

Bożena Bukowska, Wirgiliusz Duda

WPLYW KWASU 2,4-DICHLOROFENOKSYOCTOWEGO NA OKSY- I DEOKSYHEMOGLOBINĘ CZŁOWIEKA

Niniejsza praca przedstawia wyniki badań dotyczące wpływu herbicydu o nazwie kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) na podstawowe dwie formy hemoglobiny człowieka, tj. oksy- i deoksy-Hb. Wyniki i wnioski pozwalają stwierdzić jednoznacznie, że 2,4-D powoduje stabilizację struktury T deoksy-Hb, zmniejszając tym samym zawartość formy oksy-Hb (odpowiedzialnej w ustroju za transport tlenu). Działając większymi dawkami 2,4-D obserwowano również powstawanie przejściowej formy ferryl-Hb z Fe^{4+} (lub H_2O -ferryl-Hb), która następnie przechodzi pod wpływem O_2 w formę met-Hb z Fe^{3+} (lub H_2O -met-Hb), nie posiadającej już zdolności transportowania tlenu z płuc do tkanek.

1. WSTĘP

Kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy należy do karboksylowych pochodnych aromatycznych. Stanowi przykład syntetycznej auksyny wykazującej dużą aktywność ze względu na: podstawienie atomem chloru pozycji para w pierścieniu fenylowym, wolną grupę karboksylową oraz obecność atomu węgla w grupie ($-CH_2$) między pierścieniem a wolną grupą karboksylową w łańcuchu bocznym. Produkowany jest w postaci kwasu, soli sodowej, a także estrów: butylowego, oktylowego, izopropylowego. Wchodzi w skład około dziesięciu herbicydów produkowanych w Polsce, np. Pielik, Aminopielik P, D i M, Herbatokol i Herbitor [17]. Jest defoliantem i ma szerokie zastosowanie w niszczeniu chwastów dwuliściennych w wielu grupach rolniczych, ogrodniczych, sadowniczych i leśnych. 2,4-D ułatwia zabiegi pielęgnacyjne w uprawach, co również zwiększa plony i powoduje wzrost stosowania tego związku; np. w 1986 r. 2,4-D był produkowany w 48 firmach, w 15 krajach i wchodził w skład ok. 231 handlowych preparatów herbicydowych [11].

Z auksynowym działaniem 2,4-D ściśle wiążą się również ujemne efekty wpływu tego herbicydu na rośliny, zwierzęta i ludzi. U roślin 2,4-D blokuje syntezę RNA, DNA, białek na poziomie molekularnym oraz proces pobierania

wody i soli mineralnych, przewodzenia i fotosyntezy na poziomie komórkowym [19]. Wiadomo również, że 2,4-D wpływa na syntezę chlorofilu, który ma układ protoporfiryny podobnie jak hemoglobina. Okres aktywności dla preparatów zawierających 2,4-D wynosi około 3 tygodni. Mimo to związek ten, stosowany w najmniejszych dopuszczalnych dawkach, może się kumulować w roślinach i pozostawać czynnym znacznie dłużej, np. w ziemniakach i owocach. 2,4-D powoduje także ograniczone kiełkowanie nasion wielu gatunków roślin, np. ogórków [18].

2,4-D wnika do organizmu człowieka drogą oddechową i pokarmową, powoduje indywidualne objawy alergii w postaci wysypek skórnych, podrażnienia błon śluzowych oczu [8], posiada właściwości teratogenne [4], w głównej mierze dzięki wysoce toksycznym n-chlorodibenzo-dioksynom, które powstają podczas produkcji 2,4-D w ilości ok. 2%. U osób narażonych na ekspozycję 2,4-D stwierdzono zmiany w zakresie EKG (wraz z wielkością przyjętej dawki wzrastała liczba osób z nieprawidłowym zapisem) [11]. U badanych szczurów, poddanych działaniu 2,4-D, zaobserwowano zmiany w EEG (częstotliwość elektrycznej aktywności mózgu), przy czym częstotliwości ulega zwolnieniu, a amplituda fal narasta aż do wystąpienia tzw. fal dużych [12, 22]; hamowanie aktywności katalazy we krwi; uszkodzenie wątroby; pojawienie się met-hemoglobiny we krwi i moczu i wzrost aktywności tarczycy [15]. U badanych zwierząt 2,4-D kumulował się w organizmie (po podaniu doustnym – tab. 1) i ulegał stosunkowo szybko przemianom [15]. Był wydalany z moczem w postaci nie zmienionej i zmetabolizowanej jako 2,4-dichlorofenol [10].

