

22. Tischner M., Kosiniak K.: Vlaams Dierg. Tijdschr. 55, 90, 1986.
 23. Tischner M., Kosiniak K.: Acta vet. scand. Suppl. 88, 83, 1992.
 24. Varner D.D., Schumacher J., Blanchard T.L., Johnson L.: Diseases and Management of Breeding Stallions. American Vet. Publ., Inc. Goleta, CA, 1991.

25. Wiśniewski E., Danek J.: Życie wet. 62, 329, 1987.

Adres autora: dr Janusz Danek, ul. Witeckiego 2/46, 85-791 Bydgoszcz

ALICJA KUREK, STEFAN KOSSAKOWSKI, ANDRZEJ LEDWOŻYŃ

Aktywność esterazy neurotoksycznej u kur wielokrotnie zatrutowanych DFP

Zakład Ochrony Radiologicznej i Badań Izotopowych, Instytut Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

Activity of neurotoxic esterase in hens poisoned over a period of time with DFP

The studies were carried out on 30 hens of the Leghorn breed, which were being poisoned with DFP for 20 days at a rate of 0.05 mg per 1 kg. The activity of AChE was determined in the plasma, brain and spinal cord and the activity of NTE in the brain and spinal cord after 1, 5, 15 and 20 days. In poisoned hens the activity of AChE decreased after the 1st injection to 55 per cent and did not change for up to 20 days; it fell to 82 per cent in the brain after 5 days and was on the same level for up to 20 days. In contrast, the activity of AChE in the spinal cord decreased successively up to 71 per cent after 20 days. The NTE activity in the brain dropped to 46 per cent and in the spinal cord to 40 per cent after 20 days.

Związki fosforoorganiczne (FO) mogą wywoływać u ludzi i zwierząt opóźniony efekt neurotoksyczny, który jest całkiem odmienny od ostrej odpowiedzi toksycznej, związanej z działaniem antycholinesterazowym. Nie występuje on nigdy wcześniej niż w 8 dni po zatruciu, a w łagodniejszych przypadkach występuje w okresie do 3-4 tygodni. Efekty te dotyczą głównie długich aksonów rdzenia kręgowego i nerwów obwodowych; zwykle są bardziej rozwinięte w kończynach tylnych – nogach aniżeli przednich – rękach (4).

Opóźniona neuropatia została po raz pierwszy rozpoznana przez Larota w 1899 r. u grzłlika leczonego fosfokreozotem, a opisana po raz pierwszy przez Smitha i wsp. w 1933 r. Przypadki tej choroby stwierdzano w Holandii, Niemczech, Francji u kobiet stosujących wyciąg z pietruszki z dodatkiem TOCP do wywołania aborcji, a także u żołnierzy niemieckich i francuskich w czasie II wojny światowej w wyniku używania oleju jadalnego zafaszowanego TOCP (22). Najpoważniejsze zatrucia z przypadkami neuropatii, obejmujące około 10 000 osób, wywołane zafaszowanym TOCP olejem jadalnym, miały miejsce w 1959 r. w Maroku (16).

Opóźnione neuropatie mogą występować również u osób zawodowo stosujących rozpuszczalniki, farby, lakiery, skóry naturalne i sztuczne i materiały plastikowe zawierające TOCP, środek zwiększający ich plastyczność (23).

Jeśli chodzi o pestycydy, to po raz pierwszy stwierdzono w USA neurotoksyczne działanie Leptofosu (2) i w związku z tym odwołano jakąkolwiek tolerancję dla tego związku w żywności oraz wprowadzono bieżącą kontrolę związków FO

przed ich dopuszczeniem do stosowania. Kontrole takie wprowadzono następnie w Wielkiej Brytanii, Niemczech, Kanadzie i innych krajach. Badania testowe tego typu polegają na oznaczaniu neurotoksycznej esterazy (NTE) u kur w wieku powyżej 180 dni otrzymujących testowany związek FO.

W związku z tym podjęto badania porównawcze aktywności acetylocholinoesterazy (AChE) i NTE w mózgu i rdzeniu kręgowym kur po wielokrotnym podawaniu DFP, który jest typowym związkiem FO o działaniu neurotoksycznym.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 30 kurach rasy Leghorn w wieku 12 miesięcy o masie ciała 1,8-2,4 kg. Zwierzęta przez cały okres doświadczenia były żywione standardową dietą z nieograniczonym dostępem do wody.

