

ROMUALD NOWOSAD, JAN SIMONI, ŁUCJA KUBOK-GOTTLIEB

Umiejscowienie i dynamika wydalania wolframu-185 u kurcząt w warunkach parenteralnego skażenia

Pracownia Ochrony Radiologicznej Katedry Fizjopatologii
Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Fizjologiczna rola wolframu nie została jeszcze dokładnie określona, chociaż wiadomo, że pierwiastek ten w organizmach roślinnych i zwierzęcych działa antagonistycznie w stosunku do melibdenu, wywołując zaburzenia w jego metabolizmie (7, 12, 13). W ostatnim okresie zwraca się coraz większą uwagę na łatwość akumulacji tego pierwiastka w środowisku, jak i powszechność jego występowania, głównie w rejonach przemysłowych (3). O występowaniu wolframu w organizmach świadczy jego obecność w białkowych produktach pochodzenia roślinnego (0,7 ppm) i zwierzęcego (1 ppm) (5).

Wolfram jest typowym pierwiastkiem o właściwościach oksyfilnych, tworzącym łatwo jony i związki kompleksowe. Występuje wyłącznie w zespolonym anionie WO_4 . Podstawowym minerałem wolframu jest wolframit i szelit. Koncentracja wolframu w wodach głębinnych z obszarów obkruszcowania tym pierwiastkiem wynosi od 100 do 300 ppm (9). Zawartość wolframu w powierzchniowych poziomach gleb jest zróżnicowana i waha się od 10 do 2500 ppm (2).

Możliwość wnikania tego pierwiastka do łańcucha troficznego człowieka i zwierząt jest tym wyższa, że rośliny stosunkowo łatwo akumulują wolfram w rejonach występowania kruszcu zawierającego ten pierwiastek, jak i w obszarach przemysłowych. Poziom wolfram w roślinach waha się w granicach od 0,7 do 3,5 ppm (4).

Podwyższona zawartość wolframu w środowisku naturalnym człowieka i zwierząt jest między innymi związana z uwalnianiem tego pierwiastka w procesie spalania węgla. W popiołach węgla, w zależności od ich pochodzenia geologicznego, koncentracja wolframu sięgać może od 40 do 440 ppm (12).

Przegląd piśmiennictwa wskazuje, że większość autorów zalicza wolfram do pierwiastków toksycznych, rozpowszechnionych w środowisku (4, 5, 7, 12, 13).

Do tej pory mało uwagi poświęcono badaniom nad migracją tego pierwiastka w łańcuchu pokarmowym człowieka i zwierząt hodowlanych (1).

W tej sytuacji celową wydawała się próba oceny dynamiki rozmieszczenia i wydalania wolframu z organizmu kurcząt, stanowiących istotne źródło białka, a co za tym idzie — ważne ogniwo w łańcuchu pokarmowym człowieka.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 24, 8-tygodniowych kogutkach rasy White Rock. Kurczęta hodowano syste-

mem klatkowym, w pomieszczeniach wiwaryjnych o regulowanych warunkach środowiska. Temperatura, wilgotność, oświetlenie pomieszczeń w granicach norm zootechnicznych. Kurczęta karmione były mieszanką paszową DK. Paszę i wodę wodociagową otrzymywały *ad libitum*.

W 8 tygodniu życia wszystkim ptakom podano w formie iniekcji dożylniej, do żyły skrzydłowej, radioizotop wolframu-185 w postaci wolframianu sodowego (Na_2WO_4), w dawce 740 kBq/kg m.c., co stanowiło około 0,1 ml roztworu. Preparat produkcji OPiDI Instytutu Badań Jądrowych w Swierku k. Otwocka.

W trakcie doświadczenia po 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 i 9 dobie od momentu podania wolframu-185 z żyły skrzydłowej pobierano 2 ml próbkę krwi, w której oznaczano radioaktywność.

W odstępach jednodniowych, od 1 do 9 dnia badań określano koncentrację wolframu-185 w pomociu ptaków. W tym celu ważono w całości pomiot, wydalany w ciągu doby przez każdego ptaka, homogenizowano go i sporządzano jednorodne naważki o masie około 2,5 grama.

