

## TOKSIKOLOGIJA

**Otrovanje parationom** (Parathion Poisoning), QUINBY, G. E., CLAPISON, G. B., *Arch. Environ. Health*, 3 (1961) 538.

Autori su prikazali prvi slučaj nehotičnog otrovanja parationom, koji je u SAD tretiran sa PAM-2.

Dvogodišnje dijete otrovano parationom liječeno je najprije atropinom. Dijagnoza nije bila odmah postavljena, ali nakon tri ponovljene doze atropina klinička slika davala je utisak otrovanja organofosfornim spojem.

Prve dvije doze atropina od 0,3 mg dane su intravenozno, a nakon toga doze su povišene na 0,6 mg i davane pacijentu šest puta u razmacima od 10 minuta. Terapija atropinom dovela je samo do prolaznog oporavka i pacijent se i dalje nalazio u komatoznom stanju. Tada je odlučeno da se pokuša liječenje sa PAM-2.

Sporom intravenoznom infuzijom pacijentu je aplicirano 250 mg PAM-2 otopljenog u 200 ml fiziološke otopine. Nakon 10 minuta bolesnik se je umirio i zaspao, a da nije bilo potrebno ponoviti liječenje.

Ovaj prikaz pokazuje da je PAM-2, nakon aplikacije atropina, veoma djelotvorno terapijsko sredstvo brzog učinka u gotovo fatalnom slučaju otrovanja parationom.

PAM-2 je reaktivirao eritrocitnu kolinesterazu nakon nepunih 20 minuta na normalnu razinu. Potpuno reaktivacija kolinesteraze plazme postignuta je tek između trećeg i devetnaestog dana, dok je neposredno nakon aplikacije PAM-2 razina povećana za otprilike trećinu normalne vrijednosti.

K. WILHELM

**Akutna toksičnost i antikolinesterazno djelovanje 0,0-dimetil S-etil-2-sulfinetil fosforotioata (meta-sistoks R) i srodnih spojeva** (The Acute and Anticholinesterase Action of 0,0-Dimethyl S-Ethyl-2-sulfinylethyl Phosphorothioate (Meta-Systox R) and Related Compounds), DU BOIS, K. P., PLZAK, G. J., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 4 (1962) 621.

Istraživana je akutna toksičnost Meta Sistoks R za miševе, štakore i zamorce. Kod intraperitonealne aplikacije LD<sub>50</sub> vrijednosti bile su od 8-30 mg/kg, dok je kod oralne aplikacije spoj bio 3-4 puta manje toksičan, a to je uvjetovano slabom apsorpcijom. Autori su istraživali i dermalnu toksičnost Meta Sistoksa R na štakorima. Spoj su aplicirali nerazrijeđen i on se vrlo slabo apsorbirao kroz kožu. Pretpostavlja se, međutim, da bi apsorpcija bila brža kad bi se aplicirao spoj razrijeđen u organskom otapalu.

Kod akutnog otrovanja ovim spojem u terapijske svrhe autori su primijenili atropin sulfat, PAM-2 i TMB-4. Ovi antidoti povisili su LD<sub>50</sub> Meta Sistoksa R za oko 3 puta.

Izvorni spoj iz kojeg je Meta Sistoks R dobiven (izometil-sistoks) bio je toksičniji nego Meta Sistoks R nakon intraperitonealne aplikacije, dok je oralna toksičnost jednaka za oba spoja. Sulfonski derivat toksičniji je nakon oralne aplikacije štakorima, a slabije toksičan kad je dan intraperitonealno zamorcima. Zamjenom etilne grupe u postraničnom lancu Meta Sistoks R izopropilnom smanjuje se intraperitonealna toksičnost 2-6 puta za sve tri vrste životinja.

Mjerenjem aktivnosti kolinesteraze autori su našli da je Meta Sistoks R 50% inhibirao kolinesterazu mozga štakora *in vitro* pri koncentraciji od  $2 \times 10^{-6} M$ , a subletalne doze ( $5/8 LD_{50}$ ) inhibirale su aktivnost kolinesteraze centralnog nervnog sistema i perifernog tkiva *in vivo* 70%.

