

DANUTA RÓŻYCKA

BADANIA NAD TOKSYCZNOŚCIĄ OCTANU FENYLORTEĘCIOWEGO*) CZEŚĆ I. WPŁYW OCTANU FENYLORTEĘCIOWEGO NA RETENCJĘ RTĘCI W NIEKTÓRYCH NARZĄDACH KURCZĄT

Z Instytutu Ekspertyz Sądowych im. prof. dr Jana Sehna w Krakowie
Dyrektor: doc. dr J. Markiewicz

Badano kumulację i retencję rtęci w wątrobie, nerce, mózgu i tkance mięśniowej kurcząt różnej płci po wielokrotnym podawaniu dwu różnych dawek octanu fenylortęciowego oraz dynamikę przyrostu ciała tych zwierząt.

Badania prowadzone w ciągu ostatnich lat w wielu krajach wskazują na wzrost zawartości rtęci w środowisku naturalnym człowieka, spowodowany szerokim zastosowaniem związków rtęci w różnych gałęziach przemysłu i w rolnictwie [8, 13, 20].

W grupie fungicydów szczególnie dużą efektywnością działania grzybobójczego i grzybostatycznego odznaczają się organiczne związki rtęci. Wskutek wycofywania z praktyki rolniczej metylowych połączeń rtęci, które — ze względu na własności kumulowania w układzie nerwowym i powodowania w nim nieodwracalnych zmian stanowią szczególne niebezpieczeństwo dla ludzi i zwierząt — większe zastosowanie mają połączenia arylowe i alkoksyalakilowe [4, 8, 13]. Spośród 6 rtęciowych środków grzybobójczych dopuszczonych do użytku w Polsce 2 preparaty (Zaprawa nasienna R i Zaprawa nasienna RG) zawierają jako substancję czynną octan fenylortęciowy.

Badania toksykologiczne, biochemiczne i kliniczne w dziedzinie fungicydów rtęciowych koncentrowały się w głównej mierze na połączeniach metylortęciowych i w piśmiennictwie mniej uwagi poświęcano fenylowym związkom rtęci.

Związki te wchłaniają się dobrze z przewodu pokarmowego [21] a także przez skórę, przy czym przy miejscowym działaniu wywołują objawy podrażnienia i zapalenia skóry [14].

Berlin i Ullberg podawali związki fenylortęciowe ciężarnym myszom i stwierdzili, że rtęć kumuluje się w łożysku, lecz tylko niewielkie jej ilości przechodzą do płodu [3].

Miller i wsp. badali wchłanianie, rozmieszczenie w narządach i wydalanie octanu fenylortęciowego u szczurów, kurcząt i psów po jednorazowym podaniu drogą dożylną, domięśniową i doustną. Stwierdzili, że związek ten zostaje wchłonięty i przenoszony z krwią w stanie nie zmienionym — niezależnie od drogi podania, zaś jego metabolizm zachodzi

* Wyciąg z pracy doktorskiej wykonanej pod kierownictwem prof. dra hab. M. Nikonorowa.

w sposób nagły w wątrobie i nerce, przy czym następuje jego kumulacja w tych narządach w postaci rtęci nieorganicznej [17].

Daniel i *Gage* stwierdzili, że po domięśniowym wstrzyknięciu szczurom octanu fenylortęciowego znaczonego ^{14}C 50—60% podanej rtęci wydaliło się z kałem, zaś około 12% z moczem [5].

Dane co do rozmieszczenia rtęci w narządach po podawaniu związków arylortęciowych nie są tak wyczerpujące, jak te, które dotyczą związków alkilortęciowych o krótkim łańcuchu. Szczególnie skąpe są dane odnośnie absorpcji rtęci w tkance mięśniowej zwierząt doświadczalnych [2]. Na podstawie obserwacji na materiale zwierzęcym proces rozmieszczenia rtęci w narządach wydaje się bardziej skomplikowany niż w przypadku połączeń metylortęciowych i wykazuje zależność od wysokości dawki, czasu ekspozycji (lub okresu czasu od podania pojedynczej dawki do zabicia zwierzęcia) oraz od gatunku zwierzęcia.

Miller i wsp. stwierdzili, że rozmieszczenie rtęci pomiędzy narządy zwierząt po podaniu różnych jej połączeń wykazuje różnice również w obrębie odmian i szczepów tego samego gatunku [15, 16].