Tabela 1

Zawartość 2,4-D w niektórych tkankach i narządach szczurów po podaniu doustnym 2,4-D znakowanego ^{14}C [15]

Dawka 2,4-D w mg	Czas po podaniu w godz.	Zawartość 2,4-D podano w μg na 0,1 g tkanki odwodnionej				
		krw	wątroba	nerki	serce	mięśnie
1	1	0,53	0,20	1,73	0,15	0,02
	4	0,54	0,17	0,81	0,25	0,03
	8	1,00	0,44	5,20	0,46	0,09
	16	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01
10	4	41,4	19,2	32,2	17,7	6,8
	8	80,5	59,5	64,2	43,1	8,1
	17	66,6	44,5	70,2	35,1	16,6
	24	26,8	14,1	41,9	13,8	5,0
	41	0,7	1,5	1,8	0,7	0,5

Nie znany jest pełny mechanizm działania tego związku u człowieka i zwierząt na poziomie molekularnym, nie wiadomo bowiem, jakie są wszystkie drogi jego przemian. Trudno też przewidzieć efekty mutagennego działania 2,4-D. Fakt, że 2,4-D wpływa na układ porfirynowy białek oddechowych oraz powoduje występowanie hemoglobiny w moczu u osób zatrutych, zachęcił autorów do podjęcia próby wyjaśnienia mechanizmu działania 2,4-D na hemoglobinę.

2. MATERIAŁ I METODY

Do prowadzonych badań używano:

- hemoglobiny człowieka otrzymanej z masy erytrocytarnej krwi pobranej od dawców ze Stacji Krwiodawstwa w Łodzi,
- kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Methyl Ester, 99%, Serva), przeprowadzonego w 2,4-D-Na (sól sodową),
- argonu.

Zastosowano następujące metody preparatywne hemoglobiny (metoda podstawowa otrzymywania hemoglobiny według Drabkina [5]). Badania prowadzono na frakcji HbA₁, którą otrzymywano z hemolizatu w wyniku rozdziału chromatograficznego Hb na kolumnie ze złożem CM-32 celuloza, firmy Whatman, w gradiencie pH 6,7–8,0 i elucji buforem K-osforanowym o stężeniu 15 mmoli.

Metody analityczne. Stężenie Hb oznaczono w oparciu o metodę Drabkina [5], polegającą na przeprowadzeniu roztworu Hb w formę cyjanmet-Hb i pomiarze jej absorpcji w 540 nm.

Otrzymywanie oksy-Hb. Utlenowaną Hb otrzymywano przez wprowadzenie tlenu za pomocą kapilary do roztworu czystej frakcji HbA₁.

Otrzymywanie deoksy-Hb. Deoksy-Hb otrzymywano w wyniku odtlenowania oksy-Hb w tonometrze w atmosferze przepływającego argonu. Czystość otrzymanej formy deoksy sprawdzano wykreślając spektrofotometrycznie jej widmo w zakresie 440–700 nm.

Wyznaczanie $p_{1/2}O_2$. Do otrzymanej jak wyżej deoksy-Hb dodawano porcjami (po 1 ml) powietrze, a następnie obserwowano jej stopniowe utlenowanie do oksy-Hb. Obserwowano zanikanie jednego maksimum absorpcji przy 560 nm, charakterystycznego dla deoksy-Hb i pojawienie się dwóch maksimów absorpcji dla 540 i 578 nm, charakterystycznych dla formy oksy-Hb. Zmiany te rejestrowano spektrofotometrycznie za pomocą ciągłego pomiaru absorpcji, aż do osiągnięcia wartości stałej (100% utlenowania) hemoglobiny.

Wartość pO_2 obliczano ze wzoru [14]:

$$pO_2 = \frac{1}{V_c} (P_a V_a - 760 \cdot \frac{1,36 \cdot x \cdot y}{100}),$$

gdzie: pO_2 – ciśnienie cząstkowe tlenu,

P_a – ciśnienie tlenu w powietrzu w temp. 20°C (150 mmHg),

V_a – objętość dodawanego powietrza (suma),

x – ilość Hb w gramach,

y – % nasycenia tlenem Hb.

Wykreślano wykres zależności % HbO_2 od $f(\log pO_2)$ i wyliczano wartość $p_{1/2}O_2$. Następnie dla zależności

$$\log \frac{y}{1-y} = f(\log pO_2)$$

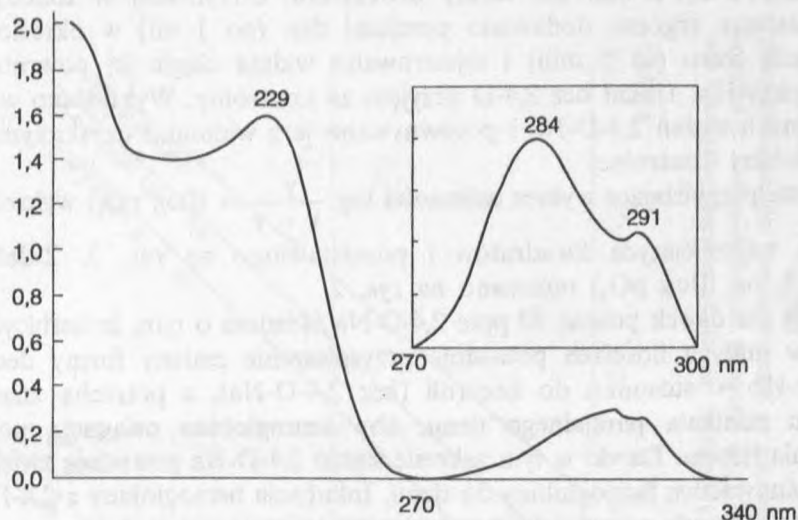
metodą najmniejszych kwadratów wyznaczano prostą, której nachylenie odpowiada wartości „n”.

