

Henryk Lach, Stanisław Krawczyk, Karol Dziubek,
Waldemar Szaroma, Bogdan Koczanowski*

**Wpływ insektycydu Pirimor 50 DP
(5,6-dwumetylo-2-dwumetyloamino-
4-pyrimidynylo-dwukarbaminian)
na dobowe zmiany zawartości glutationu
w krwi, mózgu, wątrobie i nerkach myszy¹**

Streszczenie

Badano wpływ jednorazowych dawek insektycydu Pirimor 50 DP (5,6-dwumetylo-2-dwumetyloamino-4-pyrimidynylo-dwukarbaminian) w ilości 40 mg/kg na dobowe zmiany zawartości GSH w krwi, mózgu, wątrobie i nerkach myszy. Stwierdzono, że jednorazowe dawki Pirimoru 50 DP wywołują istotne zmiany w przebiegu rytmiki dobowej zawartości GSH w krwi, mózgu, wątrobie i nerkach w porównaniu z materiałem kontrolnym. Zmiany te wyrażają się przesunięciem wartości maksymalnych i minimalnych GSH w krwi oraz mózgu, wątrobie i nerkach w ciągu doby w odniesieniu do materiału kontrolnego. Jednocześnie wykazano, że średnia ilość GSH w wątrobie w ciągu doby obniżyła się, zaś w nerkach istotnie wzrosła w stosunku do analogicznych wartości kontrolnych. Otrzymane wyniki wskazują, że organizm jest znacznie bardziej wrażliwy na działanie insektycydu Pirimor 50 DP w nocy niż podczas dnia. Wydaje się więc, że poziom GSH w krwi i tkankach może być dobrym wskaźnikiem dobowych zmian wrażliwości ssaków na insektycydy.

WSTĘP

Dotychczasowe badania wykazały, że koncentracja glutationu (GSH) w tkankach nie jest stała, lecz wykazuje wyraź-

¹ Praca wykonana w ramach Problemu Resortowego R-III-14, koordynowanego przez Uniwersytet Jagielloński.

ne dobowe zmiany, które są odwrotnie skorelowane z rytmem dobowym ilości nadtlenków lipidów w tych tkankach (Faroqui i Ahmed, 1984; Giorgi i inni, 1984). Jednocześnie stwierdzono, że GSH, jako wewnątrzkomórkowy trójpeptyd, oprócz wielu funkcji spełnia też ważną rolę chroniąc komórki przed działaniem substancji toksycznych (Reed i Beatty, 1980; Jakoby i Habig, 1980; Glatt i Oesch, 1977; Mitchell i Jollow, 1975). Połączenie substancji toksycznych i ich metabolitów z GSH jest katalizowane przez glutationową-S-transferazę, a grupa enzymów cytosolu spełnia ważną rolę w detoksyfikacji kseno-biotyków oraz ich elektrofilnych metabolitów (Jacoby, 1978; Jakoby i Habig, 1980).

Fakt, że GSH spełnia rolę ochronną był czynnikiem inspirowującym do wielu badań odnośnie wpływu różnych toksycznych substancji chemicznych na poziom GSH i glutationowej-S-transferazy (Lock i inni, 1984; Smith i inni, 1984; Corongin i inni, 1983; Morrison i inni, 1983). Coraz liczniejsze są też doniesienia dotyczące wpływu pestycydów na poziom GSH i glutationowej-S-transferazy w krwi i tkankach różnych zwierząt (Ehrich i Cohen, 1977; Vessey i Boyer, 1984; Smith i inni, 1977; Önfelt, 1983; Miller i inni, 1979; Amer, 1965). Z badań Önfelt (1983) wynika, że carbaryl, należący do pestycydów karbaminianowych, obniża poziom niebiałkowych grup -SH w komórkach. Insektocydy karbaminianowe, do których zalicza się również Pirimor 50 DP, są związkami silnie toksycznymi. Jednym z objawów ich biologicznej aktywności, a także insektycydów fosforoorganicznych, jest inhibicja acetylocholinerazy (Szucki i inni, 1978). Jednakże dotychczasowe publikacje omawiające wpływ insektycydów karbaminianowych na poziom GSH w krwi i tkankach ssaków nie uwzględniają rytmiki dobowej, a także dobowych zmian wrażliwości zwierząt na te substancje. Dlatego celem tych badań jest ustalenie obrazu dobowych zmian ilości GSH w krwi, mózgu, wątrobie i nerkach samców myszy, wywołanych podaniem jednorazowych dawek Pirimoru 50 DP, należącego do grupy insektycydów karbaminianowych.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 210 czteromiesięcznych samcach myszy o średniej wadze 23 g, które były hodowane w jednakowych warunkach pod względem oświetlenia LD 12:12. Wszystkie użyte do badań zwierzęta podzielono na jedną grupę kontrolną i dwie doświadczalne, po 70 osobników w każdej. Myszy pierwszej grupy doświadczalnej otrzymały jeden raz domięśniowo 40 mg/kg insektycydu o nazwie Pirimor 50 DP (5,6-dwumetylo-2-dwumetyloamino-4-pirymidynylo-dwukarbaminian), w różnych okresach doby, tj. o godz. 11, 15, 19, 23, 3, 7 i 11.