Badania funkcydów rtęciowoorganicznych metodą autoradiografii całego ciała przepiórki prowadzone przez *Bäckströma* pozwoliły śledzić dynamikę procesu ich wchłaniania przez tkanki i narządy ustroju w różnych okresach czasu od wstrzyknięcia [2].

Ellis i wsp. obserwowali, że większość rtęci w wątrobie i nerce szczura wiąże się z frakcją jądrową, podczas gdy frakcje mitochondrialne i mikrosomalne zawierają mniejsze jej ilości [6]. *Piotrowski* i *Bolanowska* badali sposób wiązania octanu fenylortęciowego znaczonego ^{203}Hg w wątrobie i nerce szczura przez dwie klasy związków białkowych. Jeden z tych związków zidentyfikowali jako metalotioneinę [19].

Dane dotyczące objawów zatrucia związkami fenylortęciowymi są raczej skąpe i niekompletne, tak że trudno jest określić typowe jego symptomy [7, 11]. *Fitzhugh* i wsp. stwierdzili zmniejszony przyrost ciężaru ciała a histopatologicznie — uszkodzenia nerek a także skrócony okres przeżycia u szczurów karmionych dietą z dodatkiem różnych ilości octanu fenylortęciowego przez 12 do 14 miesięcy [7]. *Piechocka* wykazała znaczny spadek ilości szczurów w miotach wskutek karmienia ich paszą skazoną octanem fenylortęciowym [18].

W pierwszej części niniejszej pracy podjęto badania celem otrzymania danych co do rozkładu, kumulacji i retencji rtęci w wątrobie, nerce, mózgu oraz tkance mięśniowej kurcząt po wielokrotnym podawaniu dwu różnych dawek octanu fenylortęciowego.

MATERIAŁ I METODYKA

Doświadczenia na kurczętach przeprowadzono w Zootechnicznym Zakładzie Doświadczalnym Balice, Oddział w Brzeziu w oparciu o tamtejszy materiał doświadczalny (broilery z krzyżówki White Rock Cornish)*.

Użyto octanu fenylortęciowego najwyższej czystości, firmy BDH, o zawartości 59,57% Hg, który podawano zwierzętom w roztworze wodnym, stosując dwie dawki tego związku (1 mg i 10 mg na kg ciężaru ciała), odpowiadające 1/100 i 1/10 LD₅₀ per os dla kurcząt [12, 17].

* Panu Prof. dr *Rajmundowi Rysiowi*, kierownikowi Zakładu Żywienia Zwierząt Instytutu Zootechniki w Krakowie oraz Panu dr *Jerzemu Koreleskiemu*, adiunktowi Instytutu Zootechniki — wyrażam podziękowanie za umożliwienie mi wykonania badań oraz za wszechstronną pomoc.

Kurczęta (260 sztuk, w tym 240 kogutów i 20 kur) o ciężarze początkowym około 500 g podzielono na grupę zabiegową i kontrolną. W obrębie grup wydzielono odpowiadające sobie podgrupy po 10 kurcząt, z których każdą umieszczono w osobnej klatce i karmiono do woli standardową mieszanką DKA-Finisz.

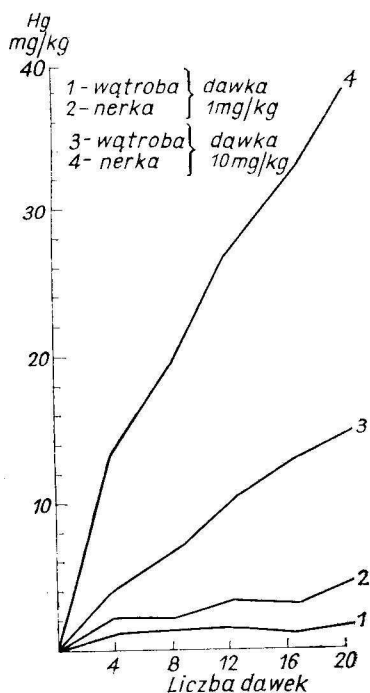
Kurczętom z grupy zabiegowej podawano co 48 godzin kaniulą do wola dawki octanu fenylortęciowego i zabijano je stopniowo po podaniu czterech kolejnych dawek (tj. po 8, 16, 24, 32 i 40 dniach). Uboju dokonywano przez przecięcie żyły szyjnej — 48 godzin po podaniu ostatniej dawki.

