

*Szanownemu Panu Profesorowi Lechowi Wojtczakowi z wyrazami szacunku i sympatii*

STANISŁAW PRZESTALSKI, JANINA KUCZERA, HALINA KLESZCZYŃSKA,  
JANINA GABRIELSKA, JANUSZ SARAPUK, JERZY HŁADYSZOWSKI, TERESA KRAL,  
ZENON TRELA

*Katedra Fizyki i Biofizyki Akademii Rolniczej we Wrocławiu  
Norwida 25, 50-375 Wrocław*

## WPLYW ORGANICZNYCH ZWIĄZKÓW CYNY I OŁOWIU NA BŁONY BIOLOGICZNE I MODELOWE

### WSTĘP

Związki organiczne zawierające w cząsteczce co najmniej jeden atom metalu połączone bezpośrednim wiązaniem z atomem węgla nazywamy związkami metaloorganicznymi. Mają one budowę:



gdzie R oznacza rodnik organiczny (np. alkilowy, aryłowy i inne), Me — metal, X —grupe anionową (może to być np. chlorowec, grupa alkoksylowa lub inne), n i m — liczby grup funkcyjnych.

Związki te wpływają na organizmy żywe (THAYER 1974). Jeśli sam metal jest toksyczny to jego organiczne pochodne są również toksyczne, na ogół bardziej niż metal. Metale, które same przez się nie są szkodliwe, mogą nabyć właściwości toksycznych po połączeniu z grupami organicznymi. Czym większe są grupy organiczne i im bardziej są lipofilowe, tym bardziej są toksyczne odpowiednie związki metaloorganiczne. Pochodne alkilowe są odpowie-

dzialne za większą toksyczność aniżeli pochodne aryłowe, a wszystkie związki organiczne są bardziej toksyczne aniżeli odpowiednie związki nieorganiczne. Jeśli grupy anionowe związków są dużymi grupami organicznymi, to mogą zmienić aktywność biologiczną związków metaloorganicznych; takie duże grupy organiczne mogą mieć wpływ na centralnie położony atom metalu i zmieniać jego toksyczność. Wpływ ten jest nieznaczny, jeśli są małymi i łatwo dysocjującymi grupami.

Organiczne związki ołowiu i cyny wymagają specjalnych badań, ponieważ ich zawartość w naszym otoczeniu stale wzrasta i zwiększa się zagrożenie dla świata organicznego narażonego na ich wpływy. Pomimo prowadzonych od dłuższego już czasu badań nad oddziaływaniem tych związków na ludzi, zwierzęta, rośliny, komórki i struktury subkomórkowe oraz molekularne (np. białka cytoplazmatyczne) mechanizm tych oddziaływań nie jest zadawalająco poznany.

### WYSTĘPOWANIE I POCHODZENIE ORGANICZNYCH ZWIĄZKÓW CYNY I OŁOWIU ORAZ BADANIA ICH WPLYWU NA ORGANIZMY ŻYWE

Organiczne związki cyny w środowisku są na ogół pochodzenia antropogenicznego; wyjątkiem są metylowe pochodne cyny, które mogą powstawać również w wyniku metylacji biologicznej. Organiczne związki cyny w zastosowaniach przemysłowych zostały zarejestrowane po

raz pierwszy w 1936 roku. Produkcja ich stale wzrasta. W 1955 roku wyniosła ona około 5000 ton, a obecnie roczną produkcję tych związków szacuje się na 50 000 ton (MERCIER i współaut. 1994). Znajdują one zastosowanie w takich gałęziach przemysłu, jak przemysł farbiarski

(szczególnie jako środki przeciwporostowe w farbach przeznaczonych do malowania statków i różnych konstrukcji podwodnych), przemysł tworzyw sztucznych (w szczególności jako stabilizatory w produkcji chlorku poliwinylowego i jako katalizatory w produkcji poliuretanu) oraz w produkcji środków ochrony roślin w postaci pestycydów (fungicydów, herbicydów, insektycydów i innych) i środków konserwujących (np. drewno).

Źródłem związków organicznych ołowiu, podobnie jak w przypadku związków cyny, są również różnego rodzaju ksenobiotyki (na przykład pestycydy), ale przede wszystkim (od lat 20-tych) jest nim benzyna zawierająca substancje przeciwstukowe, głównie tetrametylołów i tetraetylołów, które przedostają się do atmosfery wraz z gazami silników spalinowych. Wprawdzie stosowanie tych związków w wielu krajach uległo ostatnio ograniczeniu, jednak w wielu innych nawet wzrosło. W latach 80-tych produkcja tych związków była szacowana na 200 000 ton rocznie (CRAIG 1982).

Toksyczność związków organicznych cyny i ołowiu jest znacznie większa od toksyczności nieorganicznych form tych metali (na temat toksyczności związków nieorganicznych cyny i ołowiu istnieje obszerna literatura, również w piśmiennictwie polskim, np. BADURA 1994, WIERZBICKA 1995). Znacznie większą toksyczność związków organicznych (w odniesieniu do świata zwierzęcego) przypisuje się między innymi większej ich rozpuszczalności w tkance tłuszczowej niż ich analogów nieorganicznych (CRAIG 1982). Wskutek wysokiej szkodliwości dla organizmów żywych, z której wynika ich zastosowanie jako biocydów (związki cyny bywają również stosowane jako leki przeciwnowotworowe; GIELEN 1994).