W 1, 3, 6 i 9 dobie od momentu podania radiowolframu dokonywano uboju ptaków przez wykrwawienie. W trakcie dysekcji wyosobniano narządy i tkanki (wątrobę, nerki, śledzionę, płuca, tchawicę, mięśnie piersiowe, mięśnie uda, serce, tarczycę, nadnercze, trzustkę, kość mostka, kość udową, chrząstkę mostka, mózg, oko, skórę i pióra), które z osobna homogenizowano w celu sporządzenia jednorodnych 2,5 gramowych próbek.

Przewód pokarmowy dzielono na odcinki anatomiczne: wole z przełykiem, żołądek gruczołowy i mięśniowy, dwunastnicę, jelito czcze z biodrowym, jelito ślepe i jelito proste, które oddzielnie ważono wraz z treścią pokarmową. Następnie treść usuwano i po dokładnym wypłukaniu i osuszeniu poszczególne odcinki przewodu pokarmowego ponownie ważono. Do badań radiometrycznych sporządzono 2,5 g naważki homogenatów prób.

Zawartość wolframu-185 w tak przygotowanych próbach określano za pomocą urządzenia scyntylicyjnego USB-2, wyposażonego w scyntylicyjny krystaliczny NaJ/Tl , współpracującego z przelicznikiem elektronyowym PT-72. Błąd pomiaru wynosił 2–3%.

Po uwzględnieniu poprawki na tło, rozpad promieniotwórczy i wydajność układu pomiarowego wyniki zostały przedstawione w procentach podanej dawki radioizotopu zawartej w 1 gramie próbki narządu lub tkanki $\times 100$. Podobnie obliczono także procent dawki zawarty w stałym narządzie, tkance, treści pokarmowej, krwi i pomociu.

W tkankach, które nie były objęte całościowym ważeniem (mięśnie, kości, skóra, pióra, krew), wyliczono przyjęte mnożniki fizjologiczne (6, 10).

Wyniki badań poddano obliczeniom statystycznym wyliczając średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań przedstawiono w tab. 1, 2 i 3 oraz na ryc. 1 i 2. Przeprowadzone pomiary radioaktywności krwi wskazują, że radioizotop długo utrzymuje się w krwiobiegu. W kolejnych przedziałach czasowych w 2, 3 i 5 dniu

Tab. 1. Rozkład ¹⁸⁶W w mięśniach, skórze i jej wytworach, kościach, oku i mózgu kurcząt ($\bar{x} \pm s$)

Narząd		1 doba		3 doba		6 doba		9 doba	
Mięśnie piersiowe	a	0,46	0,13	0,39	0,16	0,33	0,13	0,41	0,30
	b	220,35	44,33	190,28	70,20	18,57	2,59	63,74	19,21
Mięśnie uda	a	0,43	0,09	0,36	0,02	0,02	0,01	0,23	0,13
	b	270,74	69,56	212,87	41,46	16,27	6,17	59,10	9,55
Mięsień sercowy	a	0,48	0,06	0,37	0,08	0,07	0,01	0,13	0,03
	b	5,71	1,22	3,50	0,70	0,70	0,11	1,24	0,32
Skóra	a	1,48	0,19	1,19	0,18	0,35	0,09	0,39	0,05
	b	193,72	27,82	145,41	20,26	51,86	17,47	55,22	11,47
Pióra	a	1,72	0,16	1,13	0,09	0,61	0,23	0,83	0,09
	b	180,28	11,38	117,62	8,10	69,60	23,98	92,00	9,90
Kość płaska	a	12,75	1,19	11,30	0,98	7,97	1,29	4,84	0,65
	a	16,41	4,44	16,30	2,19	12,26	1,42	14,27	4,44
Szkielet	b	302973	180,10	418839	57507	345690	444,11	282370	555,86
	a	0,96	0,11	2,73	0,85	0,37	0,04	0,40	0,10
Chrząstka	a	1,06	0,13	1,08	0,26	0,35	0,06	1,60	0,57
	a	1,00	0,20	1,24	0,64	0,29	0,05	0,47	0,13

Objaśnienia: a — % dawki/1 g×10⁶, b — % dawki/cały narząd×10⁶.

obserwowano stały, wolno postępujący spadek aktywności. W 5 dniu poziom wolframu zmniejszył się prawie trzykrotnie (ryc. 1).