3. WYNIKI

Frakcję A_1 hemoglobiny człowieka uzyskaną metodą chromatografii kolumnowej zamrażano w niskiej temperaturze i tak przechowywano. Do dalszych badań brano odmrożone poszczególne jej porcje. HbA_1 utlenia się tlenem z powietrza, zatem dysponowano formą oksy-Hb. Używano Hb o stałym stężeniu ok. 1,2 g/100 ml roztworu ($\pm 0,005$ g/100 ml roztworu).

Przygotowanie roztworu 2,4-D-Na. Do badań używano soli sodowej 2,4-D, ponieważ jest ona dobrze rozpuszczalna w roztworach wodnych. Sporządzono wyjściowy roztwór 2,4-D-Na o stężeniu 3000 ppm w środowisku zbliżonym do pH krwi ok. 7,43. Wykonano widmo dla roztworu 2,4-D-Na w zakresie UV i widzialnym. Stwierdzono występowanie charakterystycznych maksimów absorpcji dla 2,4-D przy 229 i 284 nm, co pokazano na rys. 1. W zakresie światła widzialnego od 340 do 750 nm nie obserwowano jakichkolwiek ekstremów widma. Pozwoliło to upewnić się, że 2,4-D swoją obecnością nie będzie zakłócał widma charakterystycznego dla hemoglobiny.

Zmiany w przebiegu widm deoksy- i oksy-Hb w zakresie fali od 440 do 700 nm pod wpływem 2,4-D-Na. Na dobrze utlenowaną hemoglobinę działano różnymi dawkami 2,4-D-Na (przy pełnym dostępie do roztworu tlenu), w zakresie od 10 do 1000 ppm. Nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian w przebiegu widma



Rys. 1. Widmo 2,4-D w zakresie UV

oksy-Hb z 2,4-D. Zaobserwowano jedynie niewielkie obniżenie szczytów α i β oksy-Hb dla dawek do ok. 200 ppm oraz ich niewielkie podwyższenie dla dawek wyższych, co również okazało się statystycznie niezmiennie. Wartości absorpcji były mierzone natychmiast po dodaniu 2,4-D-Na i nie ulegały zmianom w miarę upływu czasu. Uzyskane wyniki zamieszczono w tab. 2.

Tabela 2

Działanie różnych dawek 2,4-D na oksyhemoglobinę

Dawka 2,4-D-Na	Absorpcja	
	576 nm	542 nm
Kontrolna Hb	0,854	0,829
10 ppm	0,851	0,826
50 ppm	0,836	0,812
100 ppm	0,810	0,786
Kontrolna Hb	0,810	0,786
500 ppm	0,870	0,843
1000 ppm	0,877	0,847

Krzywe dysocjacji tlenowej hemoglobiny poddanej działaniu 2,4-D-Na. Do formy deoksy-Hb, otrzymanej w tonometrze w atmosferze argonu, dodawano porcjami tlen (po 1 ml) w określonych odstępach czasu (co 5 min) i rejestrowano widma ciągłe jej powrotu do formy oksy-Hb. Układ bez 2,4-D przyjęto za kontrolny. Wykreślano widma dla różnych stężeń 2,4-D-Na i porównywano je z widmami uzyskanymi dla hemoglobiny kontrolnej.

Proste przybliżające wykres zależności $\log \frac{y}{1-y} = f(\log pO_2)$ wykreślono metodą najmniejszych kwadratów i przedstawiono na rys. 3. Zależność % HbO₂ od $f(\log pO_2)$ pokazano na rys. 2.

Dane dla dawek poniżej 80 ppm 2,4-D-Na świadczą o tym, że herbicyd ten użyty w małych ilościach powoduje przyspieszenie zmiany formy deoksy- w oksy-Hb w stosunku do kontroli (bez 2,4-D-Na), z potrzebą znacznie niższego ciśnienia parcjalego tlenu, aby hemoglobina osiągnęła połowę wysycenia tlenem. Dawki w tym zakresie stężeń 2,4-D-Na powodują zwiększenie powinowactwa hemoglobiny do tlenu. Inkubacja hemoglobiny z 2,4-D-Na w zakresie dawek powyżej 80 ppm, powoduje następujące zmiany:

- 85 ppm powoduje, że deoksy-Hb bardzo szybko przechodzi w oksy-Hb, a następnie szczyty α i β odniżają się, zaś poziom met-Hb narasta. Ostateczna forma to met-Hb, co widoczne jest na rys. 4;

