

The examinations were performed on 96 nutrias divided into 16 groups, 6 animal in each. The animals of the six groups were given the increasing doses of sodium nitrate (from 30 to 80 mg per kg of body weight), the animals of ten groups were given sodium nitrite at increasing doses from 100 to 1000 mg per kg of body weight. The LD₁₀₀ for sodium nitrite was 60 mg per kg of body weight. However the value of LD₁₀₀ for sodium nitrate was not established because the animals tested survived even a sin-

gle dose of 1000 mg of sodium nitrate per kg of body weight. It was noted a high resistance of the nutria against nitrates and lower resistance than in other species of animals against nitrites. Diagnostic of the intoxications may be based on food analysis, histopathological and anatomopathological lesions, and supravitally on the determinations of the level of methaemoglobin in red blood cells. The determinations of the level of nitrates and nitrites in the liver does not have any diagnostic value.

HELENA KURYS*, HENRYK KRACZKOWSKI

Aktywność wybranych enzymów w osoczu i w tkance wątrobowej szczurów w ostrym i podostrym, wielokrotnym zatruciu Chlorfenwinfosem

* Instytut Medycyny Pracy i Higieny Wsi, 20-124 Lublin, ul. Szkolna 16
Instytut Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Lubartowska 58 A, 20-094 Lublin

W mechanizmie działania związków fosforoorganicznych istotną rolę odgrywa hamowanie aktywności cholinesteraz tkankowych (1, 2, 6) poprzez fosforylację ich aktywnych centrów. Prowadzi to do nadmiernego gromadzenia się w tkankach acetylocholino, fizjologicznego przekaźnika bodźców ruchowych przy zakończeniach nerwów. Jeszcze przed wystąpieniem klinicznych objawów zatrucia stwierdza się spadek aktywności tych hydrolaz i zatrutych organizmów i dlatego może on być wskaźnikiem narażenia ustroju na związki fosforoorganiczne (4, 7, 10, 11). Związki fosforoorganiczne wykazują oprócz cholinesteraz również zdolność hamowania karboksylolizy odpowiadających za hydrolizę alifatycznych estrów, metabolitów związków fosforoorganicznych. Przy hamowaniu karboksylolizy zakłócony jest metabolizm pestycydu fosforoorganicznego, który nie rozkładany w organizmie blokuje esterażę cholinową.

Wyniki badań wielu autorów wskazują na wywolywanie zaburzeń metabolizmu tkankowego przez związki fosforoorganiczne. Zmiany zużycia tlenu i aktywności enzymów cyklu oddechowego wskazują na ingerencję związków fosforoorganicznych w procesy przemian tlenowych i energetycznych komórki (14, 16, 17, 18). Stwierdza się, że w zatruciu związkami fosforoorganicznymi występuje obniżenie zużycia tlenu przez homogenaty tkanek szczura (5, 12, 15). Obniżeniu aktywności oddechowej homogenatów wątroby towarzyszyło zahamowanie dehydrogenazy bursztynianowej i oksydazy cytochromowej frakcji mitochondrialnej wątroby szczurów (19, 20). Związki fosforoorganiczne uszkadzają także błony lizosomalne (3, 13), doprowadzając do uwalniania enzymów z uszkodzonych lizosomów. Przeprowadzone przez Lasotę badania wykazały, że w wyniku uszka-

dzającego działania fenitrotonu na komórki wątroby dochodzi do wzrostu aktywności aminotransferazy asparaginianowej i alaninowej w surowicy krwi szczurów, zatrutowanych tym związkiem (8, 9).