W dalszych dniach aktywność krwi wzrosła utrzymując się jednak w przedziale najniższych aktywności próbek badanej krwi.

Poziom wolframu w badanych narządach i tkankach w 24 godzinie doświadczenia okazał się znacznie zróżnicowany. Badane narządy i tkanki ze względu na zawartość wolframu (tab. 1 i 2) w porównaniu do jego stężenia we krwi można podzielić na trzy grupy.

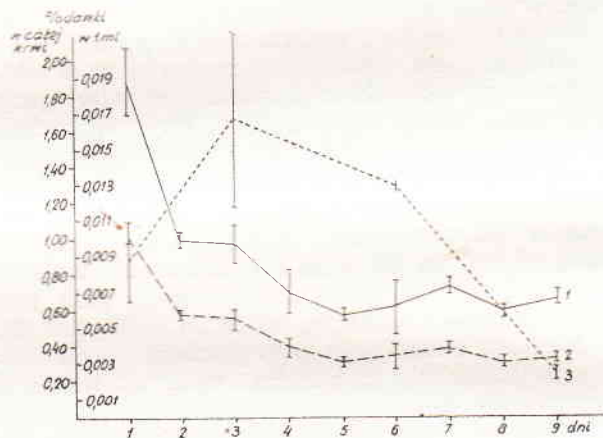
Grupa I — o stężeniu wyższym od stężenia we krwi. Tutaj należy: tkanka kostna (16,41% — 12,75% dawki/1 g próby), a następnie w szeregu malejącym: nadnercza, tarczyca, nerki, wątroba, pióra, jądra, skóra i oko.

Grupa II — próbki mózgu, śledziony, chrząstki, wykazujące radioaktywność zbliżoną do zawartości wolframu we krwi pełnej (1,0%/1 ml próbki).

Grupa III — do niej należą płuca, trzustka, tchawica, mięsień sercowy, mięśnie białe, mięśnie czerwone — charakteryzujące się stężeniem wolframu-185 mniejszym niżeli w próbkach krwi.

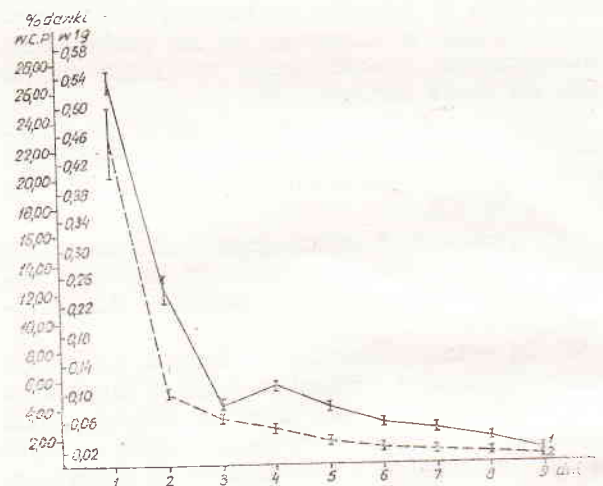
Wyniki pomiarów w 24 godzinie doświadczenia i dalszych jednoznacznie wskazują, że narządem krytycznym dla wolframu jest tkanka kostna i nadnercza. Zwraca także uwagę zawartość wolframu w oku i mózgu, zbliżona do poziomu w narządach mięsnych. W oku stężenie tego izotopu w 9 dniu doświadczenia jest wyższe od ilości stwierdzonej w 24 godzinie doświadczenia.