K. WILHELM

**Hidroliza malationa ali-esterazama *in vitro* i *in vivo*** (Hydrolysis of Malathion by Ali-Esterases *in vitro* and *in vivo*), MAIN, A. R., BRAID, P. E. *Biochem. J.* 84 (1962), 255.

Rad predstavlja prilog istraživanju hidrolize S-1,2-di/etoksikarbonil/etil/00-dimetil fosforoditioata (malationa). Istraženo je koliko sudjeluju u enzimskoj razgradnji tog spoja ali-esteraze, lipaze i kolinesteraze i da li su ti enzimi uključeni u sinergizam zapažen između malationa i organofosforinih spojeva kao npr. parationa i tri-o-tolil fosfata. Kako se navedene vrste esteraze podudaraju s obzirom na substratne specifičnosti, pokusi su vršeni sa svakom vrstom esteraza zasebice. Da se dobiju zasebni pripravci esteraza, čišćene su kolinesteraza konja, ali-esteraza čovjeka (6 puta čišća) i ali-esteraza štakora (33-55 puta čišća). Testiran je i komercijalni preparat lipaze pankreasa.

Istraživanja su pokazala da serumaska kolinesteraza i pankreasna lipaza ne sudjeluju u enzimskoj razgradnji malationa. Ali-esteraze jetre štakora i čovjeka sličnih su aktivnosti, dok je aktivnost ali-esterazc seruma štakora znatno veća od one u jetri. Da se ali-esteraze seruma i jetre štakora razlikuju, dokazuje i različita osjetljivost prema butanolu; pod uvjetima pri kojima je aktivnost serumske ali-esteraze potpuno razorena, aktivnost ali-esteraze jetre ostaje nepromijenjena. Za razliku od seruma štakora, serum čovjeka ne posjeduje enzim koji hidrolizira malation. Određene su i vrijednosti  $K_m$  i  $V_{max}$  za hidrolizu malationa različitim ali-esterazama. Te su vrijednosti za homogenate jetre štakora i čovjeka te za serum štakora vrlo bliske. Utvrđen je utjecaj pH na aktivnost enzimске hidrolize malationa; područje optimalnog pH (od 6,9 do 9,0) pokriva područje fiziološkog pH. Potvrđena je pretpostavka da enzimskom hidrolizom dolazi do razgradnje samo jedne etil-esterske grupe malationa.

Doza oralno apliciranog tri o-tolil fosfata umanjila je aktivnost ali-esteraza prema malationu na gotovo zanemarljive vrijednosti, a  $LD_{50}$  malationa je nakon prethodne oralne aplikacije istog spoja bio umanjen za oko 100 puta. Zaključeno je da su ali-esteraze dominantan faktor u detoksikaciji malationa i da je inhibicija tih esteraza uvelike odgovorna za sinergizam zapažen između malationa i drugih organofosforinih spojeva.

M. ŠKRINJARIĆ-ŠPOLJAR

**Istraživanje enzima ljudske krvi. V Definicija i metoda za određivanje aril-esteraza u serumu čovjeka** (Untersuchungen über Fermente des menschlichen Blutes, V Definition und Methode zur Bestimmung der Arylesterasen des menschlichen Serums), PILZ, W., Hoppe-Seyler's *Z. physiol. Chem.* 328 (1962) 1.

