. W ten sposób są unieczynniane częściowo analogi tlenowe parationu i malationu (paraokson i malaokson). Wybiórcze blokowanie lub indukcja tych tzw. miejsc strat (prawdopodobnie nieswoistych esteraz tkankowych) aktywnych inhibitorów cholinoesteraz są dowodem, że te związki wpływają na zmianę toksyczności insektycydów fosforoorganicznych.

**2. MECHANIZM TOKSYCZNEGO DZIAŁANIA.**

Wszystkie insektycydy fosforoorganiczne, zależnie od budowy cząsteczki są bezpośrednimi (P = O) lub pośrednimi (P = S) inhibitorami aktywności enzymów z grupy cholinoesteraz.

Czas występowania i natężenia działania toksycznego są zależne od :

- zdolności insektycydu do przenikania do organizmu,

- powinowactwa i kinetyki przebiegu procesu wiązania z miejscem aktywnym enzymu,

- trwałości powstającego połączenia enzym – inhibitor.

Istnieje ścisła współzależność budowy i właściwości fizykochemicznych insektycydu z jego działaniem toksycznym.

Cholinoesterazy to enzymy hydrolizujące estry choliny np. acetylocholinę do choliny i kwasu octowego, ograniczając czas jej działania. W organizmie ssaków występują dwa rodzaje cholinoesteraz, różniące się odrębnością reakcji substratowych, rozmieszczeniem tkankowym i powinowactwem do estrów fosforoorganicznych:

a) acetylocholinoesteraza (AChE, hydrolaza acetylocholinowa)

Katalizuje głównie rozkład acetylocholiny, w mniejszym stopniu inne estry choliny.

Występuje w:

- błonie krwinek czerwonych,

- mózgu,

- rdzeniu kręgowym,

- płytkach motorycznych mięśni szkieletowych oraz mięśni gładkich drzewa

oskrzelowego i pęcherza moczowego.

b) cholinoesteraza (ChE, acetylohydrolaza acylocholinowa)

Swoistym substratem jest ester butyrylocholiny.

Występuje w :

- osoczu krwi,

- wątrobie,

- trzustce,

- nadnerczach,

- zwojach czuciowych błony śluzowej i przewodu pokarmowego.

Bardziej wrażliwa na działanie związków fosforoorganicznych jest acetylocholinoesteraza (AChE). Hamowanie aktywności cholinoesteraz jest wynikiem reakcji

chemicznej enzymu z inhibitorem tj. związkiem fosforoorganicznym, analogicznej do reakcji

z substratem fizjologicznym – acetylocholiną. Produktem reakcji fizjologicznej jest nietrwały

„acylowany enzym”.

Naprzemienne wiązanie i uwalnianie neuroprzekaźnika – acetylocholiny, zapewnia płynny przebieg procesu przenoszenia bodźców w zakończeniach nerwowo-mięśniowych (płytce motorycznej), w przedzwojowych zakończeniach współczulnych i przywspółczulnych oraz pozazwojowych zakończeniach przywspółczulnych. System ten działa w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym. Szybkość reakcji fizjologicznej to ok. 300 000 przemian/minutę. W reakcji z inhibitorem natomiast szybkość spada do około 0,0085 przemian/minutę, a produkt reakcji - „ufosforylowany enzym” – jest trwałym połączeniem, pozbawionym zdolności hydrolizowania acetylocholiny, wyłączonym z procesu fizjologicznego. Nagromadzona w miejscach efektorowych acetylocholina, zapoczątkowuje działanie toksyczne (endogenne zatrucie acetylocholiną).

Związki fosforoorganiczne hamują aktywność cholinoesteraz wiążąc się bezpośrednio z enzymem w centrum katalitycznym (esterazowym), estry fosforoorganiczne wiążą się z grupą hydroksylową seryny wiązaniem kowalencyjnym, co przebiega następująco:



ChE- cholinoesteraza

R 1 - -C 6 H 4  NO 2 lub inne podobne,

R - -CH 3 lub -C 2 H 5 ;

1 - reakcje zachodzące szybko, powstaje kompleks odwracalny enzym – inhibitor,

2 – reakcja powolna, powstanie ufosforylowanego enzymu – zahamowanie trwałe,

3 – bardzo powolna hydroliza zablokowanego enzymu.