Kurczętom z jednej podgrupy wstrzymano podawanie związku po 8 dawkach i badano zawartość rtęci w narządach po 26-dniowym okresie wydalania.

Do jednej serii doświadczenia wprowadzono grupę kur, które po otrzymaniu 8 dawek octanu fenylortęciowego po 10 mg/kg zostały zabite wraz z odpowiadającą im grupą kogutów.

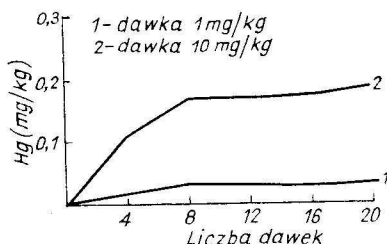
Kurczęta ważono co 8 dni po 8-godzinny głodzeniu.

Z każdego kurczęcia wypreparowywano mózg, wątrobę, nerkę oraz mięsień piersiowy i ważono. Wątrobę i nerkę homogenizowano, a następnie sporządzano odważki (od 15 do 2,5 g) — stosownie do rosnącej zawartości rtęci w tych narządach. Mózgi (o ciężarze 2—3 g) mineralizowano w całości, zaś tkankę mięśniową w 25- lub 50-gramowych odważkach. Uzyskane mineralizaty dopełniano do określonej objętości.



Ryc. 1. Wykres zależności stężenia rtęci w wątrobie i nerce kurcząt od liczby i wysokości dawek octanu fenylortęciowego.

Ryc. 2. Wykres zależności stężenia rtęci w tkance mięśniowej kurcząt od liczby i wysokości dawek octanu fenylortęciowego.



Z narządów grup kontrolnych sporządzano odważki równe co do wielkości odważkom odpowiednich grup zabiegowych i mineralizowano je takimi samymi ilościami kwasów — traktując następnie jako ślepą próbę.

Do mineralizacji zastosowano mieszaninę stężonych kwasów azotowego i siarkowego w proporcji 10 : 1. Niewielką ilość nie spalonego tłuszczu usuwano przez ekstrakcję czterochlorkiem węgla [9].

Oznaczenie zawartości rtęci w mineralizatach przeprowadzono metodą ditizonową [1, 10], polegającą na wstępnej ekstrakcji rtęci chloroformowym roztworem ditizonu, reekstrakcji a następnie miareczkowaniu ditizonem. Spektrofotometryczny pomiar absorpcji chloroformowego roztworu ditizonianu rtęci przy długości fali 490 nm wykonywano za pomocą spektrofotometru Unicam SP 600. Najmniejsza ilość rtęci, jaką można oznaczyć tą metodą wynosi 0,25 µg Hg w końcowej objętości roztworu chloroformowego.

Tabela I

Retencja rtęci w wątrobie i nerce kurcząt (po podawaniu octanu fenylortęciowego w dwu różnych dawkach co 48 godzin przez różne okresy czasu) wyrażona w procentach podanej ilości związku

Pojedyncza dawka octanu fenylortęciowego	Liczba dni	Podana ilość octanu fenylortęciowego jako Hg w mg	Wątroba			Nerka		
			zawartość Hg w mg	% retencji	odehyl. stand.	zawartość Hg w mg	% retencji	odehyl. stand.
1 mg/kg	8	1,1	0,018	1,6a	0,59	0,013	1,2a	0,42
	16	2,7	0,025	0,9ab	0,30	0,017	0,6a	0,22
	24	4,7	0,042	0,9ab	0,25	0,032	0,7a	0,17
	32	7,3	0,040	0,6ab	0,27	0,039	0,5a	0,12
	40	10,8	0,048	0,5b	0,17	0,053	0,5a	0,15
10 mg/kg	8	12,5	0,110	0,9a	0,18	0,130	1,0a	0,33
	16	31,5	0,159	0,5b	0,20	0,191	0,6b	0,12
	16*	24,5	0,138	0,6b	0,24	0,156	0,6b	0,20
	24	56,5	0,328	0,6b	0,27	0,370	0,6b	0,19
	32	90,8	0,450	0,5b	0,16	0,457	0,5b	0,17
	40	128,2	0,520	0,4b	0,16	0,587	0,5b	0,15

W obrębie każdej kolumny wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się znacząco na poziomie istotności $\alpha < 0,05$

* Gwiazdką oznaczono podgrupę kur

Tabela II

Wydalanie rtęci skumulowanej w wątrobie i nerce kurcząt po podaniu 8 dawek octanu fenylortęciowego. Okres wydalanania — 26 dni od podania ostatniej dawki