Celem pracy było określenie wpływu Chlorfenwinfosu, przy zatruciu ostrym i wielokrotnym — podostrym szczurów, na zachowanie się enzymów zarówno w osoczu krwi, jak i homogenatach wątroby.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na szczurach, samcach szczepu Wistar o masie około 200 gramów. W modelu zatrucia ostrego szczurom, głodzonym 18 godzin, podano sondą *per os* 6,5 mg/kg masy ciała Chlorfenwinfos, zawieszony w emulsji z gumy arabskiej, oleju i wody w stosunku 1:2:1,5. Wybrane wskaźniki biochemiczne badano u szczurów w różnych okresach czasu od podania Chlorfenwinfosu, a więc po 1, 4, 24, 72 godzinach intoksykacji. Zwierzęta doświadczalne podzielono na 4 grupy po 8 sztuk w grupie. Równocześnie pobierano krew i wątrobę do badań od ośmiu nie zatrutowanych Chlorfenwinfosem szczurów, które stanowiły grupę kontrolną. Szczury te karmiono paszą standardową i czystą emulsją, bez środka toksycznego. W drugim doświadczeniu, wielokrotnym — podostrym zatruciu szczurów Chlorfenwinfosem, podawano ten środek *per os* w dawce 1,3 mg/kg masy ciała, zawieszony w emulsji, jeden raz dziennie, przez okres 90 dni. Badanie wybranych wskaźników biochemicznych wykonano po 1, 3, 7, 14, 30, 60, 90 dniach podawania środka trującego. Zwierzęta doświadczalne podzielono na siedem grup po osiem sztuk w grupie. Równocześnie pobierano krew i wątrobę od nie zatrutowanych Chlorfenwinfosem ośmiu szczurów, stanowiących grupę kontrolną.

W osoczu krwi i homogenatach wątroby oznaczano aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) i alaninowej (AlAT) metodą Reitmana-Frankela, aktywność fosfatazy kwaśnej i zasadowej metodą Kind-Kinga, aktywność dehydrogenazy mleczanowej testem optycznym z pirogronianem, aktywność dehydrogenazy glutaminianowej testem optycznym wg Olsena i Anfinsona i aktywność cholinesterazy metodą pehametryczną. Przyjmując, że zmiany aktywności enzymów w homogenacie wątroby są wczesnym prze-

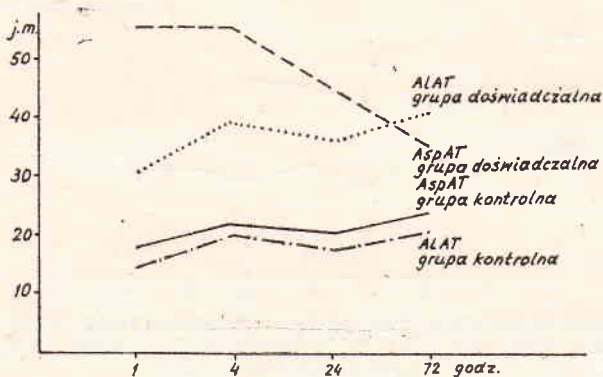
jawem uszkodzenia narządu, do oznaczeń wybrano enzymy występujące we frakcji rozpuszczalnej cytoplazmy i enzym mitochondrialny — dehydrogenazę glutaminianową. Aktywność cholinesterazy oznaczano w osoczu i w krwinkach.

Przygotowanie homogenatów wątroby do oznaczeń wybranych enzymów. Skrawek tkanki do homogenizacji pobierano zawsze z tego samego płata wątroby. Homogenizację wykonywano w szklanym homogenizatorze, umieszczonym w lodzie. Do oznaczeń aktywności enzymów pobierano 2 gramy wątroby i homogenizowano w 5 ml ochłodzonego do 0°C 0,1 M buforu fosforowanego o pH=7,4. Następnie homogenaty wirovano przez 10 minut przy 2000 obr./min. w celu usunięcia fragmentów tkanki wątrobowej. Przed wykonaniem oznaczeń homogenaty rozcieńczano w stosunku 1:10 buforem fosforanowym o pH=7,4.

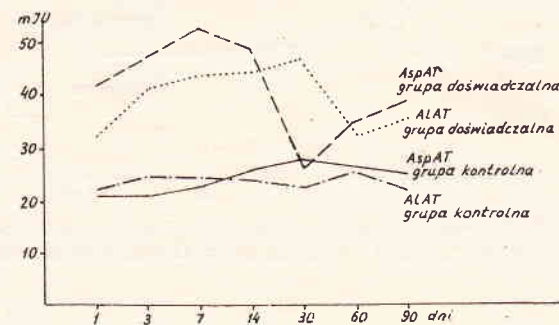
Wyniki i omówienie

U szczurów w modelu zatrucia ostrego stwierdzono wzrost aktywności aminotransferazy asparaginianowej i alaninowej w osoczu (ryc. 1) natomiast spadek aktywności w homogenacie wątroby (ryc. 2). Podobnie kształtowało się zachowanie fosfatazy zasadowej i kwaśnej w osoczu, gdzie obserwowano silny wzrost aktywności obu oznaczanych enzymów (ryc. 5). Aktywność dehydrogenazy mleczanowej w osoczu wzrastała (ryc. 7), natomiast w homogenacie wątrobowym malała (ryc. 8). Nie stwierdzono zmian w zachowaniu się dehydro-