Hydroliza zablokowanego enzymu jest bardzo powolna i zależy od związku fosforoorganicznego. Niektóre związki fosforoorganiczne zawierające rodnik izopropylowy w

cząsteczce hamują enzym nieodwracalnie.

Przywrócenie aktywności esterazowej we krwi i tkankach jest zależne od szybkości

syntezy enzymu „de novo”. W osoczu aktywność cholinoesterazy powraca do wartości

prawidłowych w ciągu kilku dni do kilku tygodni (po 30-40 dniach) w wyniku syntezy enzymu w wątrobie. W krwinkach czerwonych, aktywność enzymu AChE odtwarza się dopiero po pełnej fazie cyklu fizjologicznego wytwarzania i wymiany krwinek czerwonych (80-100 dni). Odnowa AChE w mięśniach i krwinkach jest na ogół podobna, a czynność AChE w o.u.n. powraca znacznie wolniej (do kilku miesięcy).

**3. KLINICZNY OBRAZ I OBJAWY ZATRUCIA INSEKTYCYDAMI**

**FOSFOROORGANICZNYMI.**

Związki te powodują głównie zatrucie ostre, występujące w pracy zawodowej przy produkcji i stosowaniu pestycydów, a także w życiu codziennym.

Objawy zatrucia jednorazową dużą dawką insektycydu fosforoorganicznego rozwijają się szybko, najczęściej po 0,5-1 h, a po wniknięciu przez skórę do 2-3 h. Jeśli nagromadzą się w tkance tłuszczowej, z której następnie wolno uwalniają się do krwi, to czas wystąpienia objawów zatrucia wydłuża się nawet do 24h.

Objawy zatrucia rozwijają się w trzech kierunkach, w miarę narastającego pobudzenia receptorów cholinergicznych (muskarynowych, nikotynowych i w o.u.n) na wskutek nagromadzenia się acetylocholiny (endogenne zatrucie acetylocholiną):

a) objawy muskarynowe – wynikające z nadpobudzenia receptorów muskarynowych

pozazwojowych nerwów cholinergicznych w układzie oddechowym, przewodzie

pokarmowym, sercu, nerkach, gruczołach ślinowych, źrenicy i mięśniach;

b) objawy nikotynowe – związane z nagromadzeniem acetylocholiny w

autonomicznych synapsach zwojowych oraz na płytkach motorycznych mięśni

szkieletowych;

c) objawy ośrodkowe – wynikające z bezpośredniego wpływu nagromadzonej

acetylocholiny na cholinergiczne receptory komórek nerwowych.

Zatrucie w zależności od wchłoniętej dawki może przebiegać w postaci lekkiej, średnio ciężkiej i ciężkiej:

a) W postaci lekkiej przeważają objawy muskarynowe:

- osłabienie,

- bóle i zawroty głowy,

- zaburzenia widzenia,

- łzawienie, zwężenie źrenic,

- nudności, wymioty,

- brak łaknienia,

- bóle brzucha,

- niepokój,

- niewielki skurcz oskrzeli.

Średnie obserwowane w tych warunkach zahamowanie aktywności acetylocholinoesterazy wynosi ok. 60% a okres powrotu do zdrowia 1-3 dni.

b) w średnio ciężkiej postaci obserwuje się nasilenie objawów muskarynowych i

wystąpienie objawów nikotynowych:

- uogólnione osłabienie,

- narastające zaburzenie widzenia,

- ślinotok,

- wymioty, biegunka,

- pojawia się bradykardia, hipertonia, drżenia mięśni twarzy, rąk i głowy,

- narasta ogólne pobudzenie,

- trudności koordynacji ruchów,

- pojawia się uczucie lęku,

- w drugim etapie: oczopląs, ból w klatce piersiowej i trudności w oddychaniu,

sinica błon śluzowych, rzężenie przy oddychaniu.