Wpływ tych związków na poziomie komórkowym przejawia się między innymi uszkodzeniem lub zniszczeniem podstawowych organelli komórkowych oraz zaburzeniem wielu istotnych procesów biologicznych. Na przykład związki organiczne ołowiu (w szczególności trójalkilowe pochodne ołowiu) blokują fosforylację oksydacyjną w mitochondriach (ALDRIDGE i współaut. 1962), niszczą takie struktury cytoskieletu, jak między innymi mikrotubule (ZIMMERMANN i współaut. 1988), w roślinach hamują aktywność fotosyntetyczną (MARCHETTI 1987), wywołują zmiany w aparacie Golgiego i wpływają na proces mitozy (AHLBERG i współaut. 1972,

RODERER 1980) oraz hamują aktywny transport jonów i substancji organicznych.

Podobnie obserwuje się różnorodne wpływy organicznych związków cyny na strukturę komórek i procesy komórkowe takie jak hamowanie hemotaksji (ARAKAWA i WADA 1984) i transportu elektronów w mitochondriach, chloroplastach i komórkach bakterii. W chloroplastach związki cyny powodują: hamowanie fosforylacji, rozprężanie i inhibicję transportu elektronów. W komórkach bakterii stwierdzono z kolei, że  $R_3Sn^+$  hamuje aktywność ATPazy membranowej oraz syntezę DNA i RNA (FENT 1996).

Wpływ związków toksycznych na organizmy żywe bada się różnymi metodami. W stosunku do organizmów doświadczalnych za miarę toksyczności przyjmuje się często  $CL_{50}$ , czyli stężenie związku wywołujące śmierć połowy badanej populacji, lub  $CI_{50}$  — czyli stężenie wywołujące zahamowanie wybranych reakcji do 50%. Od pewnego czasu są popularne przewidywania toksyczności metodą QSAR (quantitative structure — activity relationship), co wymaga doboru odpowiednich fizykochemicznych i topologicznych parametrów (VIGHI i CALAMARI 1985, LAUGHLIN i współaut. 1985, ENG i współaut. 1991, HAMASAKI i współaut. 1995). Wbrew nadziejom metoda ta ma jednak ograniczoną skuteczność (FENT 1996).

Niezależnie od rodzaju organizmu żywego rozważane związki albo oddziałują z błonami biologicznymi (błonami tkankowymi, błonami komórkowymi i błonami organelli komórkowych) albo co najmniej przechodzą przez te błony i wywierają swoje działanie wewnątrz różnych przedziałów układu żywego. Tak więc wydaje się, że błony w każdym przypadku muszą być zaangażowane w procesach oddziaływań związków metaloorganicznych z organizmami żywymi. Z tego względu można sądzić, że właściwą drogą do określenia toksyczności rozważanych związków jest zbadanie ich wpływu na błony biologiczne (lub ich modele). Istnienie wpływu tych związków na błony jest dobrze udokumentowane, jednakże nie ma pełnego obrazu tych oddziaływań na poziomie molekularnym. Określenie mechanizmu ich miałyby znaczenie nie tylko poznawcze, ale mogłoby być pomocne w testowaniu toksyczności tych związków i być może, w poszukiwaniu środków ochronnych, przeciwdziałających toksycznemu działaniu omawianych związków.

#### ZWIĄZKI ORGANICZNE OŁOWIU I CYNY

W przedstawionym przeglądzie omawiamy oddziaływania z błonami biologicznymi i mode-

lowymi następujących związków organicznych ołowiu i cyny:

- chlorotrimetylołów( $\text{Met}_3\text{PbCl}$ ),
- chlorotrietylołów( $\text{Et}_3\text{PbCl}$ ),
- chlorotripropylołów( $\text{Prop}_3\text{PbCl}$ ),
- chlorotributylołów( $\text{But}_3\text{PbCl}$ ),
- chlorotrifenyllołów( $\text{Fen}_3\text{PbCl}$ ),
- chlorotrimetylocyna( $\text{Met}_3\text{SnCl}$ ),
- chlorotrietylocyna( $\text{Et}_3\text{SnCl}$ ),
- chlorotripropylocyna( $\text{Prop}_3\text{SnCl}$ ),
- chlorotributylocyna( $\text{But}_3\text{SnCl}$ ) i
- chlorotrifenyllocyna( $\text{Fen}_3\text{SnCl}$ ).

Ogólnie możemy je przedstawić w postaci:



gdzie R jest rodnikiem alkilowym lub fenylo-  
wym, Me — metalem (Pb lub Sn), Cl — chlorem.  
Badane związki poza związkami fenyłowymi  
stanowią dwa szeregi homologiczne o wzrastają-  
cej długości łańcuchów alkilowych.