Nakon kratkog historijskog pregleda autor nas uvodi u detaljan studij aril-esteraza ljudskog seruma. Preparativnom elektroforezom izdvojene su dvije aril-esteraze: aril-esteraza I koja putuje s prealbuminskom i albuminskom frakcijom (stabilna na djelovanje fosforinih estera, naročito E 605) i aril-esteraza II, koja putuje između albuminske i  $\alpha_1$ -frakcije (nestabilna na djelovanje fosforinih estera). Koncentracija od 5  $\mu g/ml$  seruma E 605 dovoljna je da inhibira sve prisutne esterazne aktivnosti osim aril-esteraze I. Tako pripremljen preparat aril-esterazc I ponaša se kao onaj dobiven elektroforetskim odjeljivanjem. Određeni su optimalni uvjeti rada (pH, vrijeme hidrolize, količina enzimskog preparata i koncentracija supstrata); obje vrste esteraza ponašaju se identično prema fenilnom esteru kao supstratu. Utvrđeno je da kvocijenti aktivnosti fenilni acetat/ $\beta$ -naftilni propionat podliježu individualnim varijacijama. To je naročito izraženo kod aril-esteraze I (200%). Iscrpni radovi s tog područja se nastavljaju.

M. ŠKRINJARIĆ-ŠPOLJAR

**Istraživanje enzima ljudske krvi. VI Prinos spoznaji o nejedinstvenosti aril-esteraze I** (Untersuchungen über Fermente des menschlichen Blutes, VI Beitrag zur Kenntnis der Uneinheitlichkeit der Arylesterase I), PILZ, W., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 328 (1962), 247.

Autor je na 70 različitih ljudskih seruma ispitao aktivnost aril-esteraze I prema fenilnom acetatu i  $\beta$ -naftilnom propionatu, kako bi utvrdio radi li se o jednoj ili o više esteraza koje hidroliziraju te supstrate. Aktivnosti ostalih esteraza seruma isključene su prethodnom obradom serumskih preparata sa E 605. Kvocijent aktivnosti prema fenilnom acetatu i  $\beta$ -fenilnom propionatu pokazuje vrlo velike individualne varijacije, a to potvrđuje pređašnje pretpostavke da se aril-esteraza I ljudskog seruma sastoji od najmanje dva među sobom nezavisno aktivna enzima.

M. ŠKRINJARIĆ-ŠPOLJAR

**Frakcioniranje C-esteraze iz ekstrakta bubrega svinje** (Fractionation of C-Esterase from the Hog's Kidney Extract), BERGMAN, F., RIMON, S., Biochem. J. 77 (1960), 209.

Svojstva novog enzima otkritog u bubregu svinje (Bergmann, Segal i Rimon, 1957. Bergmann i Rimon, 1958) nisu bila prije poznata, jer se nije mogao odvojiti od ostalih hidrolaza prisutnih u ekstraktu bubrega svinje ni primjenom soli ni upotrebom organskih otapala. Autori opisuju način na koji su uspjeli provesti takvu separaciju i provjeriti ispravnost postavke o postojanju »C-esteraze«.

Separacija je izvršena adsorpcijom u dietilaminoetil-celuloznoj koloni (DEAE-celulozna kolona). Propuštanjem otopine krute C-esteraze u tris-puferu kroz kolonu, odvajaju se tri prisutne hidrolitičke komponente u zasebnim frakcijama, a svaka od njih pokazuje dva maksimuma. To pokazuje da ti enzimi nisu homogeni proteini.

Prve frakcije sadržavaju čistu C-esterazu tipa I, dok većina frakcija koje pokazuju aktivnost prema diizopropilfluorofosfatu (DFP-a) sadržavaju drugi tip C-esteraze, i to u pretežno skrivenom obliku, tj. vezan na prirodni inhibitor. Od prirodnog inhibitora C II-esteraza odvaja se djelovanjem p-kloromerkuribenzoata. Karakter prirodnog inhibitora autori nisu uspjeli otkriti.

C I- i C II-esteraza razlikuju se po osjetljivosti prema sulfihidrilnim inhibitorima (C I-esteraza neosjetljiva) i adsorpciji na DEAE-celulozu. Oba tipa C-esteraze pokazuju neuobičajen tok zavisnosti pH s p-nitrofenilacetatom kao supstratom. Brzina hidrolize s porastom pH stalno raste. Takvu zavisnost pokazuje i enzim kimotripsin. Hidrolitički mehanizmi tih dvaju enzima ne mogu dakle biti u osnovi različiti. Kako je poznato da kimotripsin u svom aktivnom centru sadržava imidazol (Dixon i Neurath, 1957), vjerojatno je da će ta grupa predstavljati bitnu sastojku aktivne površine C-esteraza.