Obserwowane zahamowanie aktywności acetylocholinoesterazy ok. 60-90% a okres powrotu do zdrowia 1-2 tygodni.

c) ciężka postać zatrucia to objawy ze strony o.u.n.:

- drgawki napadowe, przechodzące w uogólnione,

- zaburzenia psychiczne,

- sinica,

- obrzęk płuc,

- śpiączka.

Zahamowanie aktywności acetylocholinoesterazy wynosi ok. 90-100%. Takie stany najczęściej kończą się zgonem. Bezpośrednią przyczyną zgonu jest porażenie ośrodka oddechowego i uduszenie. Obserwowane w praktyce klinicznej zatrucia związkami fosforoorganicznymi często różnią się objawami od klasycznego ich obrazu. Wynika to, z różnych warunków narażenia, wrażliwości osobniczej, niejednokrotnie uwarunkowanej genetycznie. Insektycydy fosforoorganiczne nie powodują zatruć przewlekłych, wynikających z ich materialnej kumulacji, przedłużone narażenie na działanie małych dawek wywołuje jednak stopniowe zahamowanie aktywności acetylocholinoesterazy i rozwój zatrucia związany z tzw. kumulacją skutku biologicznego.

**4. DIAGNOSTYKA ZATRUĆ I OCENA NARAŻENIA ZAWODOWEGO NA**

**DZIAŁANIE INSEKTYCYDÓW FOSFOROORGANICZNYCH**

Diagnostyka opiera się na oznaczaniu aktywności cholinoesteraz we krwi:

**4.1. Cholinoesteraza osocza krwi (pseudocholinoesteraza II – niespecyficzna)**

Jej aktywność wykazuje duży rozrzut indywidualny i w małym stopniu odzwierciedla zaburzenia układu nerwowego. W ocenie zatrucia insektycydami fosforoorganicznymi jej aktywność służy jako wskaźnik wniknięcia ich do organizmu. (Obserwowano zmniejszenie aktywności cholinoesterazy osocza do kilku procent bez wystąpienia wyraźnych objawów zatrucia).

Ponadto, aktywność cholinoesterazy osocza obniża się w chorobach zakaźnych, w uszkodzeniu wątroby (hepatotoksyczne działanie np. CCl 4 ). Liczne leki i związki obniżają

jej aktywność w osoczu:

- atropina,

- kortyzon,

- estrogeny,

- morfina,

- hyoscyamina,

- kodeina,

- barbiturany,

- leki przeciwhistaminowe, przeciwmalaryczne, o działaniu miejscowo znieczulającym,

- witaminy K i B 1,

- ergotamina,

- leki z grupy fenotiazyn,

- kwasy żółciowe,

- błękit metylenowy,

- błękit brylantowo-krezolowy,

- narkotyki,

- kurara.

**4.2. Acetylocholinoesteraza krwinek czerwonych –**

**tzw. cholinoesteraza I specyficzna.**

Cholinoesteraza I specyficzna jest biochemicznie identyczna z enzymem, który występuje w tkance nerwowej. Wykazuje mniejszy rozrzut osobniczy, jest odporna na wpływ czynników zewnętrznych. Pomiar aktywności acetylocholinoesterazy krwinek czerwonych odzwierciedla zarówno dynamikę wchłaniania insektycydu fosforoorganicznego, jak i zakres zaburzeń w układzie nerwowym. Zmniejszeniu jej aktywności o 40% zawsze towarzyszy rozwój zespołu objawów cholinergicznych. Zróżnicowanie indywidualne w aktywności acetylocholinoesterazy krwinek czerwonych może wynosić ok. 20%, i może być spowodowane zmianami aktywności zależnie od rytmów biologicznych dobowych i

sezonowych. U części populacji występuje genetycznie uwarunkowanie aktywności cholinoesteraz we krwi. U kobiet z reguły aktywność jest mniejsza niż u mężczyzn.

Te czynniki muszą być uwzględnione przy interpretacji wyników testu ester azowego.

Zmniejszenie aktywności krwinkowej AChE w ostrym zatruciu następuje gwałtownie i sięga

zazwyczaj 50-100%.