W roztworze wodnym powstają różne stru-  
ktury zarówno jonowe, jak i cząsteczkowe. Mo-  
żemy się spodziewać powstawania następują-  
cych form:



przy czym procentowa zawartość różnych form  
zależy od różnych czynników, takich jak rodzaj  
związku, pH, siła jonowa i inne. Na przykład  
FENT (1996) wskazuje, że formy jonowe związ-

ków cyny przeważają w środowisku o  $\text{pH} < 7$ .  
Dla określenia i opisu oddziaływań rozważa-  
nych związków z błonami pożądana byłaby zna-  
jomość procentowej zawartości różnych form  
ich w wodzie oraz określenie współczynników  
podziałów między wodą i fazą lipidową. Dotych-  
czasowe badania specjacji chemicznej w orga-  
nicznych związkach cyny i ołowiu mają chara-  
kter jedynie fragmentaryczny. W wielu pracach  
(np. HAGER i współaut. 1987, ENDRES i FAUL-  
STICH 1989) rozważa się głównie wpływ jonów  
typu  $\text{R}_3\text{Me}^+$ .

Kształt przestrzenny rozważanych cząste-  
czek jest stale przedmiotem badań. Na przykład  
MUSMECI i współpracownicy (1992) uważają, że  
 $\text{R}_3\text{Sn}$  w błonie erythrocytarnej ma strukturę  
przestrzenną utworzoną przez złożone podsta-  
wami dwie trójścienne piramidy. W tak powsta-  
łej dwupiramidzie grupy organiczne są ułożone  
równikowo wokół centralnego atomu cyny, zaś  
jej wierzchołki tworzą przyłączone do cyny czą-  
steczki wody. Nasze własne poglądy oparte na  
teoretycznych badaniach metodą modelowania  
molekularnego sugerują, że rozważane cząste-  
czki ołowiu mają podobny kształt do analogicz-  
nych cząsteczek cyny, a różnią się jedynie roz-  
miarami.

## WPLYW ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH CYNY I OŁOWIU NA BŁONY BIOLOGICZNE

Badania wpływu związków organicznych cy-  
ny i ołowiu na błony biologiczne odnoszą się do  
błon różnego rodzaju. My ograniczymy się do  
opisania tych wpływów na błony mitochondrial-  
ne, błony glonów i błony erythrocytarne.

### BŁONY MITOCHONDRIALNE

W roku 1955 ALDRIDGE i CREMER stwierdzili,  
że związki organiczne cyny blokują proces fos-  
forylacji oksydacyjnej w mitochondriach, a w  
1962 roku ALDRIDGE i współautorzy opisali po-  
dobny efekt wywołany organicznymi związkami  
ołowiu. Początkowo efekty te stwierdzono w  
mitochondriach szczura, a następnie w mitochon-  
driach innych organizmów. Na przykład  
ENDRES i FAULSTICH (1989) badali wpływ triety-  
lołowiu na ATPazę mitochondrialną endosper-  
my rycynusa (*Ricinus communis* L.) i na pobie-  
ranie sacharozy przez jego liścienie. Wykazali  
oni, że aktywne pobieranie sacharozy przez li-  
ścienie jest całkowicie i niespecyficznie hamo-  
wane przez trietylołów, co wynika z zahamo-  
wania syntezy ATP i w konsekwencji do zaha-  
mowania aktywnego transportu sacharozy. In-  
ne badania (SELVYN 1978) wskazały, że różno-

rodne efekty w błonach mitochondrialnych wy-  
wołują również organiczne związki cyny. Wpływ  
trójpodstawionych organicznych pochodnych  
cyny na rozprzęganie lub bezpośrednie hamo-  
wanie fosforylacji oksydacyjnej można tłumac-  
zyć w trojaki sposób (FENT 1996). Pierwszym  
możliwym mechanizmem wydaje się bezpośrednie  
hamowanie syntezy ATP przez  $\text{F}_0\text{F}_1$  ATPazę.  
Druga ewentualność może polegać na indukcji  
procesu wymiany  $\text{Cl}^-/\text{OH}^-$  poprzez wewnętrzną  
błonę mitochondrialną, co prowadzi do wyrów-  
nania różnic pH pomiędzy cytoplazmą i mitochon-  
drialną matriks. W tej sytuacji badane  
związki działałyby jak jonofory i związki roz-  
przegające. Trzecia możliwość mogłaby polegać  
na znacznym pęcznieniu mitochondriów pod  
wpływem rozważanych związków, czemu towa-  
rzyszyłby zanik większości funkcji energetycz-  
nych. Tak więc badania wpływu organicznych  
związków cyny i ołowiu na błony mitochondrial-  
ne nie dostarczyły do chwili obecnej jednozna-  
cznego wyjaśnienia mechanizmu tego procesu.  
Między innymi nie dyskutuje się tu ewentual-  
nego wpływu (lub braku wpływu) fazy lipidowej  
błon na rozważane procesy membranowe w mi-  
tochondriach.

## BŁONY KOMÓREK GLONÓW

Toksyczny wpływ organicznych związków cyny i ołowiu na komórki glonów przypisuje się między innymi zaburzeniu struktury błon tych organizmów. Na przykład toksyczność alkiloolowiu przypisuje się utracie pierwiastków śladowych wpływających z komórek, jeśli związek ten znajduje się w środowisku (RODERER 1983).