W pierwszej dobie doświadczenia wolframu-185 pojawia się w żółci w ilości mniejszej od stężenia jego krwi, lecz w kolejnych trzech dniach krzywa stężenia wolframu w żółci rośnie i osiąga wartości maksymalne (ryc. 1). W dalszym ciągu doświadczenia krzywa opada, w 9 dniu aktywność badanych próbek jest najniższa.



Ryc. 1. Koncentracja wolframu-185 w krwi i żółci kurcząt

Objaśnienia: 1 — procent dawki w całej krwi organizmu, 2 — procent dawki w 1 ml krwi, 3 — procent dawki w 1 ml żółci.



Ryc. 2. Koncentracja wolframu-185 w pomociu kurcząt

Objaśnienia: 1 — procent dawki w całym pomociu, 2 — procent dawki w 1 g pomociu.

Tab. 2. Zawartość ^{185}W w narządach mięsnych, gruczołach wewnętrznego wydzielania i układzie oddechowym kurcząt ($\bar{x} \pm s$)

Narząd	1 doba	3 doba	6 doba	9 doba
Wątroba	a 1,87 0,31 b 73,29 11,78	1,57 0,28 39,05 4,37	0,91 0,18 30,63 6,92	0,59 0,09 23,45 3,33
Trzustka	a 0,72 0,04 b 3,59 0,28	0,66 0,18 3,08 1,19	0,21 0,08 1,06 0,30	0,18 0,05 1,07 0,33
Nerki	a 2,91 0,40 b 44,78 4,70	1,17 0,05 16,81 1,42	0,65 0,20 9,93 2,67	0,34 0,05 5,54 0,42
Śledziona	a 0,97 0,07 b 2,59 0,29	0,66 0,05 2,52 0,45	0,42 0,10 2,60 1,60	0,25 0,05 1,59 0,23
Jądra	a 1,57 0,41 b 3,45 2,27	2,48 0,63 2,18 1,35	0,77 0,07 2,79 0,43	0,20 0,26 3,10 1,05
Nadnercze	a 10,69 6,35 b 1,65 0,51	8,11 2,25 0,97 0,09	0,91 0,15 0,21 0,09	0,52 0,09 0,19 0,07
Tarczycyca	a 4,01 0,85 b 0,73 0,17	6,71 1,24 1,00 0,19	0,13 0,05 0,03 0,01	0,57 0,11 0,16 0,03
Płuca	a 0,73 0,06 b 7,10 1,55	0,54 0,11 7,32 2,22	0,05 0,04 12,11 7,46	0,16 0,02 1,96 0,29
Tchawica	a 0,72 0,05 b 1,65 0,28	1,27 0,63 6,55 10,01	0,44 0,20 0,59 0,03	0,15 0,05 0,54 0,31

Objaśnienia: a — % dawki/1 g $\times 10^3$, b — % dawki/cały narząd $\times 10^3$.

Aktywność żółci pozostaje w związku z aktywnością krwi i wątroby. Wolfram przemieszcza się w tym narządzie dwufazowo (nagromadzenie — wydalanie): wzrost stężenia w pierwszych 24 godzinach (1,872/1 g próbki) i wolny — spadek w 3, 6 i 9 dniu doświadczenia (0,58%/1g próbki).

Z aktywnością żółci łączy się wysoka aktywność treści przewodu pokarmowego. Zwraca uwagę różnica aktywności próbek z badanych odcinków przewodu pokarmowego. Najwyższą aktywność już w 24 godzinie (tab. 3) wykazała treść jelita ślepego, jelita prostego, żołądka mięśniowego i dwunastnicy. Do 6 doby doświadczenia aktywność próbek maleje, w 9 dniu wzrasta ich aktywność.

Wyniki pomiarów aktywności próbek pomiotu wskazują, że największa ilość wolframu została wydalona w pierwszych 4 dniach doświadczenia (ryc. 2) głównie przez przewód pokarmowy, na co wskazuje aktywność próbek treści z różnych odcinków przewodu pokarmowego.