W narażeniu zawodowym aktywność ich zmniejsza się wolno w zakresie od 10-50%:

Zmniejszenie aktywności krwinkowej AChE o 12,5% u jednego pracownika zespołu jest uznawane za rozrzut osobniczy, stwierdzone u większości pracowników wskazuje na słabe

narażenie.

Ocena narażenia zawodowego na działanie insektycydów fosforoorganicznych jest zawarta w poniższej tabeli:

|  |  |
| --- | --- |
| Procent zmniejszenia aktywności  krwinkowej AChE  u większości pracowników | Stopień narażenia  zawodowego |
| 12,5 | słabe |
| 25 | lekko-średnie |
| 37,5 | średnie  (stanowi zagrożenie zdrowia) |
| 50 | duże  (groźne dla zdrowia i życia) |

**5. LECZENIE ZATRUĆ INSEKTYCYDAMI FOSFOROORGANICZNYMI.**

W ciężkich zatruciach leczenie rozpoczyna się od utrzymania drożności układu oddechowego i sztucznego oddychania. Następnie podaje się dożylnie atropinę łącznie z pochodnymi oksymów, obecnie najczęściej obidoksym. Jako leczenie wspomagające stosuje

się preparat Serum-Cholinesterase – zawierający koncentrat liofilizowany cholinoesterazy

surowicy krwi ludzkiej.

Atropina jest farmakologicznym antagonistą acetylocholiny w jej działaniu na receptory muskarynowe. Znosi przede wszystkim objawy muskarynowe zatrucia pochodzenia

obwodowego, w mniejszym stopniu ośrodkowe. Nie znosi skutków pobudzenia nerwowo-mięśniowego i opóźnionego działania neurotoksycznego.

Pochodne oksymów zawierają IV-rzędowy atom azotu w cząsteczce i mają właściwości nukleofilowe. Są one swoistymi reaktywatorami zablokowanej przez insektycydy fosforoorganiczne acetylocholinoesterazy. W reakcji z ufosforylowanym enzymem IV-rzędowe ugrupowania aminowe reaktywatora wiążą się siłami elektrostatycznymi z centrum anionowym, umożliwiając nukleofilowy atak oksymu na elektrofilowy atom fosforu w centrum esterazowym zablokowanego enzymu. Następuje rozerwanie wiązania z wytworzeniem kompleksu oksym-reszta fosforanowa i uwolnienie czynnego enzymu.

Ufosforylowany enzym + 2-PAM

kompleks ufosforylowany enzym - 2–PAM

kompleks (2-PAM) – reszta fosforanowa

+

uwolniony czynny enzym

Rutynowo w leczeniu zatruć stosowane są:

- metylojodek pirydylo-2-aldoksymu (pralidoksym, 2-PAM)



- dichlorowodorek eteru bis-(4-hydroksyiminometylenopirydylo-(1)-metylowego)

(obidoksym)



W ciężkich zatruciach obidoksym jest skuteczniejszy od 2-PAM-u, działa szybciej, silniej, dłużej utrzymuje się w organizmie, częściowo przenika przez barierę krew-mózg.

Oksymy nie mają zdolności do ponownego uczynnienia enzymu w formie zdealkilowanej, kompleksy enzymu i pochodnej eteru dietoksylowego są szybciej reaktywowane w porównaniu z kompleksami diizopropoksy- i dimetoksy-, dlatego istotne jest

możliwie szybkie stosowanie ich w zatruciach.

Wydajność reaktywacji i działania odtruwającego znacznie się zwiększa po skojarzeniu oksymów z atropiną. Podanie tylko 2-PAM obniża toksyczność p-oksonu 2-4-krotnie, sama atropina zwiększa ją około dwukrotnie. Skojarzenie obu odtrutek obniża toksyczność 128-krotnie.

2-PAM słabo przenika przez barierę krew-mózg, nie reaktywuje zablokowanego enzymu w mózgu. Jego nowa dihydropochodna, pro-2-PAM, szybko przenika do o.u.n.