

DANIEL GAJEWSKI, MARCIN SZULC

Obserwacje dotyczące występowania dichlorfosu w tkankach zatrutych szczurów

Z Katedry Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR w Warszawie

Zatrucia zwierząt rzeźnych mogą mieć różne przyczyny. Jako jeden z ważniejszych czynników wymienić należy stosowane obecnie szeroko w rolnictwie pestycydy fosforoorganiczne (12). Zatrucia takie mogą być następstwem albo leczniczego stosowania tych preparatów, zwykle jako środków przeciwpasożytniczych, bądź też podawania karmy roślinnej zawierającej wysokie stężenie tych substancji.

Dotychczas brak jest wyraźnych wskazań postępowania sanitarno-weterynaryjnego ze zwierzętami, które uległy zatruciom. Masowe stosowanie pestycydów zwłaszcza w rolnictwie, doprowadziło do poważnego skażenia środowiska, w tym również i środków spożywczych. Pozostałości pestycydów w produktach żywnościowych są przedmiotem rozważań odpowiedzialnych Komisji Ekspertów FAO i WHO, zmierzających do ustalenia dopuszczalnej koncentracji poszczególnych preparatów w różnych grupach środków spożywczych. Raport taki z 1973 r. przyjmuje 0,05 mg/kg dichlorfosu (fosforan 0-2,2-dwuchlorowinylob-0,0-dwumetylowy, DDVP) w mięsie bydła, owiec i kóz (12). Wartość tę przyjęto następnie na 11 Sesji Ekspertów FAO i WHO w 1976 r. również dla mięsa świń i drobiu.

DDVP został zsyntetyzowany w latach 1948—1951 kolejno w Stanach Zjednoczonych, Anglii, ZSRR i Szwajcarii (14). Dzięki silnym właściwościom pasożyto- i owadobójczym znalazł szerokie zastosowanie i został wprowadzony do sprzedaży w postaci preparatu technicznego stężonego, emulsji 40—50%, preparatów aerozolowych do opryskiwania przeciw pasożytom zewnętrznym oraz stanowi jedną z substancji czynnych w wielu lekach przeciwpasożytniczych (14). Ze względu na znaczne rozpowszechnienie związków ten zastosowano w obecnych badaniach.

Obserwacje niektórych autorów np. Lawsa (10) dotyczące DDVP znakowanego fosforem ^{32}P , wykazały obecność materiału znakowanego w tkankach szczurów zatrutych doustnie. Wyniki te odnoszą się jednak prawdopodobnie do metabolitów a nie do samego pestycydu w postaci wyjściowej.

Jedną z informacji dotyczących możliwości wykrycia DDVP w tkankach zwierząt uprzednio eksponowanych na działanie trucizny, jakie ukazały się w ostatnich latach są wyniki badań wykonanych przez Blaira i wsp. (2). Z drugiej strony obserwacje innych autorów, związane

zwłaszcza z dożylnym wprowadzeniem preparatów fosforoorganicznych wykazały, że zanikanie i wydalanie ich z organizmu następuje bardzo szybko. Tak np. Hansen i wsp. (7) stwierdzili u kotów, po zatruciu dwuizopropylodifluorofosforanem (DFP), że eliminacja z krwi połowy inhibitorów i produktów jego rozpadu następuje w ciągu 7 minut. Podobnie Faff (5) już w 30 minut po zatruciu szczurów inhibitorami fosforoorganicznymi nie stwierdzał w mięśniach wolnych, niezwiązanych cząsteczek trucizny.

Celem niniejszej pracy było: 1. określenie aktywności acetylocholinoesterazy (AChE) mięśnia szkieletowego szczura w okresie 1 godziny po dożylnym zatruciu DDVP, 2. ustalenie okresu występowania DDVP w tkance mięśniowej zwierząt zatrutych, 3. określenie zanikania aktywności tego związku w tkankach przechowywanych w stanie zamrożonym w temperaturze -10°C , 4. doświadczalne ustalenie zależności między stężeniem DDVP w próbce mięsa a możliwością jego wykrycia przy pomocy zastosowanej metody.

