

MIROSLAV SAMEK, FRANTISEK MARVAN, EWA ARKUSZEWSKA*, TADEUSZ P. ŻARSKI**

Próby eliminacji rtęci z tkanek kurcząt po zatruciu chlorkiem fenylortęciowym poprzez zastosowanie preparatu MESNA

Czeski Uniwersytet Rolniczy, ul. Kamycka 129, 165-21 Praha-Suchdol, Republika Czeska

*Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej Wydziału Zootechnicznego SGGW, ul. Rakowiecka 26/30, 02-528 Warszawa

**Katedra Higieny Zwierząt Wydziału Zootechnicznego SGGW, ul. Nowoursynowska 166, 02-766 Warszawa

Summary

Attempts to eliminate mercury from chicken tissues after intoxication with phenylmercury chloride using MESNA preparation

The objective of the investigations was to evaluate the effectiveness of sodium mercaptoethanolosulphonate (MESNA – VSCHT Praha) as an antidote in chickens intoxicated with phenylmercury chloride used as an active substance in the seed dressing Arginal-Spolana CR.

The experiments were done on twenty five 26 day-old broiler chickens in 3 groups: control group (10 chickens), experimental D_{Hg} – 9 chickens exposed to 0.3 mg of Hg for 5 days, group D_M – 6 chickens fed the same amount of Hg as the group D_{Hg}, which after 2 days from the end of the mercury feeding period were given MESNA at a dose of 0.1 g per chicken, twice daily for 5 consecutive days. A short-term intoxication with a low dose of mercury (0.3 mg) for five days negatively affected the body weight gains. The highest concentration of mercury was found after the end of intoxication in the kidneys and liver, the organs that play the most important role in the detoxication processes and the elimination of mercury from the organism. The MESNA preparation possesses properties of an antidote in the case of a short-term intoxication with mercury at low doses.

toksyczną formą związków rtęci, wykazujących szczególnie powinowactwo do struktur centralnego układu nerwowego (CUN) oraz wykorzystanie osłonowego działania selenu, który wyraźnie zmniejsza toksyczne działanie rtęci na organizm.

Mechanizm detoksykacji po zastosowaniu związków selenu nie jest dostatecznie poznany. Według Nriagu (4) selen nie ogranicza pobierania rtęci ani też nie ma wpływu na proces demetylacji połączeń organicznych a jego działanie polega na tworzeniu związków rtęci z selenobiałkami. Rtęć związana w postaci tych konglomeratów traci swój agresywny charakter i w formie nieczynnej jest usuwana z organizmu. Suzuki i wsp. (9) badali osłonowe działanie selenianu sodowego w wypadku zatrucia metylortęcią i wykazali pozytywny efekt – zmniejszenie embriotoksyczności i teratogenności tego metalu ciężkiego. Innym przypuszczalnym mechanizmem osłonowego działania selenu jest jego ochronny wpływ na stabilność struktur komórkowych, zwłaszcza błony komórkowej, wynikający z udziału tego pierwiastka w budowie peroksydazy glutationowej (7). Ma to tym większe znaczenie, że właśnie błona komórkowa jest pierwszym miejscem atakowanym przez rtęć i inne metale ciężkie.

Mimo podejmowania prób nad stosowaniem różnych form detoksykacji, głównym sposobem eliminacji rtęci z organizmu jest podawanie odtrutek wiążących ten metal poprzez chelatowanie przez wolne grupy tiolowe np. dwumerkaptopropanol (BAL) czy chlorowodorek merkaptowaliny (Penicylamina). Podobne właściwości posiada merkaptoetanolosulfonian sodowy (MESNA), który pierwotnie znalazł zastosowanie jako środek mukolityczny we wszystkich schorzeniach przebiegających ze zwiększonym gromadzeniem się wydzielin w drogach oddechowych. Problematyką wpływu MESNY na eliminację metali ciężkich zarówno w badaniach *in vivo* i *in vitro* zajmowali się Shaw i Weeks (8) a James i wsp. (1) opracowali farmakokinetykę tego związku. Na podstawie danych piśmiennictwa (1, 8) można jednoznacznie stwierdzić, że MESNA tworzy trwałe połączenia z metalami ciężkimi, które następnie są dość szybko wydalane z organizmu.