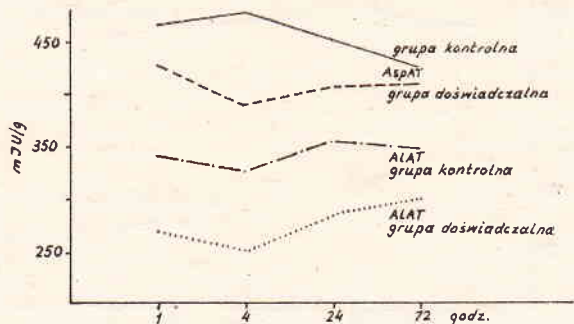
genazy glutaminianowej. Charakterystycznie kształtowała się aktywność esterazy cholinowej i acetylocholinesterazy. W zatruciu ostrym, już po pierwszej godzinie od podania Chlorfenwinfosu, wystąpił wzrost inhibicji esterazy cholinowej i acetylocholinesterazy w osoczu i krwinkach. W miarę upływu czasu inhibicja malała aż do uzyskania wartości fizjologicznych (ryc. 11). W zatruciu podostrym, w czasie podawania Chlorfenwinfosu, inhibicja obu cholinesteraz wzrastała, zarówno w osoczu jak i w erytrocytach (ryc. 12). W zatruciu wielokrotnym — podostrym aminotransferazy AspAT i ALAT zachowywały się tak jak w zatruciu ostrym, to znaczy występował wzrost ich aktywności w osoczu, a spadek w homogenacie (ryc. 3 i 4). Odnośnie do kształtowania się aktywności fosfatazy zasadowej obserwowano jej wzrost w osoczu krwi (ryc. 7), natomiast w homogenacie wątroby, po krótkotrwałym, tygodniowym wzroście, nastąpił jej spadek, utrzymujący się do końca doświadczenia. Fosfataza kwaśna zachowywała się podobnie jak w zatruciu ostrym, to znaczy w osoczu wystąpił wzrost jej aktywności, a spadek w homogenacie wątroby. Dehydrogenaza mleczanowa zachowywała się w zatruciu podostrym jak w ostrym, a aktywność jej wzrastała tak w osoczu, jak i w homogenacie (ryc. 9 i 10). Dehydrogenaza glutaminianowa nie wykazała żadnych zmian aktywności.



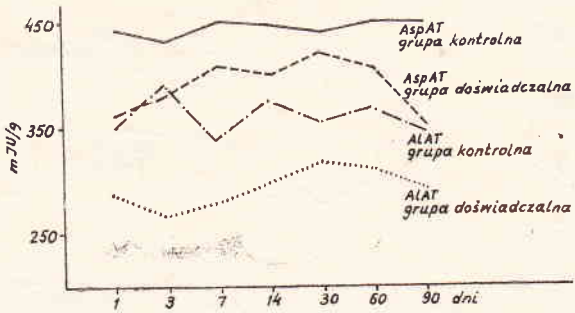
Ryc. 1. Zmiany w aktywności aminotransferaz osocza krwi szczurów po zatruciu jednorazowym Chlorfenwinfosem



Ryc. 3. Zmiany aktywności aminotransferaz w osoczu krwi szczurów po zatruciu wielokrotnym, podostrym Chlorfenwinfosem



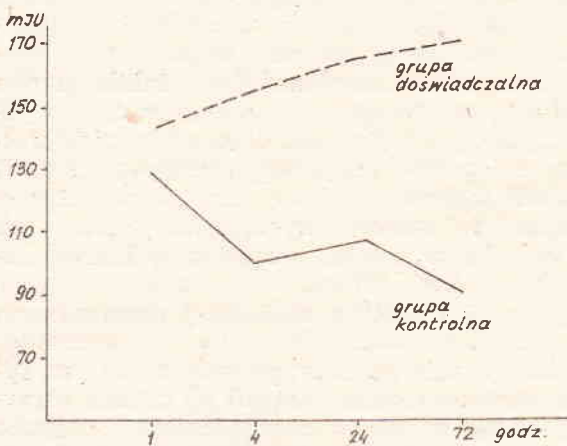
Ryc. 2. Zmiany aktywności aminotransferaz w homogenacie wątroby po zatruciu jednorazowym Chlorfenwinfosem