Materiał i metody

Badania wykonano na 32 szczurach, samicach szczepu Wistar o ciężarze ciała 200—240 g. Zwierzęta karmiono paszą standardową i pocono wodą *ad libitum*.

W wykonanych doświadczeniach zastosowano następujące substancje:

- fosforan 0-2,2-dwuchlorowinylob-0,0-dwumetylowy (DDVP, dichlorfos) o zawartości substancji podstawowej 95% rozpuszczano w alkoholu izopropylowym, otrzymując roztwór macierzysty o zawartości 400 mg/ml,
- siarczan atropiny „Polfa” *in subst.* (rozpuszczano w 0,9% roztworze chlorku sodu),
- jodek acetylocholino produkcji Koch Light Co.,
- pentobarbital (Nembutal sodium — Abbot).

Szesnaście zwierząt usypiano przy pomocy pentobarbitalu sodu wstrzykniętego dootrzewnowo w dawce 40 mg/kg. Następnie w stanie narkozy odstawiano mięsień czworogłowy prawej kończyny odcinając ścięgno łączące mięsień z kością piszczelową, a pozostawiając w naturalnym połączeniu z kończyną drugi nieuszkodzony koniec mięśnia wraz z nerwem kulszowym i naczyniami krwionośnymi. Rozrywano mięsień wzdłuż przebiegu włókien mięśniowych na 4 części. Następnie podawano dootrzewnowo siarczan atropiny w dawce 2 mg/kg, w celu złagodzenia objawów działania inhibitora na receptory muskarynowe i po podłączeniu pompy oddechowej do tchawicy wprowadzano dożylnie do żyły udowej lewej kończyny DDVP w dawce 10 mg/kg (8 zwierząt) oraz w dawce 20 mg/kg (8 zwierząt). W okresie 1 godziny po zatruciu odcinano co 15 minut kolejne części mięśnia, które natychmiast ważono a następnie dzielono na dwie części:

- a) jedną część rozcierano w szklanym homogenizatorze z buforem fosforanowym o pH 7,2, a następ-

nie mierzono aktywność AChE i wyrażano ją w procentach w porównaniu ze średnim poziomem aktywności u 8 zwierząt kontrolnych, którym nie podawano związku fosforoorganicznego,

- b) drugą część pobranego wycinka mięśniowego homogenizowano w buforze fosforanowym o takim samym pH razem z tkanką mózgową pobraną od szczurów kontrolnych. Mózgi przygotowano w ten sposób, że od 8 klinicznie zdrowych szczurów po ich dekapitacji i skrwawieniu pobrano całe mózgowie. Z wszystkich pobranych mózgów przygotowano jeden homogenat o stężeniu tkanki mózgowej 100 mg/ml i aktywność AChE w tym homogenacie przyjęto za 100%. Następnie dodając homogenaty wycinków mięśni zwierząt zatrutych obserwowano spadek aktywności homogenatu mózgow zwierząt kontrolnych. Na 10 części wagowych mózgu (100 mg/ml) dodawano 1 część mięśnia (100 mg/ml). Każdorazowo homogenizator w czasie rozdrobnienia tkanki umieszczano w naczyniu z lodem nie dopuszczając, aby temperatura homogenatu przekroczyła $+4^{\circ}\text{C}$. Obniżenie aktywności AChE tkanki mózgowej homogenizowanej z wycinkami badanego mięśnia uważano za dowód obecności w mięśniu niezwiązanych cząsteczek preparatu fosforoorganicznego. Z każdym wycinkiem mięśnia wykonano 2 równoległe próby. Jeśli średni poziom aktywności AChE w homogenacie mózgu był w obydwu próbach obniżony w odniesieniu do poziomu wyjściowego co najmniej o 5%, wówczas uniezynnienie badanego enzymu uważano za istotne statystycznie.