Analiza dynamiki zmian aktywności próbek poszczególnych badanych odcinków przewodu pokarmowego wykazały, że wszystkie próbki charakteryzują się malejącą do 6 dnia doświadczenia aktywnością. W okresie od 6 do 9 dnia odcinki nie wypełniające się żółcią — wykazują wzrost aktywności. Zjawisko to dotyczy nie tylko przewodu pokarmowego. Po 144 godzinach doświadczenia pomiary wskazują na znaczne przemieszczanie się wolframu, wyrażające się spadkiem aktywności badanych próbek. Między 6—9 dniem doświadczenia następuje wzrost aktywności próbek lub aktywność ich utrzymuje się na niezmiennym poziomie.

O mającej miejsce redystrybucji metabolicznej świadczy także wzrost aktywności krwi i zmiana aktywności większości badanych narządów i tkanek. Spadek aktywności wykazały kość płaska i narządy mięsne (wątroba, trzustka, nerki, śledziona, płuca) i tchawica, a więc te, do których badany pierwiastek oka-

zywał znacznego stopnia tropizm w pierwszych godzinach doświadczenia.

Wyniki doświadczenia wskazują, że po podaniu dożylnym przemieszczanie się wolframu w przewodzie pokarmowym odbywa się dwufazowo (nagromadzenie — wydalanie) lub trójfazowo (nagromadzenie — wydalanie — nagromadzenie).

Wolfram w postaci anionu, podobnie jak wiele innych metali, łatwo przechodzi przez błonę śluzową przewodu pokarmowego (8). Układ doświadczenia eksponuje niejako rolę tego narządu, bowiem poziom radioizotopu w ścianie poszczególnych odcinków przewodu wskazuje, że są to drogi przenikania tego pierwiastka, czyli wydalanie do światła przewodu (aktywność dwunastnicy i pozostałych odcinków jelit).

Taką interpretację komplikuje aktywność żółci, która jest bogata w ten radiopierwiastek. O przechodzeniu tego pierwiastka do światła przewodu świadczy aktywność ścian pozostałych odcinków przewodu pokarmowego, wola z przelykiem, ścian żołądka gruczołowego i mięśniowego oraz aktywność treści tych odcinków. Różne natężenie procesów biochemicznych w tkance mięśniowej potwierdza się zachowaniem wolframu. W pierwszych trzech dobach doświadczenia jednakowa koncentracja wolframu w mięśniach czerwonych, białych oraz w sercu ulega zmianie w 6 i 9 dobie, gdzie najwyższe stężenie ^{185}W występuje w mięśniach białych, mniejsze w czerwonych, najniższe (na jednostkę wagi) w sercu.

W dostępnym piśmiennictwie brak szczegółowych informacji na temat zachowania się wolframu w organizmie zwierząt utrudnia interpretację obserwowanych zjawisk. Nieliczne prace dotyczą rozmieszczenia wolframu-185 u owiec i świń po podaniu *per os* (1). Skażenie dożylnie doprowadzało do odmiennego rozkładu W-185 w organizmie ptaków. Wolfram w największej ilości deponował się w szkieletcie kostnym.

Z danych piśmiennictwa wynika, że po wprowadzeniu wolframu-185 *per os* dochodzi do akumulacji tego pierwiastka w nerkach, wątrobie i gruczołach limfatycznych. W znacznej koncentracji wolfram występuje w mięśniach kurcząt. Koncentracja ta może przypuszczalnie przyjmować znaczne wielkości, zależne od dawki. Zwraca uwagę znaczna aktywność przewodu pokarmowego.

Notowane w literaturze spostrzeżenia, że wolfram łatwo wchłania się przez ścianę przewodu pokarmowego, w naszym doświadczeniu znajdują potwierdzenie. Pierwiastek wydany z żółcią jest wchłaniany w dalszych odcinkach przewodu pokarmowego. Natomiast poziom wolframu w ścianach odcinków powyżej ujścia żółci wskazuje jednoznacznie na wydalanie wolframu przez ścianę przewodu pokarmowego.