Pojedyncza dawka octanu fenylortęciowego w mg/kg	Wątroba			Nerka		
	zawartość rtęci mg/kg		ilość rtęci wydalonej w %	zawartość rtęci mg/kg		ilość rtęci wydalonej w %
	po 8 dawkach	po 26 dniach		po 8 dawkach	po 26 dniach	
1	1,27	0,08	93,7	2,15	0,21	90,7
10	6,59	0,34	94,8	19,00	0,77	95,7

ОМОВИЕНІЕ ВЪНІКОВЪ І ВНОСКИ

Рис. 1 представляя выкрас зависимости степеня ртѣи въ вѣтробѣ і нерце курчатъ одъ лѣзбы і вьсокоці давокъ октану фенилртѣиого. Ве вьсѣхъ кѣхъ прѣпадкахъ завартоѣ ртѣи бѣла вьзѣша въ неркахъ. Стосункъ завартоѣ ртѣи въ нерце до завартоѣ въ вѣтробѣ вьносілъ околѣ 2:3. Въ ciągu 40 днѣ завартоѣ ртѣи въ вѣтробѣ і нерце вьзрастаѣла доѣхъ регуларнѣ въ функціи чьсау, прѣ чѣмъ прѣ давкѣ 10 мг/кгъ вьростъ бѣлъ бардѣе пропорціональнѣ.

Въ прѣпадкѣ ткани мѣснѣиоей (рис. 2) нѣ ствѣрдзѣно залѣзности ілоѣи заабсорбѣаней ртѣи одъ чьсау. Въ прѣврѣшѣмъ окрѣсѣ стѣзѣнѣ ртѣи вьзрастаѣло — аѣ до усталѣнѣи стану рѣвновѣги, прѣ кѣорѣ ілоѣи ртѣи вѣхлѣанѣа прѣз мѣсѣи бѣла рѣвна ілоѣи вьдалѣнѣи. Станъ тѣн усталѣлъ сѣ по 8 давкахъ — нѣзавѣснѣе одъ іхъ вьсокоціи.

До мѣзгу прѣнѣкаѣлѣ ѣдѣнѣе нѣвѣлѣкѣ ілоѣи ртѣи, нѣозначѣалнѣ застѣсѣванѣа мѣтодѣа.

Порѣвнанѣ ілоѣи ртѣи скумуловѣаней въ нарѣадѣхъ когѣтѣмъ і куръ нѣ вьказѣло істѣтнѣхъ рѣзнѣхъ звѣзанѣхъ зъ плѣа. (Оцѣнѣу статѣстѣчнѣау рѣзнѣ мѣдѣзѣу срѣднѣи мѣкѣнѣо тѣстѣмъ „t” *Стѣдѣнта*).

Зѣставѣнѣе срѣднѣхъ вѣрѣѣѣи рѣтѣнціи ртѣи въ вѣтробѣ і нерце курчатъ вьказѣѣѣ, въ кѣкомъ стѣпнѣи ртѣѣ бѣла затрѣмѣывѣана въ тѣхъ нарѣадѣхъ въ рѣзнѣхъ окрѣсахъ чьсау одъ рѣзѣчѣнѣа доѣвѣдѣчѣнѣа (таб. I). Рѣтѣнѣа ртѣи — вьраѣзѣна въ процѣнтахъ подѣаней въ данѣмъ окрѣсѣ цѣлѣковѣтѣи ілоѣи тѣго прѣврѣштѣа нѣ рѣзнѣла сѣ засаднѣчѣо въ нерцѣ і въ вѣтробѣ і въ обѣ тѣхъ нарѣадѣхъ зъ уплѣвѣмъ чьсау улѣгаѣла въ нѣвѣлѣкѣмъ стѣпнѣи обнѣзѣнѣи. Стѣстѣстѣчнѣе знѣмѣеннѣе бѣлѣ тѣлѣко рѣзнѣце мѣдѣзѣу грѣпѣу прѣврѣшѣа (по 4 давкахъ) а позѣстѣаѣмѣи.