Duże rozmiary niektórych komórek glonów pozwalają na bezpośredni pomiar elektrycznych parametrów tych komórek, a przede wszystkim na pomiary zmian polaryzacji błon glonów. W badaniach międzywęzłowych komórek glonów *Nitellopsis obtusa* stwierdzono (TRELA i PRZESTALSKI 1997), że trójfenyloolów zmienia elektryczne właściwości tych błon. Związek ten, obecny w wodnym środowisku zewnętrznym w stężeniu 50  $\mu\text{M}$  powoduje depolaryzację błony i wzrost jej przewodności elektrycznej. Po godzinnej inkubacji komórek w roztworze trójfenyloolowiu średnie względne zmiany potencjału transmembranowego i przewodności elektrycznej wynosiły odpowiednio  $-0,1 \pm 0,04$  i  $0,33 \pm 0,08$ .

Zakładając, że spoczynkowe napięcie membranowe  $E$  jest wywołane głównie efektem elektrodyfuzyjnym (jak to zostało założone w badaniach innych substancji amfifilowych i ich wpływu na glony; PRZESTALSKI i współaut. 1991), to można je przedstawić za pomocą równania Goldmana-Hodgkina-Katza

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K K_o + P_{Na} Na_o + P_{Cl} Cl_i}{P_K K_i + P_{Na} Na_i + P_{Cl} Cl_o}$$

gdzie  $R$  — stała gazowa,  $T$  — temperatura,  $F$  — stała Faradaya,  $P_K$ ,  $P_{Na}$  i  $P_{Cl}$  — współczynniki przenikania odpowiednio dla jonów  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ , natomiast  $K_o$ ,  $Na_o$ ,  $Cl_o$ ,  $K_i$ ,  $Na_i$ ,  $Cl_i$  — stężenie tych jonów odpowiednio na zewnątrz (o) i wewnątrz (i) komórek.

Przewodność elektryczna błony jest związana ze strumieniami dyfuzyjnymi jonów zależnymi od współczynników przenikania. Obserwowana pod wpływem trójfenyloolowiu depolaryzacja błony wraz z towarzyszącym jej wzrostem przewodności elektrycznej pozwala sądzić, że badany związek powoduje wzrost przenikania jednego lub kilku z wymienionych jonów, przy czym licznik w równaniu musi wzrosnąć bardziej niż mianownik (depolaryzacja). Ponieważ w przypadku rozważanych komórek  $K_o < K_i$ ,  $Na_o < Na_i$  i  $Cl_o < Cl_i$  (OKIHARA i KIGOSAWA 1988), otrzymane wyniki mogą sugerować wzrost przewodnictwa jonów chlorkowych. Można więc spekulować, że jony  $R_3Pb^+$  penetrują błonę pla-

zmatyczną i oddziałują bezpośrednio lub pośrednio z białkami kanałowymi odpowiedzialnymi za transport jonów chlorkowych. Oddziaływanie takie jest, na przykład, możliwe poprzez zmianę potencjału transmembranowego w wyniku wzrostu gęstości powierzchniowej dodatniego ładunku elektrycznego kationów trójfenyloolowiu, co z kolei może aktywować napięciowo zależne kanały chlorkowe. Alternatywnie można zaobserwowane efekty wyjaśnić destrukcyjnym działaniem trójfenyloolowiu na fazę lipidową błony, powodującym być może lokalne rozluźnienie jej struktury i w konsekwencji niespecyficzny wyciek jonów.

## BŁONA ERYTROCYTÓW

Błona krwinek czerwonych jest szczególnie często badana. Większość prac poświęconych badaniom wpływu związków organicznych cyny i ołowiu na błony erytrocytów sprowadza się do określenia stopnia hemolizy wywołanego działaniem tych związków. Stwierdzono między innymi, że tributyllocyna w stężeniach wynoszących około 1  $\mu\text{M}$  i większych powoduje nieodwracalną zmianę kształtu erytrocytów ludzkich, a w stężeniach większych od 5  $\mu\text{M}$  hemolizę (GRAY i współaut. 1987), wywołaną zmianami w fizycznym stanie zarówno lipidów, jak i białek membranowych (BUTTERFIELD i współaut. 1991).

Porównanie działania związków organicznych cyny i działania związków organicznych ołowiu na błony krwinek czerwonych świni wskazało, że w badanym zakresie stężeń związki ołowiu działają bardziej aktywnie aniżeli odpowiednie związki cyny; a więc na przykład trietyloolów wywoływał większą hemolizę aniżeli trietyllocyna o tym samym stężeniu (KLESZCZYŃSKA i współaut. 1997). Efekt ten wyjaśniono na podstawie założenia, że za hemolizę krwinek są odpowiedzialne jony  $R_3M^+$ , a więc jony  $Et_3Pb^+$ ,  $Prop_3Pb^+$  i  $But_3Pb^+$  z jednej strony, a jony  $Et_3Sn^+$ ,  $Prop_3Sn^+$  i  $But_3Sn^+$  — drugiej. Pomiedzy kationami  $R_3Pb^+$  i  $R_3Sn^+$  i naładowaną ujemnie (głównie dzięki kwasowi sjałowemu) błoną erytrocytarną dochodzi do oddziaływań elektrostatycznych. Dla zorientowania się w tych oddziaływaniach obliczono (metodą modelowania molekularnego) potencjały elektrostatyczne badanych jonów (na ich powierzchniach Connolly'ego). Otrzymane wyniki są przedstawione w tabeli 1.