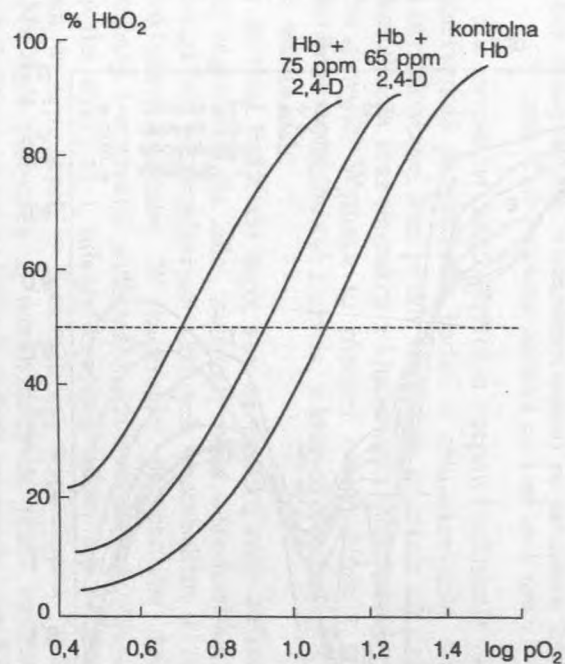
- 100 ppm powoduje już wyraźne zarysowanie się piku przy 528 nm i 558 nm, sugerujące powstanie formy H₂O-ferry-Hb. Po dodaniu bardzo małej ilości tlenu (ok. 1 ml) pozostają jeszcze znikome piki α i β formy oksy-Hb, a następne ilości tlenu powodują już całkowite przejście Hb w formę met-Hb, co pokazane jest na rys. 5;

- 115 i 165 ppm 2,4-D-Na, powoduje już bardzo wyraźne powstawanie formy H₂O-ferry-Hb, ze szczytami absorpcji przy 528 i 558 nm, przy czym powstała „nowa” forma Hb jest w tym układzie dość trwała, choć po podaniu najmniejszej porcji tlenu natychmiast przechodzi ona w met-Hb. Przedstawia to rys. 6.

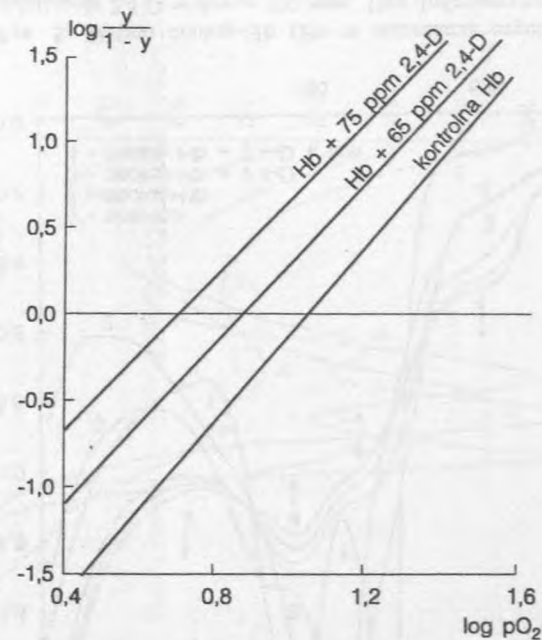
Zatem dawki powyżej 80 ppm 2,4-D-Na powodują powstawanie z deoksy-Hb (przy określonym „braku” tlenu) nowej formy H₂O-ferry-Hb i jest ona w tym układzie na tyle stała, iż daje się rejestrować metodą spektrofotometryczną, a dodanie stosunkowo małych ilości tlenu powoduje natychmiastowe jej przejście w formę met-Hb.

4. DYSKUSJA

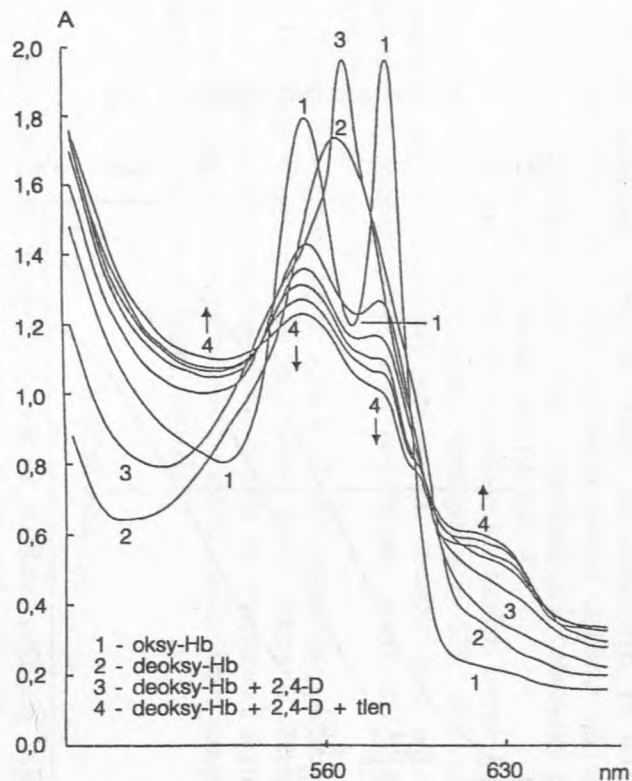
Aktualne dane, nowe dokładniejsze metody, odkrycia toksykologiczne oraz epidemiologiczne jak i chemii skażeń wskazują, że niektóre związki chemiczne, stosowane jako pestycydy, w tym także herbicydy są wybitnie