Po 1 godzinie od podania związku fosforoorganicznego grupę szczurów (8 zwierząt), której podano dawkę 20 mg/kg skrwawiono i pobierano wycinki mięśnia czworogłowego z kończyny lewej oraz wycinki wątroby i mózgu. Tkanki te natychmiast zamrażano w temperaturze -10°C i przechowywano w tej temperaturze w ciągu 24 godzin, a następnie homogenizowano z mózgiem zwierząt kontrolnych jak w punkcie poprzednim.

W celu określenia przydatności zastosowanej metody do oznaczania zawartości DDVP w tkankach przeprowadzono następujące badania. Skrwawiono następnie 8 szczurów kontrolnych (niezatrutych) i pobrano od nich wszystkie mięśnie czworogłowe, które rozdrobniłono przy pomocy maszynki do mięsa i dokładnie wymieszano. Ochłodzono masę mięsną do temperatury 0°C , przygotowano 10 naważek rozdrobionych mięśni i wymieszano je dokładnie z roztworami DDVP w takim stosunku, aby w przeliczeniu na 1 kg rozdrobionej tkanki mięśniowej w kolejnych naważkach przypadały ilości DDVP wskazane w tab. 1. Następnie homogenizowano poszczególne próbki w warunkach podanych uprzednio. W czasie homogenizacji dodawano bufor fosforanowy w stosunku 1 ml na 100 mg tkanki mięśniowej. Następnie określono wpływ badanych próbek na aktywność AChE homogenatu mózgu szczurów kontrolnych. W wykonanych próbach również na 10 części wagowych tkanki mózgowej szczurów kontrolnych przypadła 1 część tkanki mięśniowej zawierającej DDVP o znanym stężeniu. Wartość ekstynkcji odczytywano na kolorymetrze Specol, przy długości fali 530 nm. Jako odczynnika dającego reakcję barwną używano chlorku żelazowego.

Aktywność AChE (acetylocholinoesteraza, E.C. 3.1.1.7.) oznaczano metodą Hestrina (8) używając jako substratu jodek acetylocholinylu. Oznaczenia wykonano w temperaturze 37°C przy pH 7,2 stosując inkubację tkanki mózgowej stanowiącej źródło enzymu z substratem w ciągu 30 minut. Poziom enzymu wyrażano w procentach aktywności wyjściowej, za który przyjęto średni poziom u 8 zwierząt kontrolnych.

Wyniki badań

Badany związek fosforoorganiczny podawano w dawkach (10 mg/kg), które powodują zablokowanie odpowiedzi mięśnia na bodźce elektryczne o częstotliwości 50 c/sek przy amplitudzie 2—3 wolty w preparacie składającym się z mięśnia czworogłowego uda i nerwu kulszowego szczura *in situ*. Obok wymienionej dawki w obecnym doświadczeniu zastosowano także dawkę dwukrotnie wyższą. W czasie poprzednich naszych obserwacji ustalono dawkę LD_{50} DDVP dla szczurów samic po podaniu dożylnym. Dawka ta wynosiła 8,3 mg/kg (7,1—9,4).

Poziom AChE w mięśniu czworogłowym zaobserwowany w warunkach obecnego doświadczenia, w różnych odstępach czasu po podaniu inhibitora ilustruje tab. 1. Najniższy poziom aktywności enzymu zaobserwowano w mięśniu czworogłowym w 15 minutie doświadczenia.

W tym samym czasie obserwacji w grupie szczurów zatrutych dawką 10 mg/kg inhibitora jedynie próbki mięśni od 3 osobników powodowały obniżenie poziomu enzymu w homogenacie

Tab. 1. Aktywność AChE mięśnia czworogłowego szczura w okresie 1 godziny po dożylnym podaniu DDVP

Czas badania po zatruciu zwierząt	Procent aktywności AChE po zatruciu dawką (w stosunku do grupy kontrolnej)	
	10 mg/kg	20 mg/kg
15 minut	20,4 ± 6,9	10,7 ± 4,2
30 minut	22,6 ± 10,4	14,1 ± 6,3
45 minut	28,6 ± 5,8	14,1 ± 8,0
60 minut	33,0 ± 9,1	23,7 ± 7,1