Jak widać, potencjał elektryczny każdego z jonów  $R_3Pb^+$  jest większy aniżeli potencjał elektryczny odpowiedniego jonu  $R_3Sn^+$ . Można więc sądzić, że przyciąganie elektrostatyczne między jonami  $R_3Pb^+$  i błoną jest nieco większe

aniżeli przyciąganie między jonami  $R_3Sn^+$  i błoną.

W zawiesinie erytrocytów i kationów  $R_3Me^+$  dochodzi do zderzania się krwinek i kationów zarówno dzięki termicznemu ruchowi składników zawiesiny, jak i w wyniku oddziaływań elektrostatycznych. Ze względu na większy potencjał elektryczny jonów  $R_3Pb^+$  od potencjałów

Tab. 1. Porównanie potencjałów elektrycznych otrzymanych drogą modelowania molekularnego jonów  $R_3Me^+$ .

EP oznacza maksymalną wartość potencjału elektrycznego (wyrażonego w  $e/A^0$ , gdzie  $e$  jest ładunkiem elementarnym,  $A^0$  — angstrom) na powierzchni Connolly'ego (KLESZCZYŃSKA i współaut. 1997).

Jon	EP[e/A <sup>0</sup> ]	Jon	EP[e/A <sup>0</sup> ]
Et <sub>3</sub> Pb <sup>+</sup>	149,86	Et <sub>3</sub> Sn <sup>+</sup>	145,50
Prop <sub>3</sub> Pb <sup>+</sup>	143,68	Prop <sub>3</sub> Sn <sup>+</sup>	137,36
But <sub>3</sub> Pb <sup>+</sup>	142,00	But <sub>3</sub> Sn <sup>+</sup>	135,53

jonów  $R_3Sn^+$  istnieje nieco większe prawdopodobieństwo zetknięcia się tych pierwszych jonów z błoną niż tych drugich. W konsekwencji można oczekiwać, że jony  $R_3Pb^+$  będą rzeczywiście wywoływać większą hemolizę aniżeli odpowiednie jony  $R_3Sn^+$ .

Z kolei wyniki badań zawartych w tej samej pracy wskazują, że stopień hemolizy wzrasta wraz z długością łańcucha organicznego w szeregu homologicznym danego metalu. I ten fakt eksperymentalny znajduje swoje odzwierciedlenie w tabeli 1. Wraz ze wzrostem rozmiarów łańcucha organicznego zmniejsza się w każdym szeregu potencjał elektryczny, co wskazuje na zwiększanie się hydrofobowości kationów, czyli na wzrost ich lipofilowości i większą łatwość w penetrowaniu fazy lipidowej błony.

Oddziaływania elektrostatyczne pomiędzy kationami  $R_3Me^+$  i fosfolipidami w innych błonach biologicznych wskazali również w swoich badaniach MUSMECI i współpracownicy (1992).

#### WPŁYW ORGANICZNYCH ZWIĄZKÓW CYNY I OŁOWIU NA MODELOWE BŁONY LIPIDOWE

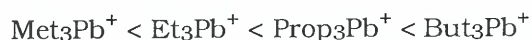
Lipidowe błony modelowe są powszechnie i szeroko stosowanym układem w badaniach membranowych, a w szczególności w badaniach wpływu różnorodnych substancji biologicznie czynnych na błony. W odniesieniu jednak do organicznych związków cyny i ołowiu są one dotychczas wykorzystywane bardzo rzadko.

W pracy HEYWOODA i współautorów (1989) wykorzystano liposomy lecytynowe i wskazano, że związki organiczne cyny najprawdopodobniej wiążą się z powierzchnią błon dzięki oddziaływaniom kulombowskim pomiędzy kationami  $R_3Sn^+$  i anionowymi grupami fosforanowymi cząsteczek lipidowych, z których zostały uformowane liposomy. AMBROSINI i współpracownicy (1996) wykorzystali sondy fluorescencyjne i stwierdzili, między innymi, że trifenylocyna gromadzi się w hydrofobowym wnętrzu dwuwarstwy lipidowej, natomiast dibutylocyna — w zewnętrznej warstwie polarnej błony lipidowej.

Nasze własne badania wpływu organicznych związków cyny i ołowiu na modelowe błony lipidowe miały na celu między innymi określenie zmian właściwości mechanicznych tych błon, ich zmian elektrycznych i opis procesu desorpcji wybranych jonów nieorganicznych z błon.

Zmiany trwałości mechanicznej błon badano stosując czarne błony lipidowe (BLM), które formowano z roztworu azolektyny w otworze o średnicy 1,7 mm znajdującym się w teflonowej

przegrodzie naczynia pomiarowego. Trwałość mechaniczna błon była określana za pomocą wielkości CC, stężenia krytycznego, które zostało określone jako takie stężenie związków  $R_3Me^+$ , które powodowały pęknięcie błon lipidowych w czasie nie dłuższym aniżeli 5 minut. Wyniki doświadczalne (GABRIELSKA i współaut. 1997) wskazały, że o efektywności oddziaływania alkiloorganicznych związków ołowiu z błonami decydowała rosnąca ze wzrostem długości łańcucha węglowodorowego lipofilowość danego związku. Efektywność tą można uszeregować w sekwencję



a wartości stężeń krytycznych dla tych związków zawiera poniższa tabela.