Таб. II заварѣа порѣвнанѣе завартоѣи ртѣи скумуловѣаней по подѣанѣи 8 давокъ октану фенилртѣиого оразъ ілоѣи позѣстѣаѣей въ тѣхъ нарѣадѣхъ по 26 днѣахъ вьдалѣнѣа. Въ окрѣсѣ тѣмъ зъ вѣтробѣ і неркѣ вьдалѣло сѣ понадъ 90% ртѣи. Сѣбѣкѣѣ вьдалѣнѣа бѣла залѣзѣна одъ вьсокоціи давокъ.

Дѣнамѣкѣ прѣврѣстѣу цѣла звѣрѣзѣау бѣдѣно прѣзъ порѣвнанѣе срѣднѣхъ цѣзарѣмъ цѣла курчатъ оразъ процѣнтѣовѣхъ прѣврѣстѣмъ цѣзарѣу въ стѣсѣнкѣ до цѣзарѣу пѣчѣзѣтѣковѣго. Оцѣна статѣстѣчнѣа за помѣѣау тѣсту „t” *Стѣдѣнта* нѣ вьказѣла істѣтнѣхъ рѣзнѣхъ въ стѣсѣнкѣ до грѣпѣу кѣнѣтрѣнѣей. Ствѣрдзѣно натѣмѣаѣ прѣврѣстъ цѣзарѣу вѣтробѣ і неркѣ. По дѣлѣзѣшѣмъ окрѣсѣ вѣхлѣанѣа прѣврѣстъ тѣнъ бѣлъ вѣзѣзѣшѣ, а сѣчѣгѣѣлнѣе прѣзъ вьзѣзѣшѣхъ давкахъ бѣдѣнѣоу звѣзѣзѣку.

Прѣзъ цѣлѣ окрѣсѣ трѣванѣа доѣвѣдѣчѣнѣа нѣ обсерѣвовѣно у курчатъ обѣаѣѣмъ затрѣчѣа.

Д. Рѣжѣцѣа

ИССЛЕДОВАНИЯ ТОКСИЧНОСТИ ФЕНИЛ-РТУТНОГО АЦЕТАТА

Ч. I. Влияние фенилртутного ацетата на ретенцию ртути в некоторых внутренних органах цыплят

Рѣзѣмѣ

Исследовали кумуляцию и ретенцию ртути в печени, почках, мозге и мышечной ткани цыплят обоих полов после многократной подачи двух различных доз фенил-ртутного ацетата. Дозы 1 мг/кг и 10 мг/кг (соответствующие 1/10 и 1/100 LD₅₀) подавали цыплятам внутривенно каждые 48 часов в течение

8, 16, 24, 32 и 40 дней. Изолированные внутренние органы минерализовали концентрированными кислотами HNO_3 и H_2SO_4 . Ртуть определяли дитизоновым методом. Абсорбцию ртутного дитизоната измеряли при длине волны 490 нм.

Исследования показали, что содержание ртути в печени и почках цыплят возрастало довольно регулярно во времени и прямо пропорционально величине дозы. В мышце спустя 16 дней после подачи установилось состояние равновесия, и в мозг проникала только незначительная часть дозы, необнаруживаемая применяемым методом. Относительная ретенция ртути в печени и почках (около 0,6%) не зависела от величины дозы. После прекращения подачи фенол-ртутного ацетата, ртуть выделялась из печени и почек пропорционально аккумулятивному количеству этого элемента.

Не обнаружили зависимости процесса кумуляции и ретенции ртути от пола цыплят. Не было также симптомов отравления ртутью и различий в приростах веса тела по отношению к контрольной группе. В группах животных, подверженных длительному действию препарата (в особенности при более высокой дозе) наблюдали увеличение веса печени и почек по сравнению с контрольной группой.

D. Różycka

STUDIES ON THE TOXICITY OF PHENYLMERCURIC ACETATE (PMA) IN CHICKENS

I. The effects of administration of PMA on mercury retention in some organs of chickens

Summary

The accumulation and retention of mercury in liver, kidney, brain and muscle of chickens of both sexes were investigated — after repeated administration of two different doses of PMA. The doses of 1 mg and 10 mg per kg of body weight were administered into the crop every 48 hours during 8, 16, 24, 32 and 40 days.

The organs were digested with conc. nitric and sulphuric acids. Mercury was determined by the dithizone method and spectrophotometric measurement of absorbance at a wavelength of 490 nm.

The results indicate that the concentration of mercury in the liver and kidney increased in a fairly regular manner over the 40 days test periods and the amount of mercury accumulated was directly proportional to the dose. In the muscle an equilibrium was reached after 16 days. There was only a slight uptake of mercury by the brain.