Zwierzęta zaś drugiej grupy doświadczalnej otrzymały również domięśniowo jednorazową dawkę Pirimoru 50 DP w ilości 40 mg/kg o godz. 10. Następnie z każdej grupy zabijano przez dekapitację po 10 myszy, co 4 godziny podczas całej doby, a mianowicie o godz. 12, 16, 20, 24, 4, 8 i 12, po czym pobierano krew oraz mózg, wątrobę i nerki w celu oznaczenia glutationu (GSH). Poziom GSH w krwi i tkankach oznaczano metodą Ellmana (1959). Otrzymane wyniki poddawano analizie statystycznej obliczając test "t" i F_0 .

WYNIKI

Dane liczbowe dotyczące wpływu jednorazowych dawek insektycydu Pirimor 50 DP (5,6-dwumetylo-2-dwumetyloamino-4-pirymidynylo-dwukarbaminian) na dobową zmienność zawartości GSH w krwi, mózgu, wątrobie i nerkach zestawiono w tabelach 1-4.

Uzyskane wyniki pozwalają na stwierdzenie, że stężenie GSH w krwi samców kontrolnych wykazuje rytmiczne zmiany, a maksymalna ilość tego trójpeptydu występuje o godz. 24, zaś minimalna o godz. 8. Natomiast pod wpływem jednorazowych dawek Pirimoru 50 DP u samców pierwszej grupy doświadczalnej przebieg krzywej obrazującej dobowe zmiany zawartości GSH w krwi wykazuje dwa maksima, przy czym jedno wystąpiło

Tabela 1
 Wpływ jednorazowych dawek Pirimoru 50 DP na dobowe zmiany zawartości glutatonu (GSH) krwi samców myszy

Grupa	Zawartość glutatonu (GSH) w mmol/l							
	Godziny doby							
	12 ⁰⁰	16 ⁰⁰	20 ⁰⁰	24 ⁰⁰	4 ⁰⁰	8 ⁰⁰	12 ⁰⁰	
Kontrolna	1.905 [±] 0.086	2.212 [±] 0.118	2.155 [±] 0.130	2.400 [±] 0.103	2.258 [±] 0.102	1.808 [±] 0.133	1.905 [±] 0.086	
Gr.dośw. I	1.915 [±] 0.120	2.421 [±] 0.109	2.105 [±] 0.121	2.015 [±] 0.085	2.250 [±] 0.046	2.363 [±] 0.056	1.915 [±] 0.120	
Test "t"	0.54	10.41 ^x	2.25	23.07 ^x	0.57	30.77 ^x	0.54	
Gr.dośw. II	1.877 [±] 0.105	2.208 [±] 0.108	2.294 [±] 0.083	2.054 [±] 0.145	2.201 [±] 0.134	2.358 [±] 0.168	2.327 [±] 0.088	
Test "t"	0.40	0.20	7.21 ^x	15.56 ^x	2.70	20.53 ^x	27.44 ^x	

Każda grupa zawierała po 10 samców myszy. ^x statystycznie istotne przy P < 0.01.

I gr. doświadczalna - podano jeden raz domięśniowo 40 mg/kg Pirimoru 50 DP o godz. 11,15,19,23,3,7,11

II gr. doświadczalna - podano jeden raz domięśniowo 40 mg/kg Pirimoru 50 DP o godz. 10 rano.