M. ŠKRINJARIĆ-ŠPOLJAR

## P R O F E S I O N A L N E B O L E S T I

**Difuzna fibroza pluća kod osobe izložene prašini kobalta i tungstenova karbida** (Fibrose pulmonaire diffuse chez un sujet exposé aux poussières de cobalt et de carbure de tungstène), DESOILLE, H., i dr., Arch. Mal. Prof., 23 (1962), 570.

Autori objavljuju prvi slučaj profesionalne pneumokonioze tvrdih metala u Francuskoj. U ovom slučaju radi se o 57-godišnjem radniku, koji je pri radu bio više od 10 godina izložen prašini kobalta i tungstenova karbida.

Difuzna fibroza pluća bila je dokazana kliničkim, rendgenološkim i spirometrijskim ispitivanjima kao i biopsijom pluća. Pregledom ostalih radnika istog pogona nije utvrđen više ni jedan slučaj fibroze pluća.

Svoj slučaj autori uspoređuju sa već objavljenim slučajevima u literaturi, upozoravaju na toksičnost kobalta i tungstenova karbida i preporučuju na oprez pri radu sa tvrdim metalima.

A. MARKIĆEVIĆ

## ANALIZA ATMOSFERE I BIOLOŠKOG MATERIJALA

**Uklanjanje utjecaja dušikova dioksida pri određivanju sumpornog dioksida** (Elimination of Nitrogen Dioxide Interference in the Determination of Sulfur Dioxide), WEST, P. W., ORDOVEZA FE., Anal. Chem. 34 (1962) 1324.

Za određivanje sumpornog dioksida u zraku mnogo se primjenjuje West-Gaekova spektrofotometrijska metoda pomoću p-rozanilinhidroklorida. Metoda je vrlo osjetljiva i tačna. Ostali spojevi sumpora ne smetaju pri ovoj reakciji. Jedina značajnija smetnja je dušikov dioksid.

Koncentracije dušikova dioksida koje su veće od 2 p. p. m. uzrokuju slabljenje nastale boje. Autori su opisali modifikaciju ove spektrofotometrijske metode, kojom se potpuno uklanja smetnja koju uvjetuje prisutnost dušikovih oksida. To se postižava dodatkom  $\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$  u natrijev tetrakloromerkurat, koji služi kao apsorpciono sredstvo za sumporni dioksid. Cijeli postupak je inače potpuno identičan s metodom West i Gaeka.

Autori su vršili niz pokusa, da bi odredili optimalnu koncentraciju  $\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$  i ustanovili su da je to 0,06%. Zatim su ispitivali stabilnost otopine natrijeva tetrakloromerkurata, kojoj je dodano 0,06%  $\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$ , ponavljanjem analize otopine sa 0,1  $\mu\text{g}$   $\text{SO}_2/\text{ml}$ . Nije primijećena nestabilnost ove otopine kroz period od dva deset jednog dana.

Spektrofotometrijska mjerenja vrše se kod valne duljine od 560 m $\mu$ . Sumporni dioksid se može kvantitativno odrediti bez gubitaka u roku od 48 sati poslije uzimanja uzoraka. Dulji interval se ne preporučuje, jer se mogu dobiti pogrešni rezultati. To je nedostatak ovog modificiranog postupka.

M. GENTILIZZA

**Određivanje stvarne količine klorida u biološkim tekućinama i tkivima. I Analiza razređivanjem izotopa klora 36** (Determination of the True Chloride Content of Biological Fluids and Tissues. I. Analysis by Chlorine 36 Isotope Dilution), COTLOVE, E., Anal. Chem., 35 (1963) 95.