Tab. 2. Wartości stężeń krytycznych (CC) badanych alkiloorganicznych związków ołowiu

Związek	Met <sub>3</sub> PbCl	Et <sub>3</sub> PbCl	Prop <sub>3</sub> PbCl	But <sub>3</sub> PbCl
CC[M]	7,2 · 10 <sup>-4</sup>	5,6 · 10 <sup>-4</sup>	2,8 · 10 <sup>-4</sup>	1,2 · 10 <sup>-4</sup>

Oddziaływanie organicznych związków cyny z płaskimi błonami modelowymi było wyraźnie słabsze i w większości przypadków błony nie ulegały zniszczeniu dla wartości stężeń związków równych stężeniom nasycenia ( $\sim 10^{-4}$  M).

Czarne błony lipidowe zostały wykorzystane również do badań zmian ich parametrów elektrycznych (RADECKA i współaut. 1996). Pomia-

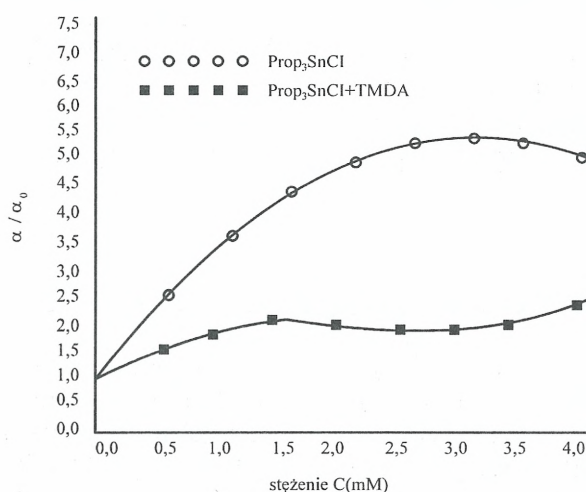
ry napięć elektrycznych wskazały, że pod wpływem badanych związków organicznych cyny dochodzi do depolaryzacji błon, przy czym stopień depolaryzacji jest związany z rozmiarami rodnika alkilowego, co wskazuje, że efekt ten jest zależny od stopnia lipofilowości rozważanych związków cyny.

Badania desorpcji jonów wapnia  $\text{Ca}^{2+}$  i prazeodymu  $\text{Pr}^{3+}$  zrealizowano (KUCZERA i współaut. Appl. Organomet. Chem., w druku) z pomocą liposomów. Liposomy lecytynowe inkubowano w roztworze zawierającym znaczone jony wapnia  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  (względnie jony prazeodymu  $\text{Pr}^{3+}$ ). Następnie, stosując metodę izotopową (w odniesieniu do jonów wapnia) lub metodę NMR (w odniesieniu do jonów  $\text{Pr}^{3+}$ ) wykazano, że trialkilowe związki cyny (chlorki trimetylo-, trietylo- i tripropylocyny) wywierają wpływ na procesy desorpcji jonów wapnia i prazeodymu z błon liposomów. Związki te powodowały wzrost stałych kinetycznych procesów wraz ze wzrostem stężenia i długości łańcuchów alkilowych, co sugeruje, że trialkilowe jony cyny, konkurują z jonami  $\text{Ca}^{2+}$  lub  $\text{Pr}^{3+}$  o centra wiążące w grupach fosforanowych części polarnej błony. Wzrost długości łańcuchów alkilowych, powodując wzrost hydrofobowości tych związków zwiększał ich współczynnik podziału między fazę lipidową i fazę wodną, co powodowało wzrost szybkości stałych badanych procesów.

Naturalne środowisko jest skażone nie tylko związkami metaloorganicznymi lecz także innymi związkami, między innymi detergentami. Z tego względu autorzy przeprowadzili badania współdziałania obydwu grup związków. Stwierdzono, że procesy desorpcji jonów  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Pr}^{3+}$  z błon liposomów lecytynowych, modyfikowanych uprzednio kationowym detergentem, chlorkiem dodecylotrimetyloamoniowym (TMDA) lub detergentem anionowym, dodecylosulfonianem sodowym przebiegają inaczej niż dla błon niemodyfikowanych. Detergent anionowy spowodował znaczne wzmocnienie wpływu związków metaloorganicznych na błony, natomiast detergent kationowy znacznie zahamował desorpcję jonów. Należy przypuszczać, że związki amfifilowe, wbudowując się do błony zmieniają jej ładunek powierzchniowy wpływając na oddziaływania elektrostatyczne między błoną a jonami  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Pr}^{3+}$  oraz jonami organicznymi cyny, a tym samym na proces desorpcji. Zastosowanie w badaniach obydwu detergentów zostało oparte na wynikach poprzednich eksperymentów (KUCZERA i współaut. 1996), które wskazały, że te biologicznie czynne związki przyspieszają proces desorpcji jonów wapnia z błon liposomów. Ponadto zwrócono uwagę, że stałe kinety-

czne tego procesu mogą stanowić miarę toksyczności detergentów.