Analiza wariancji: Kontrola F/6,49/ = 29.88, P < 0.001

Doświad. I F/6,49/ = 42.71, P < 0.001

Doświad. II F/6,49/ = 12.74, P < 0.001

Tabela 2

Wpływ jednorazowych dawek Pirimoru 50 DP na dobowe zmiany zawartości glutationu (GSH) w mózgu samców myszy

	Zawartość glutationu (GSH) w $\mu\text{M/g}$							
	Godziny doby							
	12 ⁰⁰	16 ⁰⁰	20 ⁰⁰	24 ⁰⁰	4 ⁰⁰	8 ⁰⁰	12 ⁰⁰	
Kontrola	0.376 [±] 0.063	0.636 [±] 0.061	0.765 [±] 0.047	0.807 [±] 0.022	0.685 [±] 0.036	0.611 [±] 0.037	0.376 [±] 0.063	
Gr.dośw.I	0.501 [±] 0.028	0.775 [±] 0.064	0.310 [±] 0.024	0.707 [±] 0.038	0.800 [±] 0.058	0.914 [±] 0.078	0.501 [±] 0.028	
Test "t"	14.51 ^x	12.57 ^x	66.37 ^x	17.90 ^x	13.48 ^x	28.09 ^x	14.51 ^x	
Gr.dośw.II	0.837 [±] 0.038	0.712 [±] 0.035	0.599 [±] 0.046	0.730 [±] 0.043	0.886 [±] 0.056	0.507 [±] 0.044	0.685 [±] 0.022	
Test "t"	50.15 ^x	8.64 ^x	20.20 ^x	12.78 ^x	14.54 ^x	14.49 ^x	111.35 ^x	

Każda grupa zawierała po 10 samców myszy. ^x statystycznie istotne przy $P \leq 0.01$.

I grupa doświadczalna - podano jeden raz domięśniowo 40 mg/kg Pirimoru 50 DP o godz. 11,15,19,23,3,7,11
 II grupa doświadczalna - podano jeden raz domięśniowo 40 mg/kg Pirimoru 50 DP o godz. 10 rano.

Analiza wariancji: Kontrola $F/6,49/ = 97.99$, $P \leq 0.001$

Doświed. I $F/6,49/ = 146.89$, $P \leq 0.001$

Doświed.II $F/6,49/ = 59.78$, $P \leq 0.001$

Tabela 3

Wpływ jednorazowych dawek Pirimoru 50 DP na dobowe zmiany zawartości glutationu (GSH) w wątrobie samców myszy

Grupa	Zawartość glutationu (GSH) w $\mu\text{M/g}$							
	Godziny doby							
	12 ⁰⁰	16 ⁰⁰	20 ⁰⁰	24 ⁰⁰	4 ⁰⁰	8 ⁰⁰	12 ⁰⁰	
Kontrola	3.128 [±] 0.157	3.126 [±] 0.141	3.503 [±] 0.168	3.386 [±] 0.213	3.355 [±] 0.154	1.950 [±] 0.156	3.128 [±] 0.157	
Gr. dośw. I	2.255 [±] 0.288	2.904 [±] 0.249	2.637 [±] 0.251	3.216 [±] 0.281	2.208 [±] 0.234	3.100 [±] 0.274	2.255 [±] 0.228	
Test "t"	25.22 ^x	6.20 ^x	29.93 ^x	3,45 ^x	32.75 ^x	29.18 ^x	25.22 ^x	
Gr. dośw. II	2.866 [±] 0.281	2.888 [±] 0.216	3.191 [±] 0.220	2.517 [±] 0.175	2.990 [±] 0.167	2.188 [±] 0.228	2.286 [±] 0.230	
Test "t"	6.51 ^x	7.38 ^x	9.01 ^x	25.29 ^x	12.85 ^x	6.89 ^x	24.18 ^x	

Każda grupa zawierała po 10 samców myszy. ^x statystycznie istotne przy $P \leq 0.01$.

I gr. doświadczalna - podano jeden raz domięśniowo 40 mg/kg Pirimoru 50 DP o godz. 11,15,19,23,3,7,11.

II gr. doświadczalna - podano jeden raz domięśniowo 40 mg/kg Pirimoru 50 DP o godz. 10 rano.