DFP (fluorofosforan dwuizopropylowy) rozpuszczony w mieszaninie glikolu propylenowego z alkoholem etylowym (1:1) w stężeniu 1 mg DFP/1 ml podawano kurom domięsniowo codziennie przez 20 dni w dawkach 0,05 mg/kg.

Oznaczanie aktywności AChE w osoczu, mózgu i rdzeniu kręgowym wykonano po 1, 5, 10, 15 i 20 dniach metodą Hestrina opisaną przez Juszkiewicza i wsp. (14). Oznaczanie NTE w mózgu i rdzeniu kręgowym wykonano w tych samych okresach metodą Johnsona (11). Zawartość białka w badanych tkankach oznaczano metodą Lowry i wsp. (21).

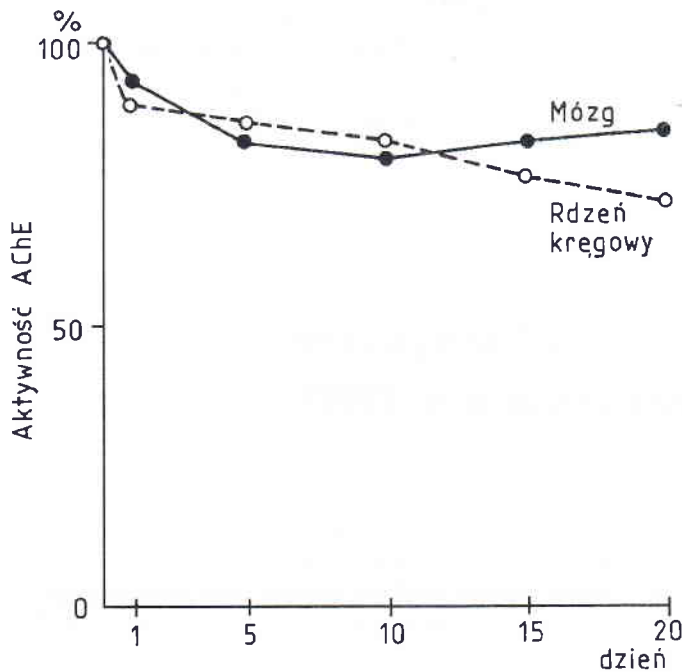
Krew do oznaczeń aktywności AChE w osoczu pobierano z żyły skrzydłowej. Do oznaczeń aktywności AChE i NTE w mózgu i rdzeniu kręgowym kury zabijano przez dekapitację bez narkozy. Aktywność enzymów oznaczano bezpośrednio po pobraniu prób.

Wyniki badań

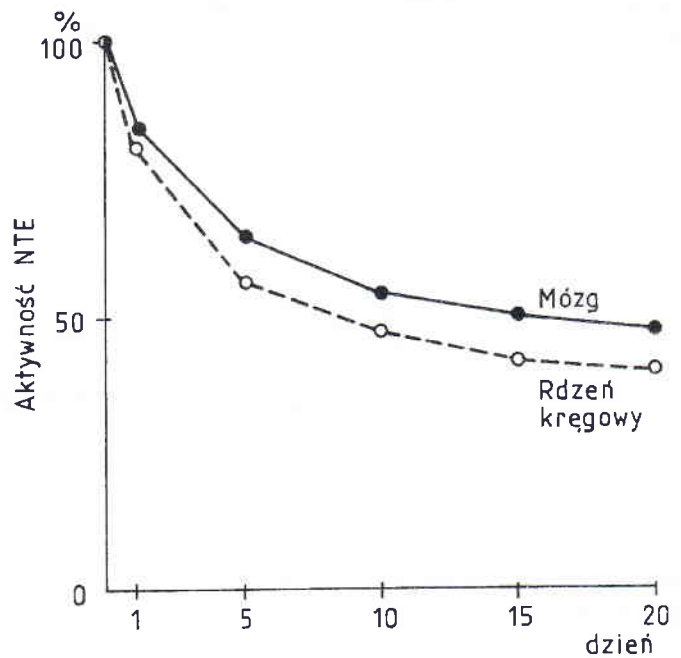
Aktywność AChE w osoczu przed podaniem DFP wynosiła (w nM/min/ml/ 650±43 (100%). Po pierwszej iniekcji DFP aktywność AChE zmniejszyła się w ciągu 24 godz. do 354±30 (55%). Następne, codzienne iniekcje DFP nie zmieniały istotnie aktywności AChE, która po 20 dniach wynosiła 344,5±25 (53%).