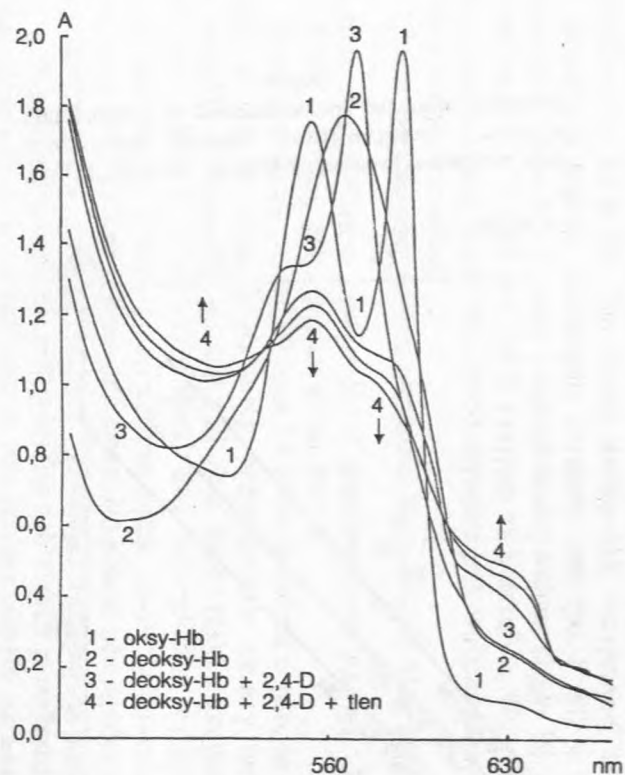
Rys. 2. Krzywe dysocjacji tlenowej



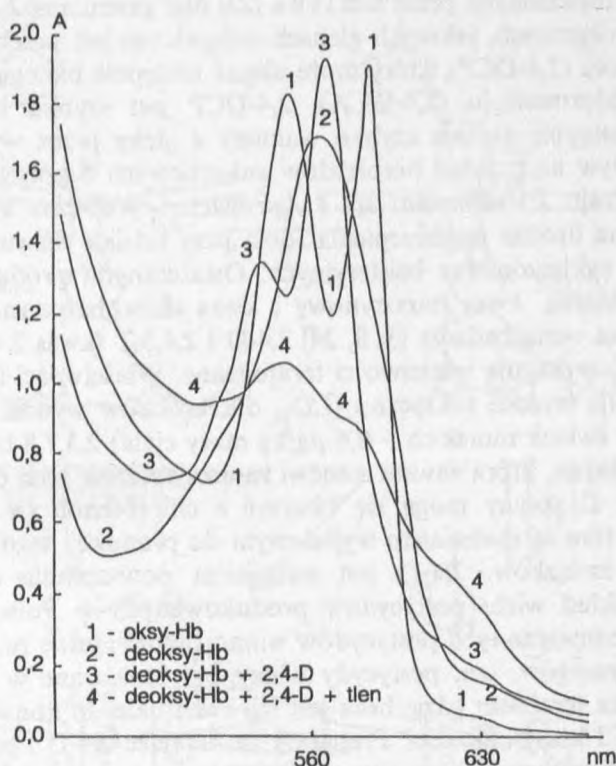
Rys. 3. Krzywa dysocjacji tlenowej wyrażona równaniem Hilla (przebieg prostej wyliczony z punktów pomiarowych za pomocą metody najmniejszych kwadratów)



Rys. 4. Widmo deoksy-Hb (Hb w atmosferze argonu) po zadziałaniu 2,4-D w dawce 80 ppm. Tlen dodawano porcjami po 1 ml co 5 min



Rys. 5. Widmo deoksy-Hb (Hb w atmosferze argonu) po zadziałaniu 2,4-D w dawce 100 ppm. Tlen dodawano porcjami po 1 ml co 5 min



Rys. 6. Widmo deoksy-Hb (Hb w atmosferze argonu) po zadziałaniu 2,4-D w dawce 150 ppm. Tlen dodawano porcjami po 1 ml co 5 min

szkodliwe dla zwierząt i ludzi. Szerokie rozpowszechnienie tych związków stwarza konieczność prowadzenia badań w celu określenia nie tylko dawki szkodliwej czy toksycznej, lecz przede wszystkim poznania ich dróg metabolicznego przekształcania oraz interakcji z kluczowymi związkami konstytucyjnymi organizmów żywych. Wymaga to również oceny, które z tych związków należy całkowicie wyeliminować z użycia, a których obecność jest dopuszczalna i w jakich warunkach.