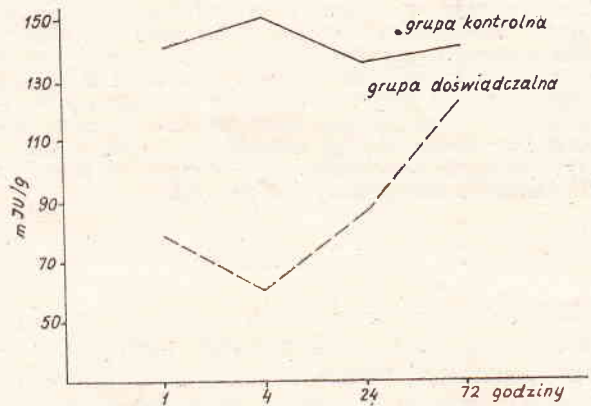
Ryc. 4. Zmiany aktywności aminotransferaz w homogenacie wątroby po zatruciu wielokrotnym, podostrym Chlorfenwinfosem

Wzrost aktywności AspAT i AlAT w osoczu i spadek ich aktywności w homogenacie wątroby w zatruciu ostrym i podostrym wskazuje na uszkadzające działanie Chlorfenwinfosu na komórki wątroby, co jest zgodne z wynikiem

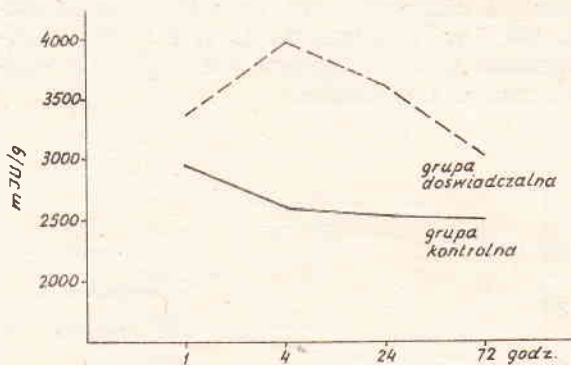
badania Lasoty (8, 9). Uzyskane wyniki w zachowaniu się aktywności fosfatazy zasadowej i kwaśnej świadczą o uszkadzającym działaniu Chlorfenwinfosu na wątrobę, co zgodne jest z badaniami Giermaziaka (3) i Panka (13).



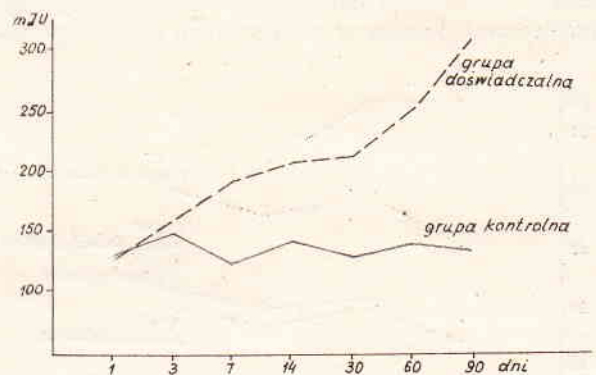
Ryc. 5. Aktywność fosfatazy zasadowej w osoczu krwi szczurów po jednorazowym zatruciu Chlorfenwinfosem



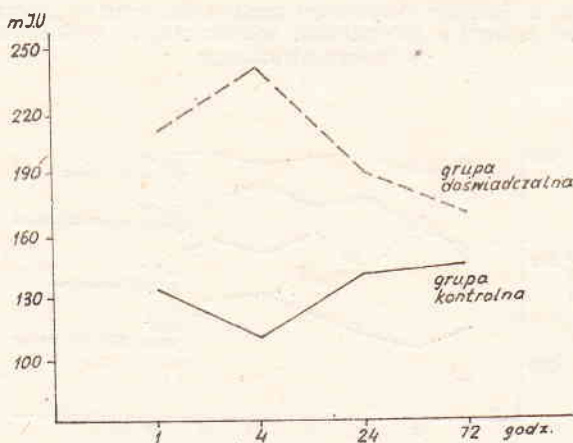
Ryc. 8. Aktywność dehydrogenazy mleczanowej w homogenacie wątroby po zatruciu jednorazowym Chlorfenwinfosem