Tab. 2. Wpływ homogenatów mięśni zwierząt zatrutych na aktywność homogenatu mózgu szczurów grupy kontrolnej

Nr badanego szczura	Dawka DDVP	Aktywność AChE mózgowia szczurów kontrolnych wyrażona w procentach aktywności wyjściowej po homogenizacji z mięśniem zwierząt zatrutych DDVP			
		Czas po zatruciu:			
		15 minut	30 minut	45 minut	60 minut
1	10 mg/kg	93,5 (X)	96,4	98,3	98,9
2	"	97,6	98,6	98,2	99,5
3	"	92,6 (X)	96,2	99,7	99,6
4	"	96,9	97,9	99,1	98,9
5	"	98,3	98,4	99,9	100,1
6	"	99,3	99,0	99,0	101,1
7	"	93,2 (X)	95,9	98,7	99,3
8	"	98,6	98,4	98,6	99,7
9	20 mg/kg	96,3	96,8	97,9	99,5
10	"	90,2 (X)	94,1 (X)	96,8	100,1
11	"	92,3 (X)	94,5 (X)	95,7	99,2
12	"	97,6	99,5	99,2	101,2
13	"	97,8	97,8	97,9	99,6
14	"	94,6 (X)	94,8 (X)	98,4	98,2
15	"	96,7	98,3	97,9	99,3
16	"	93,8 (X)	94,5 (X)	98,3	98,7

Objaśnienie: (X) — zaznaczono te wyniki, gdzie spadek poziomu aktywności AChE w mózgu kontrolnym wynosił co najmniej 5%.

cie mózgu grupy kontrolnej w sposób znamienny. W grupie zwierząt, które zostały zatrute dawką 20 mg/kg próbki mięśni pochodzące od 4 szczurów powodowały obniżenie aktywności enzymu mózgu kontrolnego w sposób znamienny zarówno po 15, jak i po 30 minutowej obserwacji. Wyniki te przedstawiono w tab. 2.

Obserwacje dotyczące możliwości stwierdzenia wolnych cząsteczek inhibitora w tkankach szczurów, które zostały zatrute dożylnie dawką 20 mg/kg trucizny, a następnie których tkanki zostały zamrożone na okres 24 godzin — dały wynik negatywny. W żadnym przypadku nie stwierdzono wpływu badanych homogenatów tkanek zwierząt zatrutych na obniżenie aktywności AChE homogenatu mózgu szczurów grupy kontrolnej. Wyniki tych badań przedstawiono w tab. 3.

Tab. 3. Wpływ homogenatów zamrożonych tkanek zwierząt zatrutych na aktywność AChE homogenatów mózgu szczurów grupy kontrolnej

Badana tkanka	Aktywność AChE mózgowia szczurów kontrolnych wyrażona w procentach aktywności wyjściowej po homogenizacji z tkanką zamrożoną zwierząt zatrutych
Mięsień czworogłowy	99,7 ± 3,4
Wątroba	102,4 ± 7,1
Mózg	99,7 ± 4,2

Zależność wielkości ekstynkcji od stężenia DDVP w rozdrobnionej tkance mięsnej przedstawiono w tab. 4. Otrzymane wartości uzyskano po zastosowaniu jako substratu jodku acetylocholino w stężeniu 2×10^{-3} M. Zakres stężenia DDVP w tkance mięśniowej, w którym możliwy jest odczyt przy pomocy zastosowanej metody przedstawiono na wykresie (ryc. 1) oraz w tab. 4, w której podano jakiej zawartości inhibitora w 1 kg tkanki odpowiadają poszczególne wartości wykresu wyrażone w molach.

W tab. 1 i 3 podano wyniki średnie arytmetyczne wraz z odchyleniami standardowymi ob-

liczone na podstawie badania próbek od 8 zwierząt. W tab. 2 podano średnie arytmetyczne uzyskane na podstawie 2 równoległych badań próbki pochodzącej od tego samego szczura. W tab. 4 przedstawiono natomiast średnie arytmetyczne i odchylenia standardowe otrzymane na podstawie 6 oznaczeń.