The retention of mercury as a percentage of total dose given was 0,6% both in liver and kidney and remained unchanged without any regard to the amount of PMA administered.

No differences in accumulation and retention of mercury were found in the organs of male and female chickens. No significant difference was observed in body weight gain when compared with control. No symptoms of intoxication by mercury were observed.

PIŚMIENNICTWO

1. Analytical Methods Committee: The determination of small amounts of mercury in organic matter. *Analyst*, 1965, 90, 515. — 2. *Bäckström J.*: Distribution studies of mercury pesticides in quail and some fresh water fishes. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 1969, 27, suppl. 3, 1. — 3. *Berlin M., Ullberg S.*: Accumulation and retention of mercury in the mouse. II. An autoradiographic comparison of phenylmer-

curic acetate with inorganic mercury. Arch. Environm. Health, 1963, 6, 602. — 4. Borg K., Erne K., Hanko E., Wanntrop H.: Experimental secondary methylmercury poisoning in the goshawk. Envir. Pollut., 1970, 1, 91. — 5. Daniel J. W., Gage J. C.: The metabolism by rats of phenylmercury acetate. Biochem. J., 1971, 122, 24. — 6. Ellis R. W., Fang S. C.: Elimination, tissue accumulation and cellular incorporation of mercury in rats receiving an oral dose of ^{203}Hg labelled phenylmercuric acetate and mercuric acetate. Toxicol. Appl. Pharmacol., 1967, 11, 104. — 7. Fitzhugh O. G., Nelson A. A., Laug E. P., Kunze F. M.: Chronic oral toxicities of mercuriphenyl and mercuric salts. Ind. Hyg. occup. Med., 1950, 2, 433. — 8. Holden A. V.: Present levels of mercury in man and his environment, in: Mercury contamination in man and his environment. International Atomic Energy Agency, Vienna 1972, 143. — 9. Klewska A., Kobylecka K., Różycka D., Strycharska M.: Przygotowanie materiału biologicznego do oznaczania śladów metali. Z Zagadnień Kryminalistyki, 1968, 3, 62. — 10. Klewska A., Kobylecka K., Różycka D., Strycharska M.: Metoda oznaczania śladowych ilości rtęci w materiale biologicznym. *ibid.*, 1968, 3, 84.

11. Kobylecka K., Różycka D.: Przypadek śmiertelnego zatrucia grzybobójczym preparatem Ceresan. *ibid.*, 1971, 6, 106. — 12. Krasovskij G. N., Korolev A. A., Sygan S. A.: O metodach izučeniya kumulativnykh svojstv toksičeskich veščestv. Gig. Sanit., 1970, 3, 83. — 13. Lu F. C., Berteau P. E., Clegg D. J.: The toxicity of mercury in man and animals, in: Mercury contamination in man and his environment. International Atomic Energy Agency, Vienna 1972, 67. — 14. Mathews K. P., Pan P. M.: Immediate type hypersensitivity to phenylmercuric compounds. A. J. Med., 1968, 44, 310. — 15. Miller V. L., Bearse G. E., Hammermeister K. E.: Mercury retention, a trait of chickens. Poultry Science, 1967, 46, 1037. — 16. Miller V. L., Csonka E.: Mercury retention in two strains of mice. Toxicol. Appl. Pharmacol., 1968, 13, 207. — 17. Miller V. L., Klavano P. A., Csonka E.: Absorption, distribution and excretion of phenylmercuric acetate. Toxicol. Appl. Pharmacol., 1960, 2, 344. — 18. Piechocka J.: Badania chemiczne i toksykologiczne fungicydu — octanu fenylortęciowego. Cz. I. Badania wpływu paszy skażonej Fungitoxem OR na szczury. Rocz. PZH, 1968, 19, 385. — 19. Piotrowski J., Bolanowska W.: Wiązanie octanu fenylortęciowego (znaczono ^{203}Hg) w ustroju szczura, badane techniką sączenia molekularnego. Med. Pracy, 1970, 23, 338. — 20. Smart N. A.: Use and residues of mercury in agriculture. Res. Rev., 1968, 23, 1.

21. Swensson A., Lundgren K. D., Lindström O.: Retention of various mercury compounds after subacute administration. Arch. Ind. Health, 1959, 20, 467.

Dn. 28.III.1975 r.

31-033 Kraków, ul. Westerplatte 9