Aktywność AChE w homogenatach mózgu (ryc. 1) przed podaniem DFP wynosiła (w µM/min/g tkanki) 23,3±1,8 (100%). Po pierwszej iniekcji DFP zmniejszyła się do 21,9±2,0 (94%). W ciągu 5 dni następował dalszy spadek aktywności AChE do 19,1±1,5 (82%) i w ciągu kolejnych iniekcji DFP aktywność AChE utrzymywała się na podobnym poziomie, wynoszącym po 20 dniach 19,6±2,0 (84%).

Aktywność AChE w homogenatach rdzenia kręgowego (ryc. 1) przed podaniem DFP wynosiła (w µM/min/g tkan-



Ryc. 1. Aktywność AChE w mózgu i rdzeniu kręgowym u kur po codziennym podawaniu DFP



Ryc. 2. Aktywność NTE w mózgu i rdzeniu kręgowym u kur po codziennym podawaniu DFP

ki) $4,9 \pm 0,5$ (100%). Po pierwszej iniekcji DFP zmniejszała się po 1 dniu do $4,4 \pm 0,4$ (89%), a po kolejnych iniekcjach następował dalszy sukcesywny spadek aktywności AChE aż do wielkości $3,5 \pm 0,4$ (71%) po 20 dniach.

Aktywność NTE w homogenatach mózgu (ryc. 2) kur nie zatrutych wynosiła (w nM/min/g tkanki) 2255 ± 66 (100%) i zmniejszała się po pierwszej iniekcji DFP do 1917 ± 54 (85%). W ciągu kolejnych iniekcji DFP następował dalszy spadek aktywności NTE do 1466 ± 48 (65%) po 5 dniach, do 1218 ± 49 (54%) po 10 dniach, do 1150 ± 39 (49%) po 15 dniach i do 1037 ± 34 (46%) po 20 dniach.

Aktywność NTE w homogenatach rdzenia kręgowego (ryc. 2) przed podaniem DFP wynosiła (w nM/min/g tkanki) 623 ± 48 (100%). W czasie podawania DFP następował stały spadek aktywności NTE do 505 ± 43 (81%) po 1 dniu, do 349 ± 40 (56%) po 5 dniach, do 293 ± 38 (47%) po 10 dniach, do 262 ± 29 (42%) po 15 dniach i do 249 ± 29 (40%) po 20 dniach.

Zawartość białka w homogenacie mózgu wynosiła $13,9 \pm 0,8$ mg%, a w homogenacie rdzenia kręgowego $10,1 \pm 0,6$ mg%.

Omówienie wyników

Badania przeprowadzono na kurach, które zostały uznane jako zwierzęta modelowe w badaniach nad neurotoksycznością związków FO. Ostatnie badania w tym kierunku wykazały, że zwierzęciem modelowym mogą być dorosłe pekińskie kaczki (24), a także koty, które mogą być nawet lepszym modelem do ekstrapolacji wyników na ludzi (1).

Porównawcze badania inhibicji AChE i NTE zalecane są w ocenie możliwości neurotoksycznego działania pestycydów FO (20).

Aktywność AChE jest klasycznym wskaźnikiem diagnostycznym zatruc związkami FO, które powodują szybką inhibicję tego enzymu z równoczesną kumulacją acetylocholin w zakończeniach nerwowych.

Aktywność NTE oznacza się z uwagi na fakt, że mechanizm powstawania opóźnionej neuropatii polega na inhibicji

NTE (13), a następnie na procesie starzenia się kompleksu enzym-inhibitor (6, 25).

Jeśli chodzi o NTE w mózgu kur, to godne uwagi jest wyizolowanie dwóch izomerów tego enzymu oznaczonych jako NTEa i NTEb, które wykazują nieco zróżnicowaną wrażliwość na niektóre neurotoksyczne związki FO (5).

W warunkach fizjologicznych NTE wykazuje najwyższą aktywność w mózgu, rdzeniu kręgowym i podobną w limfocytach (27). Niektórzy autorzy stwierdzali, że aktywność NTE w mózgu i limfocytach kur była podobna i sugerują wykorzystywanie oznaczeń NTE w limfocytach do monitorowania tego enzymu w mózgu (7). Z kolei inni autorzy, na podstawie badań klinicznych i laboratoryjnych chorego na neuropatię mężczyzny stwierdzili, że inhibicja NTE w limfocytach koreluje z inhibicją NTE w nerwach obwodowych, pomiar więc aktywności NTE w limfocytach może być stosowany jako kliniczny test w rozwoju opóźnionej neuropatii fosforoorganicznej (18).