Opisana je izotopna metoda sa  $\text{Cl}^{36}$  za određivanje stvarne količine ukupnog klorida u biološkoj tekućini ili tkivu. Preciznost mjerenja iznosi  $\pm 0,6\%$  (relativna standardna devijacija) kod količine od 150 do 250  $\mu$  ekvivalenata klorida. Metoda obuhvaća potpunu izmjenu stabilnog klorida s dodanim radioaktivnim kloridom poznate određene specifične aktivnosti. Izmjena se vrši u otopini koja je priređena toplim alkalnim rastvaranjem uzorka. Otopina se zatim prečišćava i određuje tačna vrijednost oslabljene specifične aktivnosti. Radiološko ispitivanje se vrši brojenjem neodređenog sloja tekućine, a kemijsko ispitivanje automatskom kulometrijskom-ampermetrijskom titracijom sa srebrnim ionom.

Opisana izotopna metoda može služiti kao standard za razradu jednostavnijih metoda za određivanje klorida u biološkim materijalima.

J. MATKOVIĆ

**Kromatografsko određivanje steroida iz ukupnih ekstrakata lipida** (Chromatographic Separation of the Steroids from Total Lipide Extracts), HERNANDEZ, R. Jr., AXELROD, L. R., Anal. Chem. 35 (1963) 80.

Autori opisuju kromatografsku metodu za odjeljivanje steroida iz ukupnih ekstrakata lipida.

Kolona za kromatografiju sastoji se od standardnog silicijskog dioksida, aktivnosti II-B, u staklenom valjku. Za razvijanje kolone upotrebljavaju se razna otapala; benzen (ili pentan-eter 4 : 1 vol.) za uklanjanje masti, masnih kiselina, sterola i kolesterola, te kolesterol-estera, zatim aceton-kloroform (2 : 1 vol) za uklanjanje steroida i konačno apsolutni metanol za uklanjanje većine fosfolipida ako se želi vršiti dalja analiza.

Iskorištenje na steroidima određeno je sa  $Cl^{14}$  - označenim steroidima i mikroorganskim reakcijama, testovima mrlja (spot test). To iskorištenje je bolje od 95% i rezultati se mogu veoma dobro reproducirati.

Ovom metodom se uklanja 94% i više od lipidnog materijala.

J. MATKOVIĆ

**Kemijsko mikroodređivanje derivata fenil- i tolilsulfoniluree u krvi** (Chemical Microdetermination of Phenyl- and Tolylsulfonylurea Derivates in Blood), KERN, W., Anal. Chem., 35 (1963) 50.

Opisana je nova spektrofotometrijska mikrometoda za određivanje derivata fenil- i tolilsulfoniluree u krvi. Metoda se osniva na njihovoj selektivnoj ekstrakciji iz krvi s organskim otapalima kod  $pH = 5$ . EEkstrahirani spojevi se nitriraju i reduciraju u aromatske amine, koji se zatim diazotiraju i spajaju sa N(1-naftil)etilen-diaminom. Kod toga nastaju azo boje, koje se mjere spektrofotometrijski.

Optimalni pokusni uvjeti su dobiveni sa 1-cikloheksil-3-fenilsulfonil-ureom. Isto tako dobri rezultati su dobiveni sa svim derivatima tolila.

Autori predlažu primjenu te metode i za određivanje aromatskih spojeva.

J. MATKOVIĆ

**Imuno-elektroforetsko ispitivanje serumskih bjelančevina kod profesionalnog saturnizma** (Etude immuno-électrophorétique des protéines sériques dans le saturnisme professionnel), MÜLLER, M., FONTAINE, G., LELEU, G.; Arch. Mal. Prof., 23 (1962), 37.

Kao što je poznato iz dosadašnjih radova, ispitivanja serumskih bjelančevina metodom elektroforeze na papiru pokazala su kod saturnizama konstantne manje poremećaje bjelančevina u smislu hipoalbuminemije i hiperglobulinemije, naročito gama-frakcije.

Autori su u ovom radu ispitivali serumske bjelančevine u 18 slučajeva profesionalnog saturnizma jednom specijalnom metodom imuno-elektroforeze »en gelose«. Rezultati toga ispitivanja pokazali su umjereno povećanje gama-globulina i transferrina, a neznatno povećanje haptoglobina.

A. MARKIĆEVIĆ