Omówienie wyników

Jednym z podstawowych objawów zatrucia związkami fosforoorganicznymi jest hamowanie aktywności acetylocholinoesterazy. Powoduje to zaburzenia przewodnictwa nerwowo-mięśniowego i odgrywa decydującą rolę w obrazie zatrucia i mechanizmie zejścia śmiertelnego.

Wyniki przeprowadzonych obserwacji wskazują na znaczne unieczynnienie a następnie na wyraźny wzrost aktywności AChE w okresie między 15 a 60 minutą po zatruciu zwierząt. Należy przypuszczać, że wzrost ten jest związany głównie z reaktywacją spontaniczną unieczynnionego enzymu (4). Wydaje się, że stwierdzone podwyższenie aktywności AChE unieczynnionej przez DDVP może być jednym z ważnych czynników odgrywających rolę w obserwowanym przez nas uprzednio mechanizmie szybkiej normalizacji (około 30 minut) zaburzeń przewodnictwa nerwowo-mięśniowego (6). Potwierdza to również spostrzeżenia innych autorów, że zjawisko takie występuje także w zatruciu innymi związkami fosforoorganicznymi (np. sarinem) (13) oraz stanowi potwierdzenie, że obydwa te procesy (zaburzenia przewodnictwa oraz inhibicja AChE) są ze sobą związane przyczynowo (4).

Zastosowana przez nas metoda dla określenia zawartości DDVP w badanej próbce wydaje się być wystarczająco dokładna dla wybranego układu doświadczalnego, zwłaszcza dla określenia czy ilości preparatu znajdujące się w danej próbce nie przekraczają dopuszczalnej normy. Jak wynika z wykresu (ryc. 1) oraz tab. 4 odczyt jest możliwy przy zawartości powyżej 0,22 µg DDVP w 1 kg tkanki mięśniowej. Takie ilości inhibitora wystąpiły w warunkach obecnego doświadczenia w 3 przypadkach po zatruciu dawką 10 mg/kg DDVP oraz w 4 przypadkach po zatruciu dawką 20 mg/kg. Wymienione stężenie jest około 200 razy mniejsze od dopuszczalnego wg obowiązujących obecnie norm (12). Należy nadmienić, że w zastosowanym układzie doświadczalnym już ilości DDVP równe około 0,22 µg na kilogram tkanki mięśniowej zaczynają wpływać na wzrost ekstynkcji. Zaletą zastosowanej metody jest duża prostota i łatwość wykonania badań przy pomocy ogólnie dostępnego sprzętu. Aczkolwiek zastosowana metoda jest nieco mniej precyzyjna w porównaniu z innymi znanymi obecnie metodami, to jednak wydaje się być wystarczająco dokładna, aby ją zastosować w niektórych układach doświadczalnych.

Tab. 4. Zależność ekstynkcji od stężenia DDVP w tkance mięśniowej

Molowe stężenie DDVP w próbce	Ilość DDVP w przeliczeniu na 1 kg mięśnia czworogłowego	Wartość ekstynkcji
10 ⁻¹	220,0 g	300
10 ⁻²	22,0 g	300
10 ⁻³	2,2 g	299,50 ± 3,50
10 ⁻⁴	220,0 mg	292,50 ± 4,25
10 ⁻⁵	22,0 mg	236,25 ± 3,00
10 ⁻⁶	2,2 mg	185,00 ± 5,00
10 ⁻⁷	220,0 µg	147,50 ± 4,50
10 ⁻⁸	22,0 µg	75,00 ± 12,50
10 ⁻⁹	2,2 µg	38,75 ± 8,00
10 ⁻¹⁰	0,22 µg	6,00 ± 2,00

Jak wynika z tab. 2 zaobserwowano obecność niewielkiej ilości niezwiązanych cząsteczek trucizny w mięśniach niektórych zwierząt, pobranych do badań w 15 minucie po zatruciu dawką wywołującą zablokowanie zdolności mięśnia do reagowania na bodźce elektryczne. Podobny efekt zaobserwowano w niektórych przypadkach w 30 minucie doświadczenia po zatruciu zwierząt dawką 2-krotnie wyższą. Natomiast po upływie kilkudziesięciu minut po podaniu DDVP nie stwierdzono w mięśniach aktywnych cząsteczek inhibitora.