W przypadku zatruc rtęcią nie istnieje swoista odtrutka, która w krótkim okresie czasu pozwoliłaby na eliminację następstw toksycznego działania tego pierwiastka. Stosowane są preparaty detoksykacyjne, których działanie może przejawiać się poprzez następujące mechanizmy. Preparaty posiadające wolne grupy tiolowe-SH wiążą wolne lub związane z białkiem jony Hg, ograniczając toksyczne działanie tego metalu na strukturę białek organizmu. Inną formą inaktywacji rtęci jest stosowanie związków kompleksujących, które konkurencyjnie wiążą w swoich cząsteczkach atomy metalu ciężkiego. Dwie dalsze możliwości, które traktowane są jako perspektywiczne, to podawanie środków uruchamiających proces demetylacji alkilowych połączeń rtęci w organizmie, które jak wiadomo są najbardziej

Celem przeprowadzonych badań była ocena skuteczności preparatu MESNA zastosowanego jako antidotum przy zatruciu kurcząt chlorkiem fenylortęciowym, stosowanym jako substancja czynna w zaprawie nasiennej Agronal. Pozytywne efekty stosowania tej odtrutki mogłyby zostać wykorzystane w przyżyciowej detoksykacji zwierząt pochodzących z rejonów o wysokiej emisji metali ciężkich.

Materiał i metody

Doświadczenie wykonano na 25 kurczętach brojlerach (ROSS) w wieku 26 dni i średniej masie ciała 840 g. Kurczęta zostały podzielone na 3 grupy w następujący sposób: grupa kontrolna – K – 10 kurcząt, grupa doświadczalna – D_{Hg} – 9 kurcząt, które przez 5 dni otrzymywały 0,3 mg Hg (całkowita dawka wyniosła 1,5 mg Hg na kurczę) oraz grupa doświadczalna – D_M – licząca 6 kurcząt, które otrzymywały rtęć podobnie jak w grupie D_{Hg} , jednak w dwa dni po zakończeniu rozpoczęto podawanie preparatu MESNA – producent VŠCHT-Praha 2 razy dziennie po 0,1 g przez 5 dni.

Rtęć podawano w postaci preparatu Agronal – firmy Spolana ČR zawierającego 2,8% chlorku fenylortęciowego, co odpowiada 1,8% czystej rtęci. Preparat podawano indywidualnie zmieszany z mieszanką pełnodawkową BR11 w kapsułkach żelatynowych *per os*. Podobnie indywidualnie podawano preparat MESNA. Naturalne pobranie rtęci z paszą, skalkulowane w oparciu o średnie dzienne spożycie paszy i zawartość w niej rtęci wynosiło 0,00124 mg Hg na jedno kurczę.

Kurczęta uśmiercano poprzez dekapitację, według następującego schematu: przed rozpoczęciem doświadczenia zabito 2 kurczęta z grupy kontrolnej, a następnie w 7 dniu doświadczenia 2 w grupie kontrolnej i 3 w grupie doświadczalnej D_{Hg} , w 14 dniu po 3 kurczęta ze wszystkich trzech grup oraz na zakończenie doświadczenia w 21 dniu także po 3 z trzech grup.

Po zabiciu i wykonaniu sekcji, do badań pobierano następujące tkanki i narządy: wątrobę, nerki, mięśnie piersiowe, śledzionę, mózg, krew, żółć oraz próbki kału bezpośrednio z kloaki. W ramach przeprowadzonego doświadczenia rejestrowano następujące parametry: masa ciała kurcząt w 0, 7, 14 i 21 dniu eksperymentu, a także zawartość rtęci w pobranym materiale biologicznym.

