

616-001.26/28-091.8-091.1

VLIV NEMOCI Z OZÁŘENÍ NA BIOCHEMICKÉ POSTMORTÁLNÍ ZMĚNY VE TKÁNÍCH

J. VRANOVSKÁ, V. KALOUSOVÁ, O. PAWEL

Veterinární výzkumné středisko v Praze

Úvod

V prvé řadě nutno podotknout, že jsme dosud nenašli v dostupné literatuře práci, kde by se tato otázka řešila z experimentálního stanoviska. Současná hlediska v této otázce jsou vlastně hypotézy, které byly vytvořeny na základě dedukcí extrapolovaných z vlivu jiných nespecifických zátěží na organismus zvířat.

Uvažujeme-li o používání masa ze zvířat poražených v průběhu nemoci z ozáření k výživě lidí, musíme vycházet z předpokladů, že toto maso bude používáno pouze za mimořádných podmínek, kdy dojde k hromadnému uvolnění velkých množství jaderné energie. V tomto případě bude zářením zasaženo velké množství, nebo prakticky všechna zvířata na rozsáhlém území. Komplexní léčba nemoci z ozáření u jatečných a velkých hospodářských zvířat vůbec je zatím nepropracována a nezdá se, že by v blízké budoucnosti byla reálně proveditelná.

Za současné situace by však bylo možno zabránit ekonomickým ztrátám pouze rychlým jatečným využitím zasažených zvířat. Avšak takto vzniknou najednou velké zásoby masa, které bude nutno zpracovat v časově omezeném úseku. Proto jsme se v experimentální práci zaměřili na zjištění některých nejdůležitějších otázek charakterizujících kvalitu masa, jako jsou především údržnost masa a jeho vhodnost jako suroviny k některému ze základních způsobů zpracování na masné výrobky.

Přehled literatury

Základním procesem probíhajícím ve svalovně odporaženého zvířete je glykolýza, při které dochází k přeměně glykogenu na kyselinu mléčnou. Rovnováha existující mezi procesem asimilace a disimilace v živém organismu je smrtí přerušena. Ve svalovině mrtvého zvířete převládají procesy disimilační, dochází k rozkladu organických látek (Bate—Smith, Bendall, 1947; 1949; Smorodincev, 1957). V tomto stadiu dochází k rozkladu makroergických sloučenin — adenosintrifosforečné kyseliny (ATP) — adenosintrifosfatáza štěpí z ATP anorganický fosfát.

Breuer, Parchwitz (1959) nalézali po ozáření bílých myší 200 až 50 000 r zvýšení aktivity adenosintrifosfatázy ve slezině a játrech. Během jedné až dvou hodin se aktivita nemění, zvýšení nastává zejména ve slezině teprve po 24—48 hodinách nezávisle na dávce. Toto jejich zjištění potvrzuje ve své práci Prokudina (1959).

Volná fosforečná kyselina je důležitá pro štěpení glykogenu. Systémem glykolytických enzy-

mů je přenášena na štěpné produkty glykogenu za postupného uvolňování energie. Tudíž enzymatické hydrolýze glykogenu předchází fosforylace, vedoucí k tvorbě glukózo-1-fosfátu. Účinkem enzymů mění fosfát polohu a tvoří se glukózo-6-fosfát, enzymatickou izomerací přechází na fruktózo-6-fosfát. Do této molekuly dodává ATP další fosforečnou kyselinu a vzniká fruktózo-1,6-difosfát. V tomto stadiu se molekula glukózy mající 6 uhlíků rozkládá na 2 molekuly po 3 uhlících, a to na dioxyceton-1-fosfát a glyceraldehyd-3-fosfát. V dalším stadiu se dělí obě sloučeniny o molekulu vody a vzniká glycerofosfát a 3-fosfoglycerová kyselina, z nichž se pak tvoří 2-fosfoglycerová kyselina a nakonec fosfopyrohroznová kyselina. Ta potom uvolňuje fosforečnou kyselinu a působením dehydrogenázy přechází v kyselinu mléčnou jako konečný produkt.

Obě postupně uvolňované kyseliny jsou dosti silné a ovlivňují své prostředí. Množství kyseliny ortofosforečné dosahuje ve svalu koncentrace 0,07 — 0,1 % (Trawinski, 1954). Především účinkem mléčné kyseliny klesá pH z původní hodnoty 7 vlivem anaerobní glykolýzy na pH 5,4 — 5,6 (Hamm, 1959).

Stupeň snížení pH v masě tedy značně závisí na koncentraci mléčné kyseliny. Z dříve uvedeného vyplývá, že koncentrace kyseliny mléčné je tím větší, čím více glykogenu je ve svalu. Na množství glykogenu ve svalu má vliv především zdravotní stav zvířete, odpočinek a hladovění bezprostředně před porážkou. Únava zvířete vede ke zmenšenému obsahu glykogenu a tím i kyseliny mléčné.