W żadnym przypadku nie stwierdzono również obecności związku fosforoorganicznego w tkankach szczurów zatrutych, które po uboju zwierząt przechowywano w stanie zamrożonym. Zjawisko to może być związane z wystąpieniem hydrolizy tych niewielkich ilości trucizny, jakie znajdowały się w badanych tkankach.

Jak podkreślono we wstępie, niektórzy autorzy stwierdzali obecność DDVP w tkankach ssaków w wypadku np. dłuższej ekspozycji na działanie par tego związku o dużym stężeniu. Można więc przypuszczać, że występowanie wolnych cząsteczek tego preparatu w tkankach zwierząt jest prawdopodobne dopiero po zatruciach dużymi dawkami. Zjawisko takie mogłoby być tłumaczone zdolnością rozkładu mniejszych stężeń związku przez enzymy obecne we krwi (2). Page i wsp. (11) nie stwierdzili obecności DDVP we krwi świń po wprowadzeniu do tchawicy powietrza zawierającego w 1 litrze 0,5 µg preparatu. Zaobserwowano natomiast u szczurów i myszy obecność tego związku w tkankach po ekspozycji na stężenia wynoszące 90 µg/litr powietrza.

Obserwacje *in vitro* potwierdzają opisane spostrzeżenia i wskazują, że surowica ssaków zawiera enzym katalizujący hydrolizę DDVP do fosforanu dwumetylowego (2). Ponadto małe ilości inhibitora są rozkładane przez składniki krwi (2). Dużą rolę w tym procesie odgrywają esterazy surowicy (pseudocholinoesterazy) oraz karboksylazy zarówno surowicy, jak wątroby (3, 9).

Nieco uwagi należy poświęcić także możliwości rozmieszczenia inhibitora w poszczególnych tkankach zatrutych zwierząt. Stwierdzano różnice uzależnione od gatunku i płci zwierząt (2). Większe stężenia DDVP obserwowano we krwi i tłuszczu nerkowym u myszy niż u szczurów. Trudno osiągalna dla omawianego insektycydu jest tkanka płucna bez względu na drogę wchłaniania trucizny. Podczas zatrucia drogami oddechowymi wchłanianie związku następuje bowiem już poprzez śluzówkę nosa, gardła, krtani i tchawicy (1). Rozmieszczenie preparatu w organizmie może być również inne po zatruciach bardzo dużymi dawkami trucizny niż w przypadku dawek względnie małych (2).

Wnioski

1. Po dożylnym zatruciu szczurów DDVP w dawce od 10—20 mg/kg (dawki od około 1,5—3,0 LD₅₀) obserwuje się znaczny spadek aktywności acetylocholinoesterazy w mięśniu szkieletowym. W warunkach doświadczenia zaobserwowano najniższą aktywność enzymu w 15 minucie po zatruciu, a następnie powolny wzrost jego aktywności.

2. Po dożylnym zatruciu szczurów dawką 10 i 20 mg/kg DDVP stwierdzono niewielkie ilości tego preparatu w mięśniach szkieletowych części zatrutych zwierząt w okresie pierwszych 15—30 minut po zatruciu.

3. Nie stwierdzono obecności DDVP w tkankach, które po uboju zwierząt zatrutych dawkami 10 i 20 mg/kg przechowywano w stanie zamrożonym przez okres 24 godzin. Nie wykluczone jednak, że po zatruciu większymi dawkami występowanie DDVP byłoby w tych warunkach możliwe.

4. Opisana metoda jest wystarczająco czuła, zwłaszcza dla celów praktycznych, ze względu na możliwość wykrycia przy jej pomocy stężeń DDVP w tkankach około 200 razy niższych od obecnie dopuszczalnych.