W 9 dniu od chwili dożylnego skażenia w organizmie ptaków pozostaje jeszcze około 40%

Tab. 3. Rozkład ^{185}W w układzie pokarmowym

Narząd		1 doba		3 doba		6 doba		9 doba	
Wole z przetykiem	a	0,63	0,05	0,99	0,09	0,08	0,03	1,78	1,49
	b	6,76	0,73	3,64	0,62	1,14	0,36	1,20	0,09
Żołądek gruczołowy	a	0,47	0,03	0,35	0,06	0,07	0,03	0,14	0,01
	b	3,45	0,29	2,82	0,72	0,50	0,09	1,35	0,31
Żołądek mięśniowy	a	0,83	0,12	0,36	0,08	0,11	0,02	0,15	0,02
	b	30,17	7,81	15,98	3,60	6,39	1,34	7,61	1,46
Dwunastnica	a	0,95	0,10	0,54	0,10	0,15	0,04	0,18	0,02
	b	9,27	1,25	4,44	1,46	1,08	0,21	1,68	0,34
Jelito czcze z biodrowym	a	0,59	0,04	0,41	0,07	0,29	0,19	0,14	0,01
	b	18,19	1,47	12,67	3,12	3,03	0,66	4,16	0,60
Jelita ślepe	a	3,12	0,55	0,91	0,16	0,35	0,10	0,34	0,06
	b	28,01	5,63	8,64	2,12	3,08	0,81	3,16	0,78
Jelito proste	a	1,43	0,19	0,69	0,15	0,14	0,02	0,15	0,03
	b	3,91	0,54	1,64	0,40	0,38	0,07	0,86	0,17
Treść:									
żołądka mięśniowego	a	4,39	0,87	1,17	0,19	0,17	0,03	0,73	0,18
	b	109,75	10,12	29,25	5,12	4,25	0,68	18,25	4,50
dwunastnicy	a	3,17	1,01	1,74	0,42	0,20	0,03	0,30	0,08
	b	31,70	10,12	17,40	4,17	2,00	0,39	3,00	4,74
jelita czczego z biodrowym	a	1,12	0,17	0,86	0,17	0,17	0,02	0,67	0,20
	b	44,80	6,71	34,40	6,97	6,80	0,74	26,80	8,11
jelit ślepych	a	88,05	32,22	25,42	7,29	6,67	0,86	5,38	1,95
	b	1760,00	567,32	508,00	137,92	133,40	25,61	108,00	41,43
jelita ślepego	a	17,02	7,60	17,71	4,07	3,71	1,21	4,57	1,79
	b	51,06	11,52	53,10	20,15	11,13	3,77	13,71	5,39

Objaśnienia: a — % dawki/1 g $\times 10^3$, b — % dawki/cały narząd $\times 10^3$.

wprowadzonego radioizotopu. Ponad 60% dawki ulega wydaleniowi w ciągu 9 dni wraz z pomiotem.

W procesie wydalania wolframu u ptaków niewątpliwie pewną niestaloną rolę odgrywają nerki, na co wskazują doświadczenia przeprowadzone na innych gatunkach zwierząt i wysoka aktywność tego narządu w naszym doświadczeniu.

Z uwagi na ilość zdeponowanego w tkance kostnej (w 9 dniu doświadczenia około 28% podanej dawki) wolframu, mimo znacznej ilości uwalnianej z organizmu oraz mimo tempa, w jakim jest uwalniany, — nie można zaliczyć go do pierwiastków o szybkim obrocie w organizmie.

Ocena ilości wolframu rozmieszczonego w organizmie kurcząt skłania do stwierdzenia, że dawka skażająca dość szybko ulega odłożeniu w narządach i tkankach doświadczalnych zwierząt.

Szerokie zastosowanie wolframu w przemyśle prowadzi do powszechnego jego występowania w środowisku — w związkach przyswajalnych przez organizm człowieka i zwierząt. Prezentowane badania wykazały jego znaczną aktywność biologiczną.

Mając na uwadze toksyczność tego pierwiastka, dynamikę przemian w organizmie, celową wydaje się kontynuacja badań nad zachowaniem się wolframu w sytuacjach prowadzących do intoksykacji tym pierwiastkiem, szczególnie w wariancie skażenia *per os* i przez narząd oddechowy.