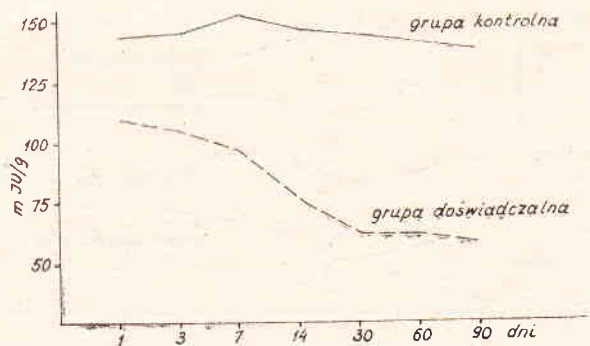
Ryc. 6. Aktywność fosfatazy zasadowej w homogenacie wątroby po zatruciu jednorazowym Chlorfenwinfosem



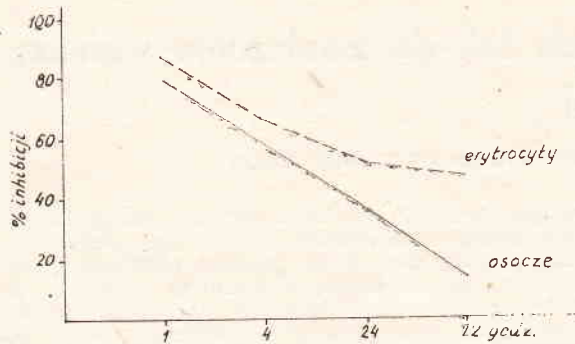
Ryc. 9. Aktywność dehydrogenazy mleczanowej w osoczu krwi szczurów po zatruciu wielokrotnym, podostrym Chlorfenwinfosem



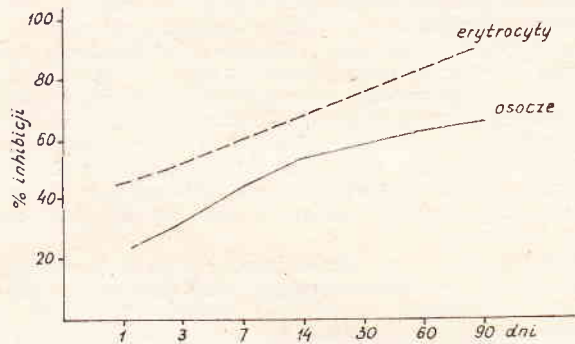
Ryc. 7. Aktywność dehydrogenazy mleczanowej w osoczu krwi szczurów po jednorazowym zatruciu Chlorfenwinfosem



Ryc. 10. Aktywność dehydrogenazy mleczanowej w homogenacie wątroby po zatruciu wielokrotnym, podostrym Chlorfenwinfosem



Ryc. 11. Inhibicja cholinesterazy w zatruciu jednorazowym chlorfenwinfosem w osoczu i acetylocholinesterazy w erytrocytach



Ryc. 12. Inhibicja cholinesterazy w zatruciu wielokrotnym, podostrym Chlorfenwinfosem w osoczu i acetylocholinesterazy w erytrocytach

Aktywność esterazy cholinowej jest charakterystyczna dla zatruc tak ostrych, jak i wielokrotnych, a otrzymane wyniki pokrywają się z wynikami badań Kossakowskiego (7), Faffa (2) oraz O'Brien (11).

Wnioski

1. Chlorfenwinfos powoduje uszkodzenie komórek wątrobowych, a świadczy o tym zachowanie się aktywności aminotransferaz, fosfatazy zasadowej oraz dehydrogenazy mleczanowej.

2. Aktywność cholinesterazy jest charakterystyczna dla zatruc z tym, że w zatruciu wielokrotnym, w miarę podawania Chlorfenwinfosu nasila się hamowanie aktywności tego enzymu.

3. Występują nieznaczne zmiany aktywności fosfatazy kwaśnej, brak jest natomiast zmian w aktywności enzymu mitochondrialnego — dehydrogenazy glutaminianowej.