Piśmiennictwo

1. Ainsworth M., Shephard R. J.: *Inhaled Particles and Vapours*. Pergamon Press, London, 1965, s. 233.
2. Blair D., Hoadley E. C., Hutson D. H.: *Toxic. appl. Pharmac.* 31, 243, 1975.
3. Cohen S. D., Murphy S. D.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 139, 1385, 1972.
4. Faff J.: *Acta Physiol. Pol.* 23, 121, 1972.
5. Faff J.: *Informacja ustna*, 1976.
6. Gajewski D., Owczarczyk H.: *Acta Physiol. Pol.* (w druku).
7. Hansen D., Schaum E., Wasserman O.: *Biochem. Pharmac.* 17, 1159, 1968.
8. Hestrin S.: *Biol. Chem.* 180, 249, 1949.
9. Hodgson E., Casida J. E.: *J. agric. Fd. Chem.* 10, 208, 1962.
10. Laws E. R.: *Toxic. appl. Pharmac.* 8, 193, 1966.
11. Page A. C., Loeffler J. E., Hendrickson H. R., Huston C. K., Devries D. M.: *Arch. Toxic.* 30, 19, 1972.
12. Prost E.: *Higiena Mięsa*. PWRL, Warszawa 1975, s. 418.
13. Rump S.: *Post. Hig.* 26, 225, 1972.
14. Schrader G.: *Die Entwicklung neuer Insektizider Phosphorsäureester*. Verlag Chemie GMBH, Weinheim 1963.

Adres autora: dr Daniel Gajewski, ul. Bródnowska 7/11 m. 64, 03-439 Warszawa.

Гаевский Д., Шульц М. — Наблюдения по появлению дихлорфоса в тканях отравленных крыс.

Исследования выполнили на 32 крысах-самках штамма Вистар. Животных разделили на 4 группы по 8 шт. в каждой. Первой группе вводили внутривенно DDVP в дозе 10 мг/кг. Вторая группа получала внутривенно дозу 20 мг/кг этого ингибитора. Третья группа являлась контролем. От четвертой же взяли все четырехглавые мышцы, которые затем раздробили и смешали с различными концентрациями DDVP и определили их способность к ингибции мозга контрольных животных и влияния на величину экстинкции.

Животным 1 и 2 группы после усыпления при помощи пенторбарбитала (40 мг/кг) вводили атропин (2 мг/кг), а затем фосфо-органическое соединение. Потом определяли уровень АСнЕ гомогената четырехглавой мышцы, разделенной на 4 части, каждую из которых отрезывали каждые 15 минут в течение часа после отравления. Определения активности энзима выполняли методом Хестрина. Одновременно тем же методом определили степень ингибции мозга контрольных животных после гомогенизации с мышечной тканью отравленных животных, взяваемой каждые 15 минут в течение часа

после отравления, а также с тканями отравленных животных, хранимых в замороженном состоянии 24 часа.

Отметили наименьшую активность энзима четырехглавой мышцы на 15 минуте после отравления. Она составляла ок. 20% после дозы 10 мг/кг и ок. 10% после дозы 20 мг/кг. Потом следовал медленный рост активности энзима. Небольшие количества DDVP обнаружили в скелетной мышце части исследуемых животных. Не обнаружили зато присутствия ингибитора в тканях, замороженных после забоя.

Gajewski D., Szulc M. — **Observations on the occurrence of dichlorvos in tissues of poisoned rats.**

Studies were carried out on 32 female Wistar rats. The animals were divided into four groups of 6 head each. The first group was given intravenously 10 mg/kg of DDVP, whereas the second group received 20 mg/kg of this inhibitor. The third group was control. From the fourth group all quadriceps muscles were taken, which were disintegrated and mixed up with different DDVP concentrations and then their capa-

bility of inhibiting the brain of the control animals and the extinction effect were determined.

After anesthesia with pentobarbital i.p. (40 mg/kg), the animals of group 1 and 2 were administered atropine i.p. (2 mg/kg), and then a phosphororganic compound. Next, AChE level in the homogenate of the quadriceps was determined which was divided into 4 parts and each of them was cut off every 15 min. during one hour since poisoning. Determinations of the activity of the enzyme were made by the Hestrin method. Simultaneously, the inhibition rate of the brain in the control animals was determined by the same method after homogenization with the muscle tissue of the poisoned animals, taken every 15 minutes during 1 hr after poisoning, and with the tissues of poisoned animals kept frozen for 24 hrs.