Průběh glykolýzy v masě je značně rychlý. Současně s glykolýzou probíhají v masě další změny již poněkud pomaleji. Jak jsme se již zmínili, je ATP štěpena adenosintrifosfatázou. Při teplotě blízké 0 °C za dobu 12 hodin od okamžiku odporažení zvířete rozloží se z původního množství až 90 % ATP (Sokolov, 1951).

Snížením množství ATP zvyšuje se schopnost aktinu a myosinu vytvořit komplex — aktomyosin. Tudíž ztráta ATP je provázána tvorbou nedisociovaného aktomyosinu. Po 24 hodinách od smrti zvířete se množství aktomyosinu několikanásobně zvyšuje. Tvorbou aktomyosinu je charakterizováno stadium posmrtného tuhnutí — rigor mortis (Hamm, 1959).

Jestliže je zvíře poraženo v horečnatém stavu, posmrtné tuhnutí nemusí vůbec proběhnout, nebo není patrné, neboť glykogen je z největší míry zužitkován (Trawinski, 1959).

Tabulka 1

mg% amoniaku v mase ozářených vepřů
Uložení : místnost

Den po porážce	Porážka									
	1. období					2. období				
	X kontrol.	X ozář.	± Sd	t	P	X kontrol.	X ozář.	± Sd	t	P
0	9,78	9,43	2,900	0,255	—	9,78	10,16	1,480	0,419	—
1	10,09	9,25	1,130	3,710	1 %	10,09	12,01	1,010	3,110	1 %
2	11,48	11,22	1,485	0,379	—	11,48	12,63	1,560	2,014	5 %
3	12,07	12,99	2,460	0,891	—	12,07	16,01	2,560	2,520	2 %
4	15,39	14,67	4,100	0,373	—	15,39	25,45	3,630	4,520	1 %
8	58,16	73,38	39,410	0,521	—	58,16	72,14	11,900	1,500	20 %

Souhrnem je možno říci, že stupeň posmrtného tuhnutí svalů je nepřímo úměrný množství ATP. Ve stavu rigor mortis je koncentrace ATP ve svalu nulová (Dvořák, 1956).

Vnější projevem úplnosti fermentativních procesů probíhajících ve tkáních je hned za posmrtným tuhnutím zrání masa. V tomto stadiu dochází k postupnému uvolňování svalové tuhosti. Toto uvolňování si lze vysvětlit začínající autolýzou — dezintegrací aktinových vláken vystavených z malých globulárních molekul. Jestliže aktinové vlákno dezintegruje na globuly, musí tuhý aktomyozinový gel opět změknout (Szent-Györgyi, 1952).

Vedle proteolytické aktivity v období zrání masa projevuje se i činnost hydroláz. Dochází k postupnému štěpení nukleotidů až na jednotlivé složky, tj. puriny, pentózy a ortofosforečnou kyselinu. ATP je během celého zrání procesu rozložena na hypoxantin, ribózu, ortofosforečnou kyselinu a amoniak (Solovjev, 1953). Tak vznikají ze složitých látek postupně sloučeniny

jednodušší. Celý tento komplex látek ovlivňuje celkovou charakteristiku masa.

Experimentální část

Ke sledování změn ve tkáních vyvolaných pronikavou radiací jsme zvolili jako experimentální zvíře vepře, ozářené dávkou 700 r ionizujícího záření. Způsob ozařování a klinický obraz zvířat je popsán v jiném sdělení (Pawel a spol. 1966).

Metodika

Stanovení sušiny

Obsah vody ve vzorku jsme zjišťovali z rozdílu vah před sušením a po ukončení sušení do konstantní váhy při 105 °C.

Stanovení pH

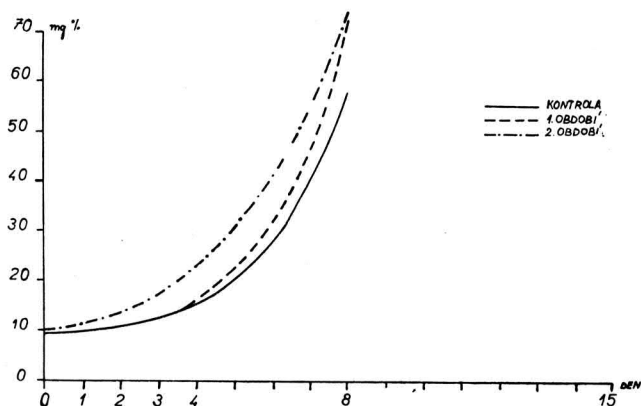
pH jsme měřili ve filtrátu vodného extraktu připraveného v poměru 1:3 na přístroji Multoskop za použití nízkoohmové skleněné elektrody a kalomelové elektrody jako srovnávací.