Poziom rtęci rejestrowano przy użyciu automatycznego analizatora śladów rtęci AMA 254, który jest jednowiązkowym spektrometrem absorpcji atomowej, pracującym pod kontrolą programu komputerowego AMA. Czułość metody wynosi 0,01 ng Hg/g, a powtarzalność 1,5%. Szczegółowy opis metody podano we wcześniejszych pracach (13).

Wyniki i omówienie

Analiza przyrostów masy ciała wykazała wyraźne obniżenie wzrostu kurcząt otrzymujących chlorek fenylortęciowy. Jest to dowód negatywnego wpływu rtęci na przemiany metaboliczne rosnącego organizmu, który w początkowej fazie intoksykacji jest w

stanie uruchomić naturalne mechanizmy ochronne, jednak w miarę rozwoju procesu zatrucia, dochodzi do zaburzeń przemiany białkowej, których efektem jest zahamowanie wzrostu.

Dodatek MESNY spowodował pewną poprawę przyrostów kurcząt w tej grupie, jednak w stosunku do kurcząt z grupy kontrolnej przyrosty masy ciała były wyraźnie niższe (tab. 1). Potwierdza to fakt, stwierdzany przez innych autorów (2, 3), którzy wykazali, że zmiany tkankowe spowodowane zatruciem rtęcią mają charakter nie w pełni odwracalny. Pozytywny efekt zaobserwowany po podaniu MESNY wynikać może nie tylko z jej działania detoksykacyjnego, tzn. wiązania Hg przez grupy tiolowe, ale także z faktu, że związek ten jako jeden z najprostszyc koenzymów może być donatorem grup tiolowych w uszkodzonych działaniem rtęci strukturach białkowych.

Poziomy rtęci stwierdzone w tkankach kurcząt przed rozpoczęciem doświadczenia były niskie i pozwalają przypuszczać, że kurczęta wzięte do eksperymentu nie miały wcześniej kontaktu z podwyższoną dawką rtęci. Zgodnie z danymi piśmiennictwa (6, 10, 13) dotyczącymi metabolizmu rtęci i innych metali ciężkich, narządami krytycznymi w przypadku tych pierwiastków są nerki i wątroba. Potwierdziły to badania wstępne, w których stwierdzono najwyższe naturalne poziomy Hg właśnie w tych narządach mięszowych; w nerkach $0,048 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, w wątrobie $0,036 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Poziomy te były nieco wyższe od podawanych przez innych autorów, a także od koncentracji w wątrobie kurcząt stwierdzonej w badaniach własnych na terenie Polski (14). Nie można wykluczyć, że dużo niższe poziomy naturalne rtęci obserwowane u kurcząt brojlerów w Polsce wynikają z mniejszego skażenia środowiska rolniczego niż ma to miejsce w Czechach, gdzie rtęciowe zaprawy nasienne stosowane były jeszcze

Tab. 1. Masy kurcząt (g) w kolejnych doświadczeniach w kontroli i w grupach doświadczalnych

Grupa	Parametr	Dni doświadczenia			
		0	7	14	21
Kontrolna K	n	25	8	6	3
	\bar{x}	840	1070	1280	1410
	s	111	130	100	150
Doświadczalna D_{Hg}	n	–	9	6	3
	\bar{x}	–	980	1090	1050
	s	–	150	220	350
Doświadczalna $D_{Hg} + M$	n	–	–	6	3
	\bar{x}	–	–	1130	1230
	s	–	–	270	280

Tab. 2. Stężenie rtęci w tkankach kurcząt po doświadczalnym zatruciu rtęcią i podaniu odtrutki MESNA ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