Analiza wariancji: Kontrola F/6,49/ = 79.50, $P \leq 0.001$

F/6,49/ = 23.53, $P \leq 0.001$

F/6,49/ = 23.59, $P \leq 0.001$

Tabela 4

Wpływ jednorazowych dawek Pirimoru 50 DP na dobowe zmiany zawartości glutationu (GSH) w nerce samców myszy

	Zawartość glutationu (GSH) w $\mu\text{M/g}$						
	Godziny doby						
	12 ⁰⁰	16 ⁰⁰	20 ⁰⁰	24 ⁰⁰	4 ⁰⁰	8 ⁰⁰	12 ⁰⁰
Kontrola	1.243 ⁺ -0.053	1.357 ⁺ -0.111	1.608 ⁺ -0.121	1.546 ⁺ -0.076	1.516 ⁺ -0.107	1.383 ⁺ -0.150	1.243 ⁺ -0.053
Gr.dośw.I	1.732 ⁺ -0.151	2.245 ⁺ -0.152	1.671 ⁺ -0.100	1.773 ⁺ -0.181	2.413 ⁺ -0.177	2.201 ⁺ -0.147	1.732 ⁺ -0.151
Test "t"	24.45 ^x	37.74 ^x	4.23 ^x	9.08 ^x	34.69 ^x	31.16 ^x	24.45 ^x
Gr.dośw.II	1.714 ⁺ -0.173	1.998 ⁺ -0.194	2.358 ⁺ -0.127	1.636 ⁺ -0.128	2.161 ⁺ -0.134	2.214 ⁺ -0.155	2.197 ⁺ -0.144
Test "t"	20.82 ^x	22.94 ^x	34.20 ^x	4.83 ^x	30.09 ^x	30.82 ^x	49.74 ^x

Każda grupa zawierała po 10 samców myszy. \times statystycznie istotne przy $P \leq 0.01$.

I grupa doświadczalna - podano jeden raz domięśniowo 40 mg/kg Pirimoru 50 DP o godz. 11, 15, 19, 23, 3, 7, 11

II grupa doświadczalna - podano jeden raz domięśniowo 40 mg/kg Pirimoru 50 DP o godz. 10 rano.

Analiza wariancji: Kontrola $F/6,49/ = 15.99, P \leq 0.001$

Doświed.I $F/6,49/ = 31.75, P \leq 0.001$

Doświed.II $F/6,49/ = 26.40, P \leq 0.001$

o godz. 16, a drugie o godz. 8 i dwa minima - jedno o godz. 24, a drugie o godz. 12. Także u samców drugiej grupy doświadczalnej iniekcja Pirimoru 50 DP spowodowała pojawienie się dwóch wartości maksymalnych GSH w ciągu doby, jedno z nich pojawiło się o godz. 20, a drugie o godz. 8, oraz jednego minimum ilości GSH, które wystąpiło o godz. 24.

Stężenie GSH w mózgu myszy kontrolnych zmienia się rytmicznie, osiągając w ciągu doby wartość maksymalną o godz. 24, zaś minimalna występuje o godz. 12. Podanie Pirimoru 50 DP spowodowało zmiany w dobowej rytmice zawartości GSH w mózgu u samców pierwszej grupy doświadczalnej wyrażające się w dwóch wartościach maksymalnych, z których jedna wystąpiła o godz. 16, a druga o godz. 8, a także w dwóch wartościach minimalnych, a mianowicie o godz. 20 i 12. Podobnie też u samców drugiej grupy doświadczalnej przebieg krzywej obrazującej zmiany dobowe ilości GSH wykazuje istotne różnice w stosunku do grupy kontrolnej, wyrażające się wystąpieniem jednego maksimum o godz. 12 i drugiego o godz. 4, oraz dwóch wartości minimalnych, przy czym jedna wystąpiła o godz. 20, a druga o godz. 8.