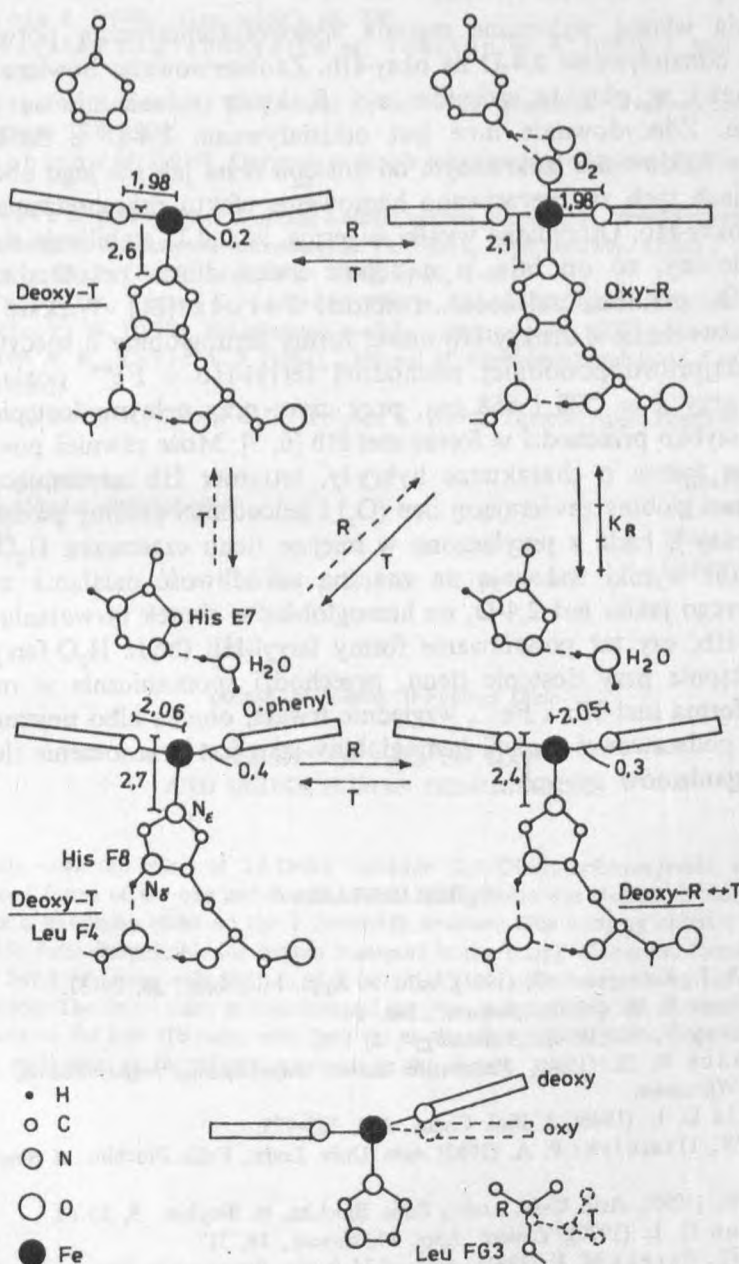
Należy bowiem dążyć do tego, aby za wszelką cenę uniknąć ekspozycji stanowiącej zagrożenie dla ludzi, zwierząt, roślin – środowiska. Niewiele jest jednak związków pestycydowych, których metabolizm i ich interakcje zostały dokładnie poznane. W większości przypadków dane na temat biotransformacji i interakcji poszczególnych związków pestycydowych ograniczają się do wykrycia i zidentyfikowania jednej lub większej liczby ich pochodnych występujących w tkankach czy wydzielinach bądź wydalinach zwierząt. Na ogół pestycydy są metabolizowane przez zwierzęta w dwóch etapach reakcji. Pierwszy etap obejmuje reakcje utleniania, redukcji i hydrolizy, drugi – reakcje o charakterze syntezy czy sprzęgania.

Z badań prowadzonych przez Smitha [23] nad przemianą 2,4-D w glebie wynika, że w wilgotnych, jałowych glebach związek ten jest przekształcany do 2,4-dichlorofenolu (2,4-DCP), który może ulegać następnie biologicznej metylacji do 2,4-dichloroanizolu (2,4-DCA). 2,4-DCP jest szybko rozpuszczany w glebie, a następnie zostaje szybko usunięty z gleby przez wyparowanie.

Istotny wpływ na rozkład herbicydów auksynowych z grupy 2,4-D mają bakterie z rodzaju *Pseudomonas* sp. i *Astrobacter*. Wówczas związki te są degradowane na drodze rozszczepienia -orto przy udziale enzymów z grupy dioksygenaz i cykloizomeraz bakteryjnych. Ostatecznymi produktami przemiany są: L-alanina, kwas bursztynowy i kwas chlorobursztynowy [1].