Błony liposomów modyfikowane detergentami anionowymi, zawierające znaczone jony wapnia, wykazywały pod wpływem kationów  $\text{R}_3\text{Sn}^+$  znaczne przyspieszenie procesu desorpcji jonów wapnia. Natomiast błony liposomów modyfikowane detergentami kationowymi (o stężeniach nie niszczących błon) wykazywały wyraźne zahamowanie tego procesu (rys. 1). Rysunek 1 wskazuje zależność desorpcji jonów wapnia z liposomów nie modyfikowanych i modyfikowanych za pomocą TMDA od stężenia jonów trimetylocyny. Jak widać, TMDA chroni błonę przed działaniem trimetylocyny.



Rys. 1. Zależność między stałą kinetyczną  $\alpha/\alpha_0$  procesu desorpcji jonów wapnia z błon liposomów lecytynowych i stężeniem każdego z badanych związków.

$\alpha$  — stała kinetyczna procesu w obecności badanych związków  $\text{Prop}_3\text{SnCl}$  lub  $(\text{Prop}_3\text{SnCl} + \text{TMDA})$ ,  $\alpha_0$  — stała kinetyczna procesu w nieobecności tych związków.

Badania wpływu organicznych związków cyny i ołowiu na błony lipidowe wskazują na ich działanie zarówno na ich właściwości mechaniczne, jak i elektryczne. Fakt ten pozwala sądzić, że również w błonach biologicznych badane związki oddziałują z fazą lipidową tych błon. Pozostaje sprawą otwartą wykazanie, w jakim stopniu badane substancje bezpośrednio wpływają na białka membranowe, a w jakim stopniu pośrednio poprzez lipidy dwuwarstwy błony biologicznej. Elektrostatyczne oddziaływania pomiędzy badanymi związkami a błonami zarówno modelowymi, jak i biologicznymi pozwalają sądzić, że odpowiednie zmiany polaryzacji błon mogą stanowić jedną z możliwych dróg (poza innymi, jak na przykład naturalnymi mechanizmami odpornościowymi) prowadzącą do ochrony komórek przed toksycznymi działaniami związków organicznych cyny i ołowiu.

## EFFECT OF ORGANIC COMPOUNDS OF TIN AND LEAD ON MEMBRANES

## Summary

The work is concerned with the toxic effect of organic compounds of tin and lead on living organisms and the menace they constitute to the environment. The effect of the compounds on living organisms takes place at various levels of their organization. However, since the compounds are membrane active, in the present paper their interaction with biological and model membranes has been highlighted. The compounds affect various properties of biological membranes (as discussed taking as examples mitochondrial,

algal and erythrocyte membranes) and model lipid membranes (in the form of flat lecithin BLMs and liposome membranes). Among the main conclusions are: 1. The compounds studied affect (among others) both the mechanical and electrical properties of membranes. 2. The compounds do modify the lipid phase of membranes. 3. Suitable changes in electrical polarization of membranes may have a protective effect against these compounds.