Wyniki oznaczeń aktywności początkowej AChE u kur w osoczu, mózgu i rdzeniu kręgowym oraz NTE w mózgu i rdzeniu kręgowym były na ogół zgodne z wynikami innych autorów (10, 19).

Aktywność AChE w osoczu po pierwszej iniekcji DFP zmniejszała się, a po następnych iniekcjach utrzymywała się na tym samym poziomie, co wskazuje, że inhibicja AChE wywołwana kolejnymi małymi dawkami DFP była kompensowana równocześnie resyntezą tego enzymu. Z kolei aktywność AChE w mózgu i rdzeniu kręgowym nieznacznie zmniejszała się do 5 dnia, a następnie utrzymywała się na tym samym poziomie do 20 dnia. Efekt więc wielokrotnych małych dawek DFP w kształtowaniu aktywności AChE w osoczu, mózgu i rdzeniu kręgowym był podobny, z tym że w dwóch ostatnich narządach przebiegał wolniej i był słabiej wyrażony. Tego rodzaju zmiany stwierdzono również po wielokrotnych dawkach innych związków FO (9).

Aktywność NTE po wielokrotnych małych dawkach DFP zmniejszała się do 15 dnia w mózgu około 51% i w rdzeniu około 58%, zaś po 20 dniach spadek aktywności enzymu był

nieznaczny, odpowiednio o dalsze 3% i 2%. Wskazuje to, że resynteza NTE po wielokrotnych małych dawkach DFP w mózgu i rdzeniu kręgowym przebiega znacznie wolniej aniżeli AChE. Badania innych autorów wykazały, że przy stosowaniu wielokrotnych małych dawek MOCP i TOCP aktywność NTE spadała do 21 dnia (19). Jeśli chodzi o wpływ spadku aktywności NTE w mózgu i rdzeniu kręgowym na występowanie neuropatii, to uważa się, że przy chronicznych dawkach kształtuje się on w granicach 45-65% (15).

Należy podkreślić, że interpretacja danych dotyczących wpływu wielkości inhibicji NTE na występowanie opóźnionej neuropatii fosforoorganicznej jest znacznie skomplikowana. Okazało się, że droga podania i dawka związku FO istotnie wpływa na występowanie u zwierząt doświadczalnych opóźnionej neuropatii (8). U zwierząt wrażliwych, np. małp *Rhesus* i psów stosowanie niskich dawek FO wywołuje efekt neurotoksyczny w znacznie mniejszych dawkach aniżeli po podaniu *per os* (26). Istotne jest również stwierdzenie, że obniżanie dziennej dawki związku FO obniża dawkę skumulowaną, wywołującą ataksję (26). Można więc stwierdzić, że istnieje kompleks współzależności pomiędzy drogami podania związku FO, dzienną dawką i skumulowaną dawką, który jest różny dla różnych związków FO o działaniu neurotoksycznym.

Uwzględniając powyższe dane wydaje się, że nie ma obecnie podstaw do określenia „bezpiecznego poziomu” dla chronicznej ekspozycji pestycydów wywołujących neuropatie. Trudności te zwiększają coraz liczniejsze dane wskazujące na występowanie trwałych, behawioralnych odchyień u ludzi i zwierząt, eksponowanych na małe dawki neurotoksycznych związków FO. Dlatego uzasadnione i generalnie akceptowane jest stanowisko, że pestycydy FO o właściwościach neurotoksycznych nie powinny być dopuszczane do produkcji mimo nawet wyjątkowej ich przydatności.