Jak stwierdza wielu badaczy [3, 8, 24] 2,4-D i 2,4,5-T (kwas 2,4,5-trichlorofenoksyoctowy) wykazują właściwości teratogenne. Właściwości te w głównej mierze powoduje wysoce toksyczna (LD_{50} dla królików wynosi 1–10 $\mu\text{g/kg}$ masy ciała, dla świnek morskich – 0,6 $\mu\text{g/kg}$ masy ciała) 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-para-dioksyna, która zawsze stanowi zanieczyszczenie tych dwóch herbicydów [8, 24]. Dioksyny mogą się tworzyć z chlorofenoli (w środowisku alkalicznym), które są materiałem wyjściowym do produkcji tego typu różnie chlorowanych związków. 2,4-D jest związkiem powszechnie stosowanym i wchodzi w skład wielu pestycydów produkowanych w Polsce i krajach zachodnich. Stosowanie tych pestycydów winno być związane ze spełnianiem określonych wymogów, tzn. pestycydy winny być stosowane w określonym rozcieńczeniu, na terenach, gdzie brak jest ich ewentualnego kontaktu z wodą pitną i wodami I klasy czystości. Preparaty zawierające 2,4-D i pochodne nie mogą być przeterminowane, ponieważ zawierają wówczas zwiększone ilości p-dioksyny powstającej proporcjonalnie do czasu składowania [2].

Ze względu na stwierdzone oddziaływanie 2,4-D z układem porfiryny związanej z Mg^{2+} bądź Fe^{2+} sprawdzono jego wpływ na hemoglobinę człowieka w układzie izolowanym bez dostępu tlenu oraz w atmosferze tlenowej. Wcześniejsze badania dotyczące związków o budowie podobnej do 2,4-D typu LR wykonane przez Lalezari'ego [13], Fermi'ego [9] i Perutza [20] wykazały, że związki te nie wpływają w sposób istotny na formę oksy-Hb. Jak wykazali ww. badacze związki typu LR stabilizują strukturę deoksy-Hb, przyłączając się w deoksy-Hb do histydyny dystalnej (E7) poprzez cząsteczkę H_2O , grupę -OH czy ewentualnie mostek wodorowy. Powyższą tezę obrazuje rys. 7. Problemem tym zajmowali się ostatnio (1992) Johnson i Manavalan [16], którzy stwierdzili, że związki takie jak 2,4-D mogą przyłączać się do następujących aminokwasów łańcucha α Hb człowieka: 14Trp, 17Val, 18Gly, 19Ala, 20–23His, Ala, Gly, 60Lys, 63Ala, 64Asp, 67Thr oraz do aminokwasów łańcucha β , szczególnie w obrębie kieszeni hemowej. Jeśli mamy do czynienia z całą krwinką czerwoną, to 2,4-D będzie łączył się także z białkiem pasma 3, a w wiązaniu brać będzie udział 11 reszt aminokwasów pasma 3 błony. Powyższe badania autorzy wykonali za pomocą analizy rentgenostrukturalnej.



Rys. 7. Zmiany w centrum Hb zachodzące od formy oksy-R poprzez deoksy-R ↔ T do deoksy-T i z powrotem, poprzez deoksy-T do oksy-R, po przyłączeniu reszty O-fenylowej z 2,4-D-Na. Pionowe kreski oznaczają odległości N_ϵ z proksymalnej His F od średniej płaszczyzny azotów i węgli porfiryny. Linia horyzontalna wskazuje długość wiązania między Fe i N porfiryny, a całość figur pokazuje przemieszczanie atomu Fe z płaszczyzny azotów porfiryny

Badania własne wykonane metodą spektrofotometryczną potwierdziły nieistotne oddziaływanie 2,4-D na oksy-Hb. Zaobserwowano bowiem bardzo małe zmiany w obrębie szczytów α i β , które jednak nie są istotnie znamienne. Zdecydowanie inne jest oddziaływanie 2,4-D z deoksy-Hb, zarówno w środowisku izolowanym od dostępu tlenu jak i w jego obecności. W badaniach tych zaobserwowano hamowanie efektu przechodzenia deoksy-Hb w oksy-Hb. Otrzymane wyniki sugerują, że 2,4-D stabilizuje strukturę T hemoglobiny, co opóźnia, a następnie uniemożliwia przechodzenie jej w oksy-Hb, podobną zależność stwierdził Perutz [21]. Większe dawki powodują tworzenie z deoksy-Hb nowej formy hemoglobiny o specyficznym widmie, najprawdopodobniej pochodnej ferry-Hb z Fe^{4+} posiadającej maksima przy $\lambda = 528$ i 558 nm, przy czym przy pełnym dostępie tlenu ferry-Hb szybko przechodzi w formę met-Hb [6, 7]. Może również powstawać przejściowa forma o charakterze hybrydy, tetramer Hb zawierający Fe^{4+} z łańcuchami globiny zawierającej tlen (O_2) i łańcuchami globiny pozbawionej tlenu (deoksy-), bądź z przyłączoną w miejsce tlenu cząsteczką H_2O .