W wątrobie zwierząt kontrolnych ilość GSH wykazuje także dobowe wahania, przy czym maksimum wystąpiło o godz. 20, a minimum o godz. 8. Stwierdzono, iż jednorazowa dawka Pirimoru 50 DP nie tylko obniża zawartość GSH w wątrobie samców pierwszej i drugiej grupy doświadczalnej, ale też zmienia zdecydowanie rytmikę dobową tego trójpeptydu. Krzywa obrazująca dobową zmienność GSH u samców pierwszej grupy doświadczalnej wykazuje trzy wartości maksymalne, tj. o godz. 16, 24 i 8, oraz trzy wartości minimalne o godz. 12, 20 i 4. Podobnie zresztą kształtuje się dobowa zmienność GSH u samców drugiej grupy doświadczalnej, gdzie stwierdzono dwa maksima: o godz. 20 i 4 oraz dwa minima: o godz. 24 i 8.

Analiza statystyczna wykazała, że stężenie GSH w nerkach samców grupy kontrolnej charakteryzuje się dobową zmiennością, osiągając wartość maksymalną o godz. 20, zaś minimalną o godz. 12. Podanie Pirimoru 50 DP spowodowało nie tyl-

ko gwałtowny wzrost ilości GSH u samców pierwszej i drugiej grupy doświadczalnej w ciągu doby, ale także istotne zmiany w zakresie dobowej rytmiki. W nerce samców pierwszej grupy doświadczalnej zawartość GSH wykazuje dwa maksima. Jedno o godz. 16, a drugie o godz. 4 i jedno minimum o godz. 20. Podobny przebieg dobowej zmienności poziomu GSH w nerkach stwierdzono u samców drugiej grupy doświadczalnej, gdzie jedno maksimum wystąpiło o godz. 20, a drugie o godz. 4, oraz jedno minimum, które zanotowano o godz. 24.

DYSKUSJA

Przeprowadzona analiza uzyskanych wyników wykazała, że jednorazowe dawki Pirimoru 50 DP wywołują istotne zmiany w przebiegu rytmu dobowego zawartości GSH w krwi, mózgu, wątrobie i nerkach samców myszy w stosunku do grupy kontrolnej. Zmiany te wyrażają się nie tylko we wzroście zawartości GSH w krwi, mózgu i nerkach oraz obniżeniu się ilości tego trójpeptydu w wątrobie, ale także w przesunięciu wartości maksymalnych w ciągu doby, co świadczy o zmianie natężenia procesów biochemicznych zachodzących w badanych narządach. Jednakże zmiany rytmiki dobowej GSH wywołane podaniem Pirimoru 50 DP w badanych tkankach są zróżnicowane. W krwi, mózgu i nerkach samców obu grup doświadczalnych w ciągu dnia występują dwa szczyty maksymalnej ilości GSH, a mianowicie o godz. 16 i 8 rano, natomiast w okresie nocy, tj. fazy ciemnej zaznacza się istotne obniżenie zawartości tego trójpeptydu w stosunku do wartości kontrolnych.

Wydaje się, że obserwowany wzrost zawartości GSH w krwi, mózgu i nerkach w okresie dnia, tj. fazy jasnej oraz obniżenie jego ilości w godzinach nocnych po podaniu Pirimoru 50 DP należałoby wiązać z aktywnością metaboliczną zwierząt w ciągu doby i dobową wrażliwością myszy na ten Pirimor.

Już wcześniej wykazano, że istnieje ścisła korelacja między aktywnością lokomotoryczną a poziomem metabolizmu u myszy (Mount i Willmott, 1967). Zwierzęta te charakteryzują się najwyższym-metabolizmem w nocy a obniżonym w okresie dnia. Za takim poglądem przemawiają badania Mounta i Willmotta (1967), którzy wykazali, że najwyższe dobowe zużycie tlenu przez myszy występuje o północy, a znacznie mniejsze w ciągu dnia. Jednocześnie stwierdzono, że zwierzęta, którym podawano różne substancje toksyczne w okresie odpowiadającym w warunkach normalnych początkowi dnia były na nie mniej wrażliwe w porównaniu ze zwierzętami, którym te substancje wstrzykiwano w środku nocy. Dowodem na to mogą być badania Simmons i innych (1974), którzy podawali szczurom w różnych porach doby pentobarbitan sodu w ilości 90 mg/kg i stwierdzili, że dawka ta wywiera najkrótsze działanie wtedy, gdy podawana jest podczas dnia o godz. 15. Natomiast maksimum jej działania obserwowano u szczurów wieczorem o godz. 21. Dopiero w świetle tych danych można podjąć próbę interpretacji uzyskanych rezultatów. Jak wynika z badań Riviere'a i innych (1983), insektycydy i fungicydy wywołują wzrost aktywności enzymów mikrosomalnych, a mianowicie cytochromu P-450 oraz reduktazy NADPH- cytochromu C.