Piśmiennictwo

- Bell M. C., Sneed N. N.: Trace element metabolism in animals. E. S. Livingston, Edinburg, 1970.
- Connor J. J., Shacklette H. T.: Unites Stated Geol. Survey. Prof. Paper, 574-F, 168, 1975.
- Dutkiewicz T., Kulka E., Sokolowska D.: Bromatologia 1-2, 35, 1982.
- Furr A. K., Kelly W. C., Bache C. A.: J. agric. Fd Chem. 24, 883, 1976.
- Furr A. K., Kosikowski F. V., Dachne C. A., Lisk D. J.: J. Fd Sci. 39, 887, 1974.
- Kubok-Gottlieb L.: Rozmieszczenie ^{144}Ce u brojlerów zdrowych i w niektórych stanach patologicznych organizmu. Praca dokt. maszynopis. AR Wrocław, 1978.
- Nicholas D. J. D.: The function of trace elements in plants. Trace elements in soil-plant-animal systems. Academic Press, New York, 1975.
- Nikonorow M.: Toksykologia żywności. PZWL, Warszawa, 1979.
- Sčerbina V. V.: Geochimija molibdena i wolframa. Izd. Nauka, Moskwa, 1971.
- Swierczewska E.: Użytkowanie mięsne kur, red. E. Potenkowska, Technologia przemysłowej produkcji drobiarskiej, PWRiL, Warszawa, 1983.
- Wedepohl K. H.: Handbook of geochemistry, Springer-Verlag, Berlin, 1969.
- Winston P. W., Hofmann L., Smith W.: Trace Subst. Env. Health. 7, 241, 1973.
- Zajic J. E.: Microbial Biogeochemistry, Academic Press, New York, 1969.

Adres autora: doc. dr Romuald Nowosad, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Новосад Р., Симони Я., Кубок-Готтлиб Л. — Локализация и динамика удаления вольфрама-185 у цыплят в условиях парентерального заражения

Исследования касались уровня радиоизотопа вольфрама-185 после внутривенного ввода цыплятам. Длительность опыта — 9 дней. Наивысшая концентрация вольфрама-185 в исследуемых органах и тканях наблюдалась в I сутки эксперимента (больше всего — в костной ткани, затем в уменьшающемся ряду в надпочечниках, щитовидной железе, почках, печени, перьях, яичках, коже и глазу).

В остальных временных интервалах (3, 6 и 9 сутки) в общем отмечается постепенное понижение концентрации вольфрама-185 в исследуемых пробах.

Анализ содержания радиовольфрама в помете показал его интенсивное удаление до 48 часов опыта, в следующие временных интервалах с 3 по 9 сутки было удалено ок. 1/5 введенной дозы.

Nowosad R., Simoni J., Kubok-Gottlieb E. — **Localization and dynamic of Wolfram-185 excretion in chickens polluted parenterally**

The studies concern the behaviour of radioisotope of Wolfram-185 in chickens after its intravenous in-

jection. Time of experiments lasted 9 days. The highest concentration of Wolfram-185 in the examined organs and tissues was observed in the first 24 h of the experiment (the highest concentration in bones then in suprarenal glands, thymus, kidneys, livers, faethers, testes, skin and eyes). In the remaining periods of observation (after 3, 6 and 9 days), generally, a stepwise decrease of the content of Wolfram-185 in the examined tissues is observed. Analysis of the content of Wolfram-185 in faeces revealed that it was intensively excreted up to 48 h of the experiment, and that from 3 to 9 day about 1/3 of the initial dose of Wolfram-185 was excreted.

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

HANNA CZECZOT, JERZY STRZEZEK

Heterogenność deoksyrybonukleaz układu rozrodczego buhaja i knura^{*)}

Katedra Biochemii Zwierząt Wydziału Zootechnicznego ART 10-718 Olsztyn-Kortowo, bl. 37.

Deoksyrybonukleazy (DNazy), mimo określenia ich funkcji w procesach replikacji, genetycznej rekombinacji i restrykcji DNA, w dalszym ciągu są enzymami niedokładnie poznanyimi (5, 9).