Piśmiennictwo

1. *Abou-Donia M.B.*: Neuro Toxicol. 4, 113, 1983.
2. *Baron R.L.*: Ann. Rev. Entomol. 26, 29, 1981.
3. *Casida J.E., Eto M., Baron R.L.*: Proc. Konf. Pesticides induced delayed neurotoxicity 1976, p. 24.
4. *Cavanagh J.B.*: Crit. Rev. Toxicol. 2, 365, 1973.
5. *Chemnitz J.M., Haselmayer K.H., Zech R.*: Arch. Toxicol. 53, 235, 1983.
6. *Clothier B., Johnson M.K.*: Biochem J. 177, 549, 1979.
7. *Dudek B.R., Richardson R.J.*: Toxicol. Lett. S.I. 1:79, 1980.
8. *Francis B.M.*: Neuro Toxicol. 4, 139, 1983.
9. *Golikow S.N., Rozengart W.I.*: Farmakologia i toksikologia fosforoorganicznych sojedineniej. Medgiz, Moskwa, 1960.
10. *Hoffman D.J., Sileo L.*: Toxicol. Appl. Pharmacol. 73, 284, 1984.
11. *Johnson M.K.*: Arch. Toxicol. 37, 113, 1977.
12. *Johnson M.K., Barnes J.M.*: Biochem. Pharmacol. 19, 3045, 1970.
13. *Johnson M.K.*: Biochem J. 114, 711, 1969.
14. *Juskiewicz T., Mizak B., Paleolog A.*: Medycyna Wet. 22, 303, 1966.
15. *Johnson M.K.*: Neurobehavioral Toxicol. Teratol. 4, 759, 1982.
16. *Koelle G.B.*: Handbuch der experimentellen Pharmacology. Spring. Ver. Berlin 1963, p. 860.
17. *Lotti M., Johnson M.K.*: Toxicol. Appl. Pharmacol. 16, 461, 1970.
18. *Lotti M., Moretto A., Zoppelari R., Dainese R., Rizutto N., Burusco G.*: Arch. Toxicol. 59, 176, 1986.
19. *Lotti M., Johnson M.K.*: Arch. Toxicol. 45, 263, 1980.
20. *Lotti M., Johnson M.K.*: Arch. Toxicol. 41, 215, 1978.
21. *Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.*: J. Biol. Chem. 193, 265, 1951.
22. *Metcalfe R.*: Neuro Toxicol. 3, 269, 1982.
23. *Pellin M., Vicado J.L., Vilanova E.*: Arch. Toxicol. 59, 311, 1987.
24. *Soliman S.A., Farmer J.D.*: J. Toxicol. Environ. Hlth. 14, 789, 1984.
25. *Soliman S.A.*: J. Toxicol. Environ. Hlth. 10, 907, 1982.
26. *Spencer P.S., Schaumburg H.W.*: Experimental and Clinical Neurotoxicology. Baltimore 1980, p. 527.
27. *Wilson B.W., Hooper M., Chow E., Seiber J.N., Knaak J.B.*: ACS Symposium Series Nr 273 „Dermal exposure Related to Pesticide Use” Am. Chem. Soc. 1985, p. 479.

Adres autora: dr Alicja Kurek, ul. Błękitna 7, 20-468 Lublin

KLINIKA MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

M.-L. NAGEL, W. NEUMANN
Giessen, RFN

Zespół rozszerzenia i skręcenia żołądka u psów*)

Wprowadzenie

W ostatnich piętnastu latach prowadzono badania nad rozszerzeniem i skrętem żołądka (zespół RSZ) u psów, które pozwoliłyby na wyjaśnienie tych procesów chorobowych i ustalenie postępowań terapeutycznych. W zespole RSZ chodzi o rzadko występujące (13 przypadków na 10 000 chorych psów) schorzenie. Pojawia się ono prawie wyłącznie w postaci nadostrej, z często dramatycznym przebiegiem i dużą śmiertelnością (22 do 40%). Todoroff (1979) rozpoznawał zespół RSZ u 28 różnych ras psów. U kotów choroba notowana bywa wyjątkowo. Najczęściej zespół występuje u ras dużych psów z głęboką klatką piersiową, jak np. u dogów, bernardynów, owczarków niemieckich itp. Większość przypadków

dotyczy starszych psów w wieku 5 do 9 lat. Dotychczas przyjmowało się, że predysponowane są do tej przypadłości samce. Najnowsze jednak badania dowodzą, że zarówno samce, jak i samice w jednakowym stopniu ulegają tej chorobie. U psów, u których leczenie ograniczono tylko do dekompresji i repozycji, dochodzi do nawrotu choroby w prawie 80%.

Patogeneza

Na powstawanie zespołu RSZ wpływa przypuszczalnie wiele czynników, których wzajemne oddziaływanie stwarza ryzyko powstawania choroby. Obrazuje to ryc. 1 wg Strombecka. Do ustalenia pozostaje, która z tych przyczyn etiologicznych odgrywa główną rolę. Pewne jest, że dla wystąpienia zespołu RSZ istotne znaczenie mają dwa czynniki. Są nimi rozszerzenie żołądka gazem i/albo płynem oraz skręt (*volvulus* wzgl. *torsio*). Skręt może wywołać rozszerzenie żołądka i przeciwnie, rozszerzenie może doprowadzić do skrętu. Ostre

*) Artykuł opublikowany został w oryginalnej wersji w nr 8-1993 czasopisma Der Praktische Tierarzt