Materiał badany	Parametr	Dni doświadczenia											
		0			7			14			21		
		K	K	D _{Hg}	K	D _{Hg}	D _M	K	D _{Hg}	D _M			
Wątroba	\bar{x}	0,036	0,017	3,946	0,028	0,588	0,139	0,051	0,394	0,215			
	s	–	–	2,779	0,009	0,214	0,040	0,044	0,041	0,166			
Nerki	\bar{x}	0,048	0,036	8,222	0,028	0,674	0,349	0,058	0,672	0,220			
	s	–	–	3,250	0,014	0,281	0,190	0,022	0,108	0,041			
Mięśnie piersiowe	\bar{x}	0,025	0,030	0,139	0,011	0,093	0,021	0,020	0,077	0,026			
	s	–	–	0,098	0,002	0,094	0,008	0,012	0,025	0,020			
Śledziona	\bar{x}	0,014	0,012	0,419	0,009	0,023	0,027	0,015	0,075	0,029			
	s	–	–	0,281	0,002	0,003	0,006	0,009	0,021	0,010			
Mózg	\bar{x}	0,032	0,030	0,052	0,033	0,024	0,033	0,021	0,103	0,036			
	s	–	–	0,029	0,003	0,005	0,010	0,011	0,041	0,017			
Krew	\bar{x}	0,022	0,010	0,100	0,010	0,078	0,011	0,018	0,042	0,019			
	s	–	–	0,016	0,001	0,025	0,003	0,007	0,014	0,005			
Żółć	\bar{x}	0,008	0,009	1,551	0,009	0,103	0,043	0,019	0,145	0,091			
	s	–	–	0,646	0,003	0,051	0,014	0,015	0,127	0,086			
Kał	\bar{x}	0,022	0,019	1,617	0,048	0,421	0,205	0,051	0,392	0,033			
	s	–	–	1,055	0,039	0,175	0,073	0,029	0,312	0,019			

w połowie lat dziewięćdziesiątych, podczas gdy w Polsce produkcja ich wstrzymana została w 1978 r.

W dwa dni po zakończeniu pięciodniowego okresu podawania rtęci w dawce $5 \times 0,3$ mg najwyższe poziomy rtęci stwierdzono, podobnie jak w warunkach naturalnych, w nerkach i wątrobie. W stosunku do poziomów naturalnych koncentracja w nerkach wzrosła 228-krotnie, a w wątrobie 232-krotnie i wyniosła odpowiednio $8,222 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ i $3,946 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (tab. 2). Wyniki te potwierdzają wyraźnie fakt, że narządy te odgrywają ważną rolę w procesach detoksykacji i eliminacji rtęci z organizmu zwierzęcego. Poziom Hg w pozostałych tkankach i narządach nie osiągnął tak istotnego wzrostu. Podobne rozmieszczenie rtęci w warunkach przewlekłego zatrucia Hg obserwowali Takahashi i wsp. (10) a także inni autorzy (3). Nie stwierdzono w żadnym z badanych przypadków wyższej koncentracji Hg w wątrobie niż w nerkach, co jest charakterystyczne dla zatrucia ostrego tym pierwiastkiem (11). Fakt uruchomienia naturalnych mechanizmów detoksykacyjnych potwierdzają poziomy rtęci w kale i w żółci, odpowiednio $1,617 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ i $1,551 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. W stosunku do grupy kontrolnej poziomy te były 85 i 172-krotnie wyższe. Podobne wyniki uzyskali Rowland i wsp. (5). Podwyższony poziom rtęci zarówno w śledzionie jak i we krwi (odpowiednio

35-krotnie i 10-krotnie w stosunku do kontroli) wskazuje, że proces dystrybucji Hg w momencie badania nie został jeszcze zakończony i miał charakter dynamiczny. Rtęć nie została jeszcze związana w narządach docelowych, a nadmiar nie wydalony. Poziom Hg w mięśniach i w mózgu nie był tak wyraźnie podwyższony jak w pozostałym materiale badawczym (odpowiednio 4 i 1,7-krotnie).