DNaza I-zasadowa (EC.3.1.4.5) oraz DNaza II-kwaśna (EC.3.1.4.6), występujące w większości tkanek i płynów ustrojowych, okazały się enzymami heterogennymi, wykazującymi znaczne różnicowanie gatunkowe dotyczące właściwości fizykochemicznych, specyficzności substratowej, sposobów hydrolizy i współdziałania z inhibitorami (5, 9). W przypadku nasienia aktywność DNaz zidentyfikowano w plazmie człowieka, psa, królika, tryka i buhaja (11). Natomiast Cordonier i Bernardi (1) opisali niektóre właściwości DNazy II plazmy nasienia buhaja. Z kolei Hanada i Nagase (3) zidentyfikowali aktywność omawianych enzymów w płynach ogona najądrza i bańki nasieniowodu buhaja, wiążąc zarazem ich funkcje z eliminacją słabych i zestarzałych plemników. Wniosek powyższy wydają się potwierdzać również badania Lachnera i wsp. (7, 8), którzy w przypadku nasienia człowieka zawierającego znaczny odsetek plemników zmienionych, wykazali niską aktywność DNaz w plazmie nasienia w porównaniu do normospermii. Niewiele jest danych dotyczących heterogenności DNaz nasienia i tkanek układu rozrodczego zwierząt. Jedynie Georgiew i wsp. (2) stosując metodę mikroelektroforezy w żelu poliakrylamidowym

stwierdzili 2 formy enzymów w plazmie nasienia buhaja.

Celem badań było określenie heterogenności elektroforetycznej DNaz nasienia oraz tkanek i płynów układu rozrodczego buhaja i knura.

Materiał i metody

Nasienie do badań uzyskiwano od buhajów rozplodowych rasy cb oraz knurów rasy wb i pbz. Bezpośrednio po pobraniu ejakulatów dokonywano oceny wstępnej ich jakości, a następnie odwirowywano przez 15 min przy 4000×g w temperaturze 20—25°C. Plazmę nasienia przechowywano do czasu analiz w temp. —20°C. Poszczególne odcinki układu rozrodczego (jądra, najądrza, gruczoły pęcherzykowe) pozyskiwano od zwierząt bezpośrednio po uboju. Skrawki tkanek homogenizowano od zwierząt bezpośrednio po uboju. Skrawki tkanek homogenizowano przez 10 min w homogenizatorze szklanym umieszczonym w łaźni lodowej. Uzyskane wodne homogenaty wirowano przez 30 min przy 10 000 g. Osad odrzucano, zaś supernatanty zamrażano. Płyn z ogona najądrzy uzyskano przez wyciskanie. Po odwirowaniu przez 15 min przy 5000×g płyn znad osadu zachowywano do dalszych analiz. Ze względu na trudności z uzyskaniem materiału doświadczalnego nie otrzymano płynów — pęcherzykowego i najądrzowego buhaja.

Badania biochemiczne dotyczyły:

- określenia zawartości białka całkowitego metodą biuretową wg Weichselbauma (13),
- oznaczenia aktywności DNazy zasadowej i kwaśnej wg metody Kurnick (6),
- rozdziłów elektroforetycznych plazmy nasienia i uzyskanych uprzednio płynów wraz z identyfikacją histochemiczną form molekularnych DNaz wg metody Neuhoffa (10).

W tym ostatnim przypadku rozdziłów elektroforetycznych dokonywano metodą mikroelektroforezy w 13,4% żelu poliakrylamidowym z DNA jako substratem. Do badań używano DNA natywnego oraz DNA zdenaturowanego. Uzyskane żele poddawano 1—2 h inkubacji w temp. 37°C w mieszaninach o pH 5,0; 7,4 oraz 8,5 w czasie 1—2 h. Formy molekularne DNaz

^{*)} Pracę wykonano w ramach problemu MR.II.10 pt.: „Fizjologia i patologia rozmnażania i okresu neonatalnego jako podstawy wzrostu produkcji zwierzęcej”.