Piśmiennictwo

- Bańkowska J., Tyrkiel E., Syrowatka T.: Roczniki PZH 26, 4, 1975.
- Faf J.: Acta Physiol. Pol. 26, 5, 1975.
- Giermaziak S.: Med. Pracy 24, 5, 1973.
- Goszczyńska K.: Roczniki PZH 22, 3, 1971.
- Jovic J.: Biochem. Pharmacol. 20, 519, 1971.
- Kontek M.: Med. Pracy 24, 2, 1973.
- Kossakowski S.: Medycyna Wet. 30, 400, 1974.
- Lasota W., Antolak M.: Bromat. 6, 291, 1973.
- Lasota W.: Bromat. 6, 435, 1973.

- Nowak K.: Roczniki PZH 21, 5, 1970.
- O'Brien R. D.: Insecticides action and metabolism. Acad. Press, New York, 1970.
- Pachecka J.: Roczniki PZH 26, 3, 1975.
- Panek R., Wiśniewski K., Danieluk J., Szymański B.: Bromat. 6, 153, 1973.
- Podolak M., Warchocki B.: Bromat. 12, 141, 1979.
- Sitkiewicz D., Konecka A., Skonieczna M., Sliwińska N.: Roczniki PZH 26, 3, 1975.
- Strobel-Kamińska K.: Bromat. 11, 139, 1978.
- Strobel-Kamińska K.: Bromat. 11, 271, 1978.
- Strobel-Kamińska K.: Bromat. 11, 397, 1978.
- Syrowatka T.: Roczniki PZH 20, 5, 557, 1969.
- Williams G. H. W.: Toxic. appl. Pharm. 14, 263, 1969.

Adres autora: doc. dr hab. Henryk Kraczkowski, ul. Kraśkińskiego 6 m 27, 20-709 Lublin.

Курьс Г., Крачковский Г. — Активность избранных энзимов в плазме и в печеночной ткани крыс, в остром и подостром, многократном отравлении Хлорфенвинфосом

Цель работы состояла в определении влияния Хлорфенвинфоса на уровень активности избранных энзимов в плазме крови и в гомогенате печени в остром и многократном подостром отравлении крыс. В кровяной плазме и в гомогенатах печеночной ткани определяли активность глутаматаспартат- и глутаматаланинтрансаминазы, кислотной и щелочной фосфатаз, лактатной и глутаминатной дегидрогеназ, а также активность холинэстеразы, которую определяли в плазме и кровяных тельцах. Констатировали, что Хлорфенвинфос вызывает повреждение печеночных клеток, о чем свидетельствует сохранение так в плазме, как и в печеночных гомогенатах активности определяемых энзимов, как: аминотрансфераза, фосфатаза и лактатная дегидрогеназа. Оказалось, что в многократном отравлении увеличивается торможение активности холинэстеразы.

Kurys H., Kraczkowski H. — The activity of chosen enzymes in plasma and in the liver tissue of rats with acute, subacute and a multiple intoxication with chlorfenvinfos

The purpose of the studies was to establish the influence of chlorfenvinfos on the activity of chosen enzymes in blood plasma and in the liver homogenates in acute, subacute and a multiple intoxication with this chemical. It was determined the activity of aspartic aminotransferase, alanine aminotransferase, acid and alkaline phosphatase, lactic dehydrogenase, glutamate dehydrogenase in blood plasma and in the liver homogenates. The activity of cholinesterase was determined in blood plasma and in red blood cells. It was found that chlorfenvinfos causes a damage of the liver cells, revealed by the behaviour of the activity of aminotransferase, phosphatase and lactic dehydrogenase both in blood plasma and the liver homogenates. In a multiple intoxication the restrain of the activity of cholinesterase increases.

JOHNSON R. P., POREY R. C.: Przekazywanie i zanikanie matczyne przeciwciał dla kalciwirusów kotów. (Transfer and decline of maternal antibody to feline calcivirus). Can. vet. J. 24, 6—9, 1983 (1).

Kocięta pochodzące od matek szczepionych przeciwko kalciwirusowi kotów (FCV) natiły za pośrednictwem siary odporność przeciwko temu wirusowi, o czym świadczyło miano swoistych przeciwciał neutralizujących wirus. Miano tych przeciwciał u kociąt w wieku 7 dni życia wynosiło od 1:48 do 1:128 tj. tyle ile u matek. Miano swoistych przeciwciał stopniowo obniżało się, przy czym ich okres biologicznego półtrwania wynosił 15 dni.

G.