Jednocześnie wykazano, że carbaryl należący do pestycydów karbaminianowych wywołuje wzrost aktywności glutationowej peroksydazy (Önfelt, 1983).

Wydaje się więc, że wzrost aktywności enzymów mikrosomalnych pod wpływem Pirimoru 50 DP może indukować zwiększenie syntezy GSH w krwi, mózgu i nerkach w okresie dnia, kiedy tempo metabolizmu u myszy, jak również wrażliwość na ten insektycyd karbaminianowy jest obniżona. Z kolei obniżenie się zawartości GSH w krwi, mózgu i nerkach w godzinach nocnych, tj. w okresie fazy ciemnej, kiedy wrażliwość zwierząt na Pirimor 50 DP jest największa, a metabolizm znacznie przyspieszony, może być spowodowane między innymi stymulacją procesu oddychania tkankowego, bowiem w zjawisku tym bierze

udział GSH, tworząc układ oksydacyjno-redukcyjny, bądź też trójpeptyd ten pełniąc rolę ochronną może ulec utlenieniu do GSSG. Nie można też wykluczyć, że w stanie silnego stresu (drgawki) wywołanego podaniem Pirimoru 50 DP, wzrost ilości glutationu we krwi, mózgu i nerkach może być jednym z elementów zabezpieczających w pewnym stopniu działalność fizjologiczną organizmu. Wiadomo, że jednym z producentów GSH są erytrocyty. Zapotrzebowanie więc na ten związek spowodowane nasileniem metabolizmu w innych tkankach, po iniekcji Pirimoru 50 DP, może powodować zwiększoną syntezę tego trójpeptydu.

Interpretacja obniżenia się zawartości GSH w wątrobie w okresie całej doby, po iniekcji Pirimoru 50 DP, jest niezwykle trudna, aczkolwiek wydaje się, że może to być jedną z reakcji ochronnych organizmu wobec zmienionego przez wprowadzony insektycyd tempa, jak i obrazu przemian biochemicznych. Wątroba jest głównym narządem, w którym zachodzi degradacja pestycydów. Reakcją utleniania odgrywającą ważną rolę w detoksyfikacji pestycydów, zwłaszcza pochodnych kwasu karbaminowego, jest reakcja hydroksylacji.

Enzymami katalizującymi tę reakcję są hydrolazy. Reakcja hydroksylacji zachodzi z dużą wydajnością w mikrosomach komórki w obecności tlenu i donora wodoru, którym jest NADPH_2 lub NADH_2 (Szucki i inni, 1978). Spadek poziomu niebiałkowych grup $-\text{SH}$ w komórkach pod wpływem carbarylu-pestycydu z grupy karbaminianów obserwowano również Önfelt (1983). Jednocześnie wykazano, że pod wpływem pestycydów obniża się aktywność glutationowej-S-transferazy, katalizującej połączenie substancji toksycznej z GSH (Vessey i Boyer, 1984). Tak więc uzyskane wyniki wyraźnie wskazują, że jednorazowe dawki Pirimoru 50 DP w ilości 40 mg/kg wywołują istotne zmiany w przebiegu rytmiki dobowej GSH w krwi, mózgu, nerkach i wątrobie. Wpływ ten jest zróżnicowany i wyraża się wzrostem stężenia GSH w krwi, mózgu i nerkach w czasie dnia oraz obniżeniem jego ilości w wątrobie, a także przesunięciem wartości

tego trójpeptydu w ciągu doby w stosunku do wartości kontrolnych. Wydaje się, że wrażliwość samców myszy w ciągu doby na Pirimor 50 DP jest największa w godzinach nocnych, co wyraża się spadkiem zawartości GSH.