Tabulka 2

mg% amoniaku v mase ozářených vepřů
Uložení : chladnička

Den po porážce	Porážka									
	1. období					2. období				
	X kontrol.	X ozář.	± Sd	t	P	X kontrol.	X ozář.	± Sd	t	P
0	9,78	9,43	2,900	0,255	—	9,78	10,16	1,480	0,419	—
1	9,99	10,04	2,828	0,372	—	9,99	13,37	1,790	3,260	1 %
2	10,97	10,43	0,792	1,571	10 %	10,97	13,73	1,110	4,255	1 %
3	11,05	10,61	0,535	1,761	10 %	11,05	13,37	0,774	4,435	1 %
4	11,05	11,43	0,646	1,100	20 %	11,05	13,70	1,330	3,252	1 %
8	12,44	12,91	0,926	1,079	30 %	12,44	14,45	2,614	1,105	20 %
15	12,62	13,08	1,440	0,636	20 %	12,62	14,62	1,896	1,683	10 %

Obr. 1



Amoniak v mase vepřů uloženém při teplotě místnosti

Stanovení amoniaku

Množství amoniaku jsme stanovili metodou podle Conwaye [1947]. Používali jsme filtrát vodného extraktu připraveného v poměru 1:3.

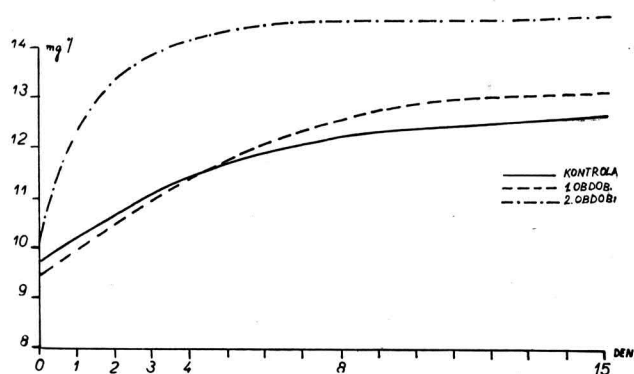
Výsledky a diskuse

Koncentrace vodíkových iontů v mase ozářených vepřů byla v průměru během celé doby skladování masa téměř vždy vyšší než v mase zvířat kontrolních. Bylo tomu tak u vepřů poražených v obou obdobích nemoci z ozáření s výjimkou tří průměrů analýz provedených v prvních dnech skladování masa vepřů poražených v manifestním rozvoji klinických příznaků akutní nemoci z ozáření. Bereme-li však v úvahu statistické výpočty, zjišťujeme, že jde právě o ty hodnoty, které byly v této skupině zvířat statisticky nejméně významné. Výše zjištěných hodnot pH tedy již naznačuje, že maso ozářených vepřů má menší údržnost vůči masu vepřů kontrolních.

Rovněž tak podle obsahu vody v mase lze usuzovat na menší údržnost masa ze zvířat ozářených. Maso těchto zvířat se během skladování jeví jako hydremické.

Doba údržnosti masa byla objektivně ještě lépe charakterizována množstvím amoniaku v mase (graf 1 a 2). Maso získané z ozářených zvířat se kazilo dříve. Maso vepřů poražených v manifestním rozvoji klinických příznaků ne-

Obr. 2



Amoniak v mase vepřů uloženém při teplotě chladničky

moci mělo navíc ještě kratší dobu údržnosti oproti masu z vepřů odporažených v prvním období nemoci. Tyto skutečnosti shodně charakterizované samozřejmě též nálezy subjektivních smyslových posouzení vzorků byly objektivně naprosto jednoznačně a statisticky významně (tab. 1 a 2) potvrzeny hodnotami množství amoniaku v mase vepřů poražených v druhém období nemoci, skladovaném jak v chladničce, tak i při teplotě místnosti. Množství amoniaku v mase vepřů poražených v prvním období nemoci, sledované při teplotě místnosti, bylo v průměru taktéž vždy vyšší než u kontrol, ale tyto hodnoty byly vcelku statisticky méně významné. Avšak na hranici významnosti již bylo zvýšené množství amoniaku v mase vepřů poražených v tomto období, pokud byla jeho údržnost sledována při teplotě chladničky. Tyto výsledky jsou lépe pochopitelné, když uvážíme velmi rychlý nástup kažení masa při teplotě místnosti, která byla v průměru 20 °C. Kažení se při této teplotě dostavilo velmi rychle i u masa kontrolních zvířat. Rychlý postup kažení masa nedával potom při zhodnocení chemického nálezu možnost vyniknout malým rozdílům mezi hodnotami množství amoniaku masa vepřů kontrolních a vepřů poražených v