Uzyskane wyniki wskazują na znaczną szkodliwość działania związku herbicydowego jakim jest 2,4-D, na hemoglobinę w skutek utrwalania formy T deoksy-Hb, czy też powstawanie formy ferry-Hb (bądź H_2O -ferry-Hb), która następnie przy dostępie tlenu, przechodzi spontanicznie w met-Hb. Powstała forma met-Hb z Fe^{3+} , względnie trwała, obniża albo uniemożliwia spełnianie podstawowej funkcji hemoglobiny jaką jest przenoszenie tlenu do tkanek organizmów żywych.

5. BIBLIOGRAFIA

- [1] Cork D. J., Kruger J. P. (1991), *Adv. in Appl. Microbiol.*, **36**, 29–31.
- [2] Courtiery V. W. (1970), „*Science*”, **168**, 864.
- [3] Courtiery V. W. (1970), „*Teratology*”, **3**, 199.
- [4] Dreisbach R. H. (1982), *Vademecum zatruc. Zapobieganie, rozpoznawania, leczenie*, PZWL, Warszawa.
- [5] Drabkin D. L. (1946), *J. Biol. Chem.*, **164**, 703–723.
- [6] Duda W., Osmulski P. A. (1992) *Acta Univ. Lodz., Folia Biochim. et Biophys.*, **9**, 65–76.
- [7] Duda W. (1992), *Acta Univ. Lodz., Folia Biochim. et Biophys.*, **9**, 53–63.
- [8] Emerson G. L. (1970), *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **14**, 317.
- [9] Fermi G., Perutz M. F. (1981), *Atlas of Molecular Structures in Biology. Haemoglobin and Myoglobin*, ed. Clarendon, Oxford, 104.
- [10] Hausland R. A. (1990), *Appl. and Environ. Microbiol.*, **26**, no 5, 1357–1362.
- [11] Knopp D., Glass S. (1991), *Int. Arch. Occup. Environ. Health.*, **63**, 329–333.
- [12] Kontek M., Marcinkowska B., Pietraszek Z. (1973), *Pol. Tyg. Lek.*, **28**, 937.
- [13] Lalezari I., Rahbar S. (1988), *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, **85**, 6117–6121.
- [14] Leyko W., Duda W. (1984), *Ćwiczenia z biofizyki*, Wyd. Uniwer. Łódz., 137–140.

- [15] Łakota S. (1974), „Gaz, woda”, 48, 270.
- [16] Manavalan P., Prabhakaran M., Johnson M. E. (1992), J. Mol. Biol., 223, 791-800.
- [17] Ministerstwo Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej. Dziennik Urzędowy, nr 2, poz. 3, Warszawa 15.01.1992.
- [18] Nikonorow M. (1979), *Pestycydy w świetle toksykologii środowiska*, PZWL, Warszawa, 256.
- [19] Osiecka R. (1993), *Cytogenetyczne badania wpływu pestycydów – potencjalnych mutagenów – na komórki merystemów korzeniowych Vicia faba*, Wyd. Uniwer. Łódź.
- [20] Perutz M. F. (1990), Annu. Rev. Physiol., 52, 1-25.
- [21] Perutz M. F., Fermi G., Luisi B. (1987), „Acound of Chemical Research”, 20, 309.
- [22] Rusiecki W. (1973), *Toksykologia środków ochrony roślin*, PZWL, Warszawa.
- [23] Smith A. E., Aubin A. J. (1991), „Journal of Agricultural and Food Chemistry”, 39, 2019-2021.
- [24] Sparschn G. L., Dunn E. L., Rower K. (1970), Toxicol. Appl. Pharmacol., 17, 317.

Wpłynęło do Redakcji
„Folia biochimica et biophysica”
23.06.1993

Instytut Biofizyki
Katedra Biofizyki
Skażeń Środowiska
Uniwersytet Łódzki

Bożena Bukowska, Wirgiliusz Duda

EFFECT OF 2,4-D ON OXY AND DEOXY HUMAN HEMOGLOBINS

In this work the effect of 2,4-D-Na herbicide (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid sodium salt) on two forms of the oxy and deoxy human hemoglobins was studied. It was found that 2,4-D has a stabilizing effect on the T deoxy-Hb structure thus bringing about a decrease of the oxy-Hb form (responsible for oxygen transport in the body). Moreover, formation of the transient ferryl Hb form with Fe^{4+} (a H_2O -ferryl-Hb) was observed by using higher doses of the herbicide. The ferryl form is unstable and may be spontaneously (in the presence of O_2) transformed to the met Hb form with Fe^{3+} (or to the H_2O -met-Hb form, respectively) which does not participate in the oxygen transport to the tissues.