LITERATURA

1. Amer S.M., 1965, Cytological effects of pesticides. I. Mitotic effects of N-methyl-1-naphtyl-carbamate "Sevin". Cytologia, 30, 175.
2. Clark E.P., Epp E., Bielow J.E., Morse-Gaudio M., Zachgo E., 1984, Glutathione depletion, radiosensitization and misonidazole potentiation in hypoxic chinese hamster ovary cells by luthionine sulfoximazine. Radiation Research, 98, 370-380.
3. Coles B., Srai S.K.S., Wanforth H.B., Ketterer B.C., 1983, The major of glutathione in the metabolism and excretion of N,N-dimethyl-4-amino-azobenzene in the rat. Chem. Biol. Interactions, 47, 307-323.
4. Corongin F.P., Mazzoleni A.P., Biggio G., Dessi M.A., 1983, Modifications of regional distribution of reduced glutathione in the adult rat brain induced by methylmercury intoxication. IRCS Med. Sci., 11, 1030-1031.
5. Ehrich M., Cohen S.D., 1977, Effect of dichlorvos (DDVP) on mouse liver glutathione levels and lack of potentiation by methyl iodide and TOCP. Biochem. Pharmacol. 26, 997.
6. Ellman G.L., 1959, Tissue sulfhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys., 82, 70-77.
7. Faroqui M.Y.H., Ahmed A.E., 1984, Circadian periodicity of tissue glutathione and its relationship with lipid peroxidation in rats. Life Sciences, 34, 2413-2418.
8. Giorgi G., Micheli L., Segre G., 1984, A diurnal variation of the glutathione content in rat liver and stomach. IRCS Med. Sci., 12, 560-561.

9. Glatt H., Oesch F., 1977, Inactivation of electrophilic metabolites by glutathione S-transferase and limitation of the system due to subcellular location. *Arch. Toxicol.*, 39, 87-96.
10. Jacoby W.B., 1978, The glutathione S-transferase: A group of multifunctional detoxification proteins. In *Advance in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology* (Meister A, ed.), pp. 383-411. John Wiley and Sons, New York.
11. Jakoby W.B., Habig W.H., 1980, Glutathione transferases. In *Enzymatic Basis of Detoxification* (W.B. Jakoby, ed.), vol. II, pp. 63-93. Academic Press, New York.
12. Lock E.A., Ishmael J., Hook J.B., 1984, Nephrotoxicity of hexachloro-1,3-butadiene in the mouse: The effect of age, sex, strain, monooxygenase modifiers, and the role of glutathione. *Toxicology Applied Pharmacology*, 72, 489-494.
13. Miller A., Henderson M.C., Buhler D.R., 1979, Covalent binding of carbaryl (1-naphtyl-N-methylcarbamate) to rat liver microsomes in vitro. *Chem. Biol. Interact.*, 24, 1-7.
14. Mitchel J.R., Jollow D.J., 1975, Metabolic activation of drugs to toxic substances. *Gastroenterology*, 68, 392-410.
15. Morrison H., Hammarskiöld B., 1983, Status of reduced glutathione in primary cultures of rat hepatocytes and the effect on conjugation of benzo (a) pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-oxide. *Chem. Interactions*, 45, 235-242.
16. Mount L.E., Willmott J.V., 1967, The relation between spontaneous activity, metabolic rate and the 24-hour cycle in mice at different environmental temperatures. *J. Physiol.*, 190, 371-380.
17. Önfelt A., 1983, Spindle disturbances in mammalian cells. I. Changes in the quantity of free sulfhydryl groups in relation to survival and C-mitosis in V79 chinese hamster