## LITERATURA

- AHLBERG J., RAMEL C., WACHTMEISTER C., 1972. *Organolead compounds shown to be genetically active*. *Ambio* 1, 29–31.
- ALDRIDGE W., CREMER J., 1955. *The biochemistry of organotin compounds*. *Biochem. J.* 61, 406–418.
- ALDRIDGE W., CREMER J., THRELFALL C., 1962. *Trialkyllead and oxidative phosphorylation; a study of the action of trialkylleads upon rat liver mitochondria and rat brain cortex slices*. *Biochem. Pharmacol.* 11, 835–846.
- AMBROSINI A., BERTOLI E., ZOLESE G., 1996. *Effect of organotin compounds on membrane lipids: Fluorescent spectroscopy studies*. *Appl. Organomet. Chem.* 10, 53–59.
- ARAKAWA Y., WADA O., 1984. *Inhibition of neutrophil chemotaxis by organotin compounds*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2, 543–548.
- BADURA L., 1994. *Wpływ metali ciężkich na organizmy żywe*. [W:] *Środowisko a zdrowie*, SMYK B., SZEWCZYK J. (red.), Regia Pol. Częstochowa, 31–50.
- BUTTERFIELD D., SCHNEIDER A., RANGACHARI A., 1991. *Electron paramagnetic resonance studies of the effects of tri-n-butyltin on the physical state of proteins and lipids in erythrocyte membranes*. *Chem. Res. Toxicol.* 4, 141–146.
- CRAIG P. I., 1982. *Environmental aspects of organometallic chemistry*. [W:] *Comprehensive Organometallic Chemistry*, WILKINSON G., GORDON F., STONE A., ABEL E. (red.), Pergamon Press, Oxford 979–1019.
- ENDRES K., FAULSTICH H., 1989. *Triethyllead inhibits mitochondrial ATPase of the endosperm and sucrose uptake in the cotyledons of Ricinus communis*. *J. Plant Physiol.* 133, 531–536.
- ENG G., TIERNEY E., OLSON G. I., BRINCKMAN F., BELLAMA J., 1991. *Total surface areas of group IV A organometallic compounds: Predictors of toxicity to algae and bacteria*. *Appl. Organomet. Chem.* 5, 33–37.
- FENT K., 1996. *Ecotoxicology of organotin compounds*. *Crit. Rev. Toxicol.* 26, 1–117.
- GIELEN M., 1994. *Tin-based antitumour drugs*. [W:] *Metal-based drugs*, KOZŁOWSKI H. (red.), Freund Publishing House LTD, London, 213–219.
- GRAY B., PORVAZNIK M., FLEMMING C., LEE L., 1987. *Organotin-induced cell hemolysis, shape transformation and intramembranous aggregates in human erythrocytes*. *Cell Biol. Toxicol.* 3, 23–38.
- GABRIELSKA J., SARAPUK J., PRZESTALSKI S., 1997. *Role of hydrophobic and hydrophilic interactions of organotin and organolead compounds with model lipid membranes*. *Z. Naturforsch.* 52 c (w druku).
- HAGER A., MOSER I., BERTHOLD W., 1987. *Organolead toxicity in plants: Triethyllead (Et<sub>3</sub>Pb<sup>+</sup>) acts as a powerful transmembrane Cl<sup>-</sup>/OH<sup>-</sup> exchanger dissipating H<sup>+</sup> gradients at nano-molar levels*. *Z. Naturforsch.* 42c, 1116–1120.
- HAMASAKI T., MASUMOTO H., SATO T., HAGASE H., KITO H., YOSHIOKA Y., 1995. *Estimation of the hemolytic effects of various organotin compounds by structure-activity relationships*. *Appl. Organomet. Chem.* 9, 95–104.
- HEYWOOD B., MOLLOY K., WATERFIELD P., 1989. *Organotin biocides XV: Modelling the interactions of triorganotins with cell membranes*. *Appl. Organomet. Chem.* 3, 443–450.
- KLESZCZYŃSKA H., HŁADYSZOWSKI J., PRUCHNIK H., PRZESTALSKI S., 1997. *Erythrocyte hemolysis by organic tin and lead compounds*. *Z. Naturforsch.* 52c (w druku).
- KUCZERA J., CHOJNACKI H., KRAL T., PRZESTALSKI S., 1996. *Effect of amphiphilic cationic compounds on calcium ion desorption from lecithin liposome membranes. Kinetic studies and quantum chemical calculations*. *Z. Naturforsch.* 51c, 219–225.
- LAUGHLIN R.B., JOHANNESSEN R., FRENCH W., GUARD H., BRINCKMAN F., 1985. *Structure-activity relationship for organotin compounds*. *Environ. Toxicol. Chem.* 4, 343–351.
- MARCHETTI R., 1987. *Acute toxicity of alkyl leads to some marine organisms*. *Mar. Pollut. Bull.* 9, 206–207.
- MERCIER A., PEELLETIER E., HAMEL J. F., 1994. *Metabolism and subtle toxic effects of butyltin compounds in starfish*. *Aquat. Toxicol.* 28, 259–263.
- MUSMECI M., MADONIA G., LO GUIDISE M., SILVESTRI A., RUISI G., BARBIERI R., 1992. *Interactions with biological systems*. *Appl. Organomet. Chem.* 6, 127–138.
- OKIHARA A., KIGOSAWA K., 1988. *Ion composition of the Chara intermode*. *Plant Cell Physiol.* 21, 21–25.
- PRZESTALSKI S., JANAS T., TRELA Z., WITEK S., GWOŹDZIŃSKI K., 1991. *Voltammetric studies of the cell membrane of the alga Nitellopsis obtusa as amphiphilic derivatives of glycine esters*. *Physiol. Plant.* 83, 433–440.
- RADECKA H., SARAPUK J., ZIELIŃSKA D., PRZESTALSKI S., RADECKI J., CIECIÓRSKI B., 1996. *An attempt to explain the toxic properties of alkyl-lead derivatives towards plants on the base of studies on model lipid membranes*. *Medicina Preventiva*, 4, 87–92.
- RODERER G., 1980. *On the toxic effects of tetraethyl lead and its derivatives on the Chrysophyte Poterioochromonas malhamensis*. I. *Tetraethyllead*. *Envir. Res.* 23, 371–384.
- RODERER G., 1983. *On the toxic effects of tetraethyl lead and its derivatives on the Chrysophyte Poterioochromonas malhamensis IV. Influence of lead antidotes and related agents*. *Chem. Biol. Interactions* 46, 247–254.
- SELYN M., 1978. *Triorganotin compounds as ionophores and inhibitors of ion translocating ATPases*. [W:] *Organotin Compounds: New Chemistry and Applications*, ZUCKERMAN J. (red.), American Chemical Society, Washington, DC., 204–226.
- THAYER J., 1974. *Organometallic compounds and living organisms*. *J. Organomet. Chem.* 76, 265–295.

- TRELA Z., PRZESTALSKI S., 1997. *Effect of triphenyllead chloride on the resting potential and electrical conductance of Nitellopsis obtusa membrane*. Polish J. Environmental Study (praca przyjęta do druku).
- VIGHI M., CALAMARI D., 1985. *QSARs for organotin compounds on Dalphnia Magna*. Chemosphere 14, 1925-1932.
- WIERZBICKA M., 1995. *Oddziaływanie metali ciężkich na rośliny*. Kosmos 44, 639-651.
- ZIMMERMANN H., FAULSTICH H., HAENCH G., DOENGES K., STAURNOARAS C., 1988. *The interaction of triethyllead with tubulin and microtubules*. Mut. Res. 201, 293-302.