The lowest activity of the enzyme of the m. quadriceps was observed 15 min. after poisoning. It was about 20% after 10 mg/kg dose and about 10% after 20 mg/kg dose. Then a slow increase in the enzyme activity followed. Small amounts of DDVP were found in the skeleton muscle in a part of the animals examined. However, the inhibitor was not formed in the tissues frozen after killing.

KAZIMIERZ PUJSZO, STANISŁAW KORYCKI

Zmiany widma absorpcyjnego i charakterystyki barwy tkanki mięśniowej młodych buhajków pod wpływem adrenaliny

Z Zakładu Mięsoznawstwa Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN w Bydgoszczy

W badaniach dotyczących oceny jakości mięsa u młodych buhajków, pochodzących z doświadczeń żywieniowych, można było zauważyć, że u około 20% osobników mięśnie charakteryzowały się zdecydowanie ciemnym zabarwieniem, wysokim pH końcowym oraz dużą wodochłonnością, a więc zespołem cech określanych w piśmiennictwie jako „dark cutting meat” (15, 19, 20). Uważa się, że przyczyną tego zjawiska jest fizjologiczny stres (17), wywołany niekorzystnymi warunkami środowiskowymi, na które szczególnie wrażliwe są buhajki z charakterystyczną hipertrofią mięśni pośladowych (10, 11). Na podstawie istniejących doniesień można uważać, że skłonnością do tej anomalii barwy mięśni obarczony jest poważny odsetek każdej populacji bydła czarno-białego (4, 20).

Próby wywołania zjawiska „dark cutting” przez zastosowanie różnych czynników stresowych nie dały jednoznacznych wyników. Głodzenie zwierząt nie wpływało na istotne cechy mięśni (3) lub powodowało nieznaczne tylko podwyższenie końcowej wartości pH w niektórych tylko mięśniach (18). Nieco większe zmiany końcowego pH, a także zawartości wody luźnej i zabarwienia mięśni można było wywołać przez drażnienie zwierząt prądem elektrycznym (18). Skuteczną metodą wywołania zmian typowych dla mięśni „dark cutting” jest natomiast

podskórne podanie dużych dawek adrenaliny kilkanaście lub kilkadziesiąt godzin przed ubiciem zwierząt (7, 8).

Częste napotykanie ciemnych mięśni u młodego bydła opasowego skłoniło autorów niniejszej pracy do eksperymentalnego wywołania zjawiska „dark cutting” w celu przebadania niektórych typowych dla niego cech i porównania ich z prawidłowymi cechami mięśni. Szczególną uwagę postanowiono zwrócić na charakterystykę widma absorpcyjnego światła oraz parametry barwy. W momencie przystępowania do tych doświadczeń brak było bowiem na ten temat bardziej szczegółowych danych.

Materiał i metody

Doświadczenie przeprowadzono na 12 buhajkach rasy mcb, podzielonych na dwie grupy, doświadczalną i kontrolną, po 6 osobników w każdej. Przy podziale kierowano się tym, by średni wiek, ciężar ciała a także dzienne przyrosty były w obu grupach zbliżone. Zwierzętom grupy doświadczalnej podano jednorazowo, podskórnie, dawkę adrenaliny w ilości 11,3 mg na 100 kg ciężaru ciała. Zwierzęta grupy kontrolnej otrzymywały w tej samej formie równą objętość fizjologicznego roztworu soli kuchennej. Po uboju zwierząt i 24 godzinnym schładzaniu tusz pobrano do analiz odcinek mięśnia najdłuższego grzbietu, między 10 a 13 kręgiem piersiowym. Po dalszych 24 godzinach mięsień mielono i przeprowadzano wszystkie analizy. pH określano na pH-metrze wyposażonym w elektrodę szklaną.