- cells after treatment with colcemid, diamide, carbaryl and methyl mercury. *Chem. Biol. Interactions*, 46, 201-217.
18. Reed D.J., Beatty P.W. 1980, Biosynthesis and regulation of glutathione: Toxicological implications. In *Reviews in Biochemical Toxicology* (E. Hodgson, J.R. Bend and R.M. Philpot, eds), vol. 2, p. 213, Elsevier (North-Holland, New York).
 19. Riviere J.L., Bach J., Grolleau G., 1983, Effect of pyrethroid insecticides and N-/3,5-dichlorophenyl/ Dicaboximide fungicides on microsomal drug-metabolizing enzymes in the Japanese Quail (*Coturnix coturnix*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 31, 479-485.
 20. Romero F.J., Soboll S., Sies H., 1984, Mitochondrial and cytosolic glutathione after depletion by phorone in isolated hepatocytes. *Experientia*, 40, 365-367.
 21. Simmons D.J., Lesker P.A., Sherman N.E., 1974, Induction of sodium pentobarbital anesthesia. A circadian rhythm. *J. Interdiscipl. Cycle Res.*, 5, 71-75.
 22. Smith A.C., James R.C., Berman M.L., Harbison R.D., 1984, Paradoxical effects of perturbation of intracellular levels of glutathione on halothane-induced hepatotoxicity in hyperthyroid rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 4, 221-230.
 23. Smith G.J., Ohl V.S., Litwack G.C., 1977, Ligandin, the glutathione-S-transferases and chemically induced hepatocarcinogenesis: A review. *Cancer Res.*, 37, 8-14.
 24. Szucki B., Mojczałora W., Podolak M., Krzyżanowski J., 1978, *Chemiczne środki ochrony roślin*. PWRiL.
 25. Vessey D.A., Boyer T.D., 1984, Differential activation and inhibition of different forms of rat liver glutathione-S-transferase by the herbicides 2,4-dichlorophenoxyacetate (2,4-D) and 2,4,5-trichlorophenoxyacetate (2,4,5-T). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 73, 492-499.

Henryk Lach, Stanisław Krawczyk, Karol Dziubek,
Waldemar Szaroma, Bogdan Koczanowski

THE INFLUENCE OF PIRIMOR 50 DP INSECTICIDE (5,6-dimethylo-
-2-dimethyloamino-4-piridinilo-dicarbaminian) ON TWENTY-
FOUR HOURS' CHANGES OF GLUTATHIONE CONTENT IN BLOOD, BRAIN,
LIVER AND KIDNEYS OF MICE

Summary

The influence of single doses of Pirimor 50 DP insecticide (5,6-dimethylo-2-dimethyloamino-4-piridinilo-dicarbaminian) on twenty-four hours' changes of GSH content in blood, brain, liver and kidneys of mice has been studied. It has been found that single doses of Pirimor 50 DP cause some significant changes in the course of the twenty-four hour's rhythm of GSH content in blood, brain, liver and kidneys in relation to the control material. The changes consist in a displacement of minimum and maximum values of GSH content in blood, brain, liver and kidneys during twenty - four hours' time in relation to the control material. At the same time it has been proved that the mean quantity of GSH in the liver decreased during twenty four hours whereas in kidneys it increased significantly in relation to analogical control values. The obtained results point out to the fact that an organism is much more sensitive to the effects of Pirimor 50 DP insecticide at night than during the day. Thus, it seems that the GSH content in blood and tissues may be a good indicator of day and night's changes in mammals' sensitivity to insecticides.

Хенрик Лях, Станислав Кравчик, Кароль Дзюбек,
Вальдемар Шарома, Богдан Кочановский

ВЛИЯНИЕ ИНСЕКТИЦИДА ПИРИМОР 50 ДП /5,6-ДИМЕТИЛ-2-ДИМЕТИЛАМИ-
НО-4-ПИРИМИДИНИЛО-ДИКАРБЪМИНАТ/ НА СУТОЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕР-
ЖАНИЯ ГЛЮТАТИОНА В КРОВИ, МОЗГУ, ПЕЧЕНИ И ПОЧКАХ МЫШЕЙ

Резюме

Исследовалось влияние однократных доз инсектицида Пиримор 50 ДП /5,6-диметил-2-диметиламино-4-пиримидинило-дикарбонинат/ в количестве 40 мг на кг, на суточные изменения содержания глутатиона в крови, мозге, печени и почках мышей. Разовые дозы Пиримора 50 ДП вызывают значительные изменения в ритмике

суточного содержания глутатиона в крови, мозгу, печени и почках по сравнению с проверочным материалом. Эти изменения выражены в смещении максимальных и минимальных величин количества глутатиона в крови, а также в мозгу, печени, почках в течение суток в соотношении к проверочному материалу. Одновременно подтверждается, что среднее количество глутатиона в печени на протяжении суток снизилось, а в почках значительно увеличилось по сравнению с аналогичными проверочными значениями. Результаты указывают, что организм является значительно больше чувствительным на действие инсектицида Пиримор 50 ДП ночью, чем днем. Кажется, что уровень глутатиона в крови и тканях может быть хорошим суточным показателем изменений чувствительности млекопитающих на инсектициды.