W 14 dniu doświadczenia, tj. w 10 dni po zakończeniu podawania Hg w grupach doświadczalnych poziom tego pierwiastka był niższy we wszystkich badanych tkankach, narządach, wydzielinach i wydalinach. Najwyższe poziomy Hg występowały nadal w nerkach i w wątrobie (odpowiednio $0,674 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ i $0,588 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). O dalszym aktywnym procesie eliminacji świadczą wysokie poziomy rtęci w kale i żółci, blisko 10-krotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. Interesujący był fakt, że poziom Hg w mózgu był w grupie doświadczalnej D_{Hg} niższy niż w grupie kontrolnej, co mogłoby wskazywać, że forma w jakiej podano ten pierwiastek (chlerek fenylortęciowy) nie penetruje do tkanek CNU.

Po 15 dniach od zakończenia podawania rtęci poziomy tego pierwiastka nadal obniżały się, jednak w żadnym przypadku nie osiągnęły wartości stwierdzonych w badaniu wstępnym czy grupie kontrolnej. Nadal najwyższe były poziomy Hg w nerkach, na-

stępnie w wątrobie, kale i żółci, co świadczy o nadal aktywnych procesach detoksykacji wątrobowej jak i wydalania nerkowego. W przypadku ptaków zawartości rtęci w kale jest wypadkową tych dwóch procesów.

Wzrost poziomu rtęci w śledzionie, w stosunku do poprzedniego terminu ponad 3-krotny, przy jednoczesnym spadku poziomu Hg we krwi do wartości bliskich jak w grupie kontrolnej świadczy o rozpadzie w tym narządzie populacji erytrocytów z okresu ostrej fazy doświadczenia. Poziomy Hg w mięśniach, wyższe niż w grupie kontrolnej, nie przekraczały praktycznie dopuszczalnych limitów higienicznych (12). Wyraźny wzrost poziomu rtęci w mózgu jest trudny do wytłumaczenia. Wynikać on może z przekształcenia połączenia fenylowego Hg w postaci którego była ona podawana w związku metylortęciowe, łatwo przenikające przez barierę krew-mózg. Jak wiadomo związki fenylortęciowe rozpadają się w organizmie w ciągu kilku dni (6).

Podanie preparatu MESNA spowodowało, że poziomy rtęci w grupie DM były znacznie niższe niż w grupie doświadczałnej, szczególnie we krwi, gdzie poziom był identyczny jak w grupie kontrolnej, zarówno w badaniu po 14 jak i po 21 dniach. Takie zachowanie się poziomów rtęci po podaniu preparatu zdaje się wskazywać na jego wyraźne działanie detoksykacyjne.

Wnioski

1. Podanie rtęci w postaci chlorku fenylortęciowego w dawce 0,3 mg przez 5 dni doprowadza do zahamowania przyrostów kurcząt tak w okresie in-

toksykacji jak i w całym następnym okresie obserwacji.

2. Najwyższy poziom rtęci występuje tuż po zakończeniu intoksykacji w nerkach i wątrobie.

3. W procesie eliminacji i detoksykacji organizmu przy zatruciu rtęcią najważniejszą rolę odgrywają nerki i wątroba.

4. Preparat MESNA posiada właściwości odtruwające po krótkotrwałym zatruciu niskimi dawkami rtęci, o czym świadczą poziomy tego pierwiastka w tkankach i narządach kurcząt otrzymujących ten preparat w dawce 1 g/l szt.

Piśmiennictwo

1. James C. A., Mant T. G. K., Rogers H. J., *Brit J.: Clin. Pharmacol.* 25, 61, 1988.
2. Jugo S.: *Environ. Res.* 13, 36, 1977.
3. Macek D.: *Veterinarstvi* 35, 8, 369, 1985.
4. Nriagu J. O.: *The biogeochemistry of mercury in the environment.* Elsevier North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, 1979.
5. Roland I. R., Robinson R. D., Dometry R. A.: *Arch. Environ. Health* 39, 401, 1984.
6. Seńczuk W.: *Toksykologia.* Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa, 1994.
7. Shamberger R. J.: *Biochemistry of selenium.* Plenum Press, New York and London, 1983.
8. Shaw I. C., Weeks M. S.: *Arzneim. Forsch.* 36, 997, 1986.
9. Suzuki T., Satoh H., Nubunaga T.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 79, 1979.
10. Takahashi T., Kimura T., Jato Y., Shiraki M., Ukita T.: *J. Hyg. Chem.* 17, 93, 1971.
11. Underwood E. J.: *Trace element in human and animal nutrition.* Academic Press, London, 1977.
12. Zarządzenie MZiOS z dnia 31 marca 1993. *Mon. Pol. poz.* 233.
13. Żarski T. P., Samek M., Dębski B.: *Medycyna Wet.* 50, 77, 1994.
14. Żarski T. P., Samek M., Dębski B.: *Biul. X Zjazdu PTNW, Wrocław* 3, 541, 1996.

Adres autora: prof. dr hab. Tadeusz P. Żarski, ul. Krasińskiego 28a m. 1, 01-769 Warszawa

MURPHY D., REID S. W. J., LOVE S.: Zmodyfikowany doustny test tolerancji glukozy jako wskaźnik zmian patologicznych w jelicie cienkim u koni. (Modified oral glucose tolerance test as an indicator of small intestinal pathology in horses). *Vet. Rec.* 140, 342-343, 1997 (13)

Choroby jelit cienkich u koni sprawiają trudności diagnostyczne. Wiele z nich (ziarniniakowate zapalenie jelit, chroniczne eozynofilowe zapalenie żołądka i jelit, limfocytarno-plazmocytarne zapalenie jelit) powoduje zaburzenia we wchłanianiu pokarmu. Głównym objawem klinicznym schorzeń z upośledzonym wchłanianiem pokarmu jest spadek masy ciała, biegunka, kolka, gorączka. W badaniach retrospektywnych określono czułość i swoistość zmodyfikowanego doustnego testu tolerancji glukozy (OGTT) w diagnozowaniu zmian chorobowych w jelitach cienkich. Wśród 21 analizowanych przypadków w 11 stwierdzono zmiany w jelitach cienkich. Zmodyfikowany test OGTT umożliwił wykrycie większego odsetka chorych zwierząt. Test OGTT polega na doustnym podaniu bezwodnej glukozy w ilości 1g/kg masy ciała w formie 20% roztworu i ocenie poziomu glukozy we krwi w okresie 6 godzin. W zmodyfikowanym teście OGTT pomiar poziomu glukozy we krwi wykonuje się po 120 min po jej podaniu.

YAZWINSKI T. A., TUCKER C. A., FEATHERSTON H. E., WALSTROM G. J.: Porównanie efektywności terapeutycznej doramectin i ivermectin u bydła zarzonego na drodze naturalnej nicieniami. (Comparative therapeutic efficacy of doramectin and ivermectin against naturally acquired nematode infections in cattle). *Vet. Rec.* 140, 343-344, 1997 (13)

Ivermectin i doramectin należą do grupy makrocyklicznych laktonów wytwarzanych w procesie fermentacji przez *Streptomyces avermitilis*. Cechuje je duża aktywność w stosunku do pasożytniczych nicieni. Obydwa preparaty stosowano u cieląt zarzonych na drodze naturalnej nicieniami w formie iniekcji podskórej w dawce 200 g/kg masy ciała. Badania wykonano na 36 cielętach w trzech grupach (kontrola, zwierzęta otrzymujące doramectin oraz cielęta otrzymujące ivermectin) w alkierzu. Dnia 14 i 15 i 160 podaniu leku zwierzęta z każdej grupy badano parazytologicznie. Niezależnie od zastosowanego preparatu, za wyjątkiem *Nematodirus helvetianus* (postacie dojrzałe i larwy czwartego stadium), obniżało się statystycznie znamienne zarazenie nicieniami. Leki likwidowały *Dictyocaulus viviparus*, *Oesophagostomum radiatum*, *Strongyloides papillosus*, samce *Cooperia punctata* i *C. surnabada*. Zarazenie *Trichuris* było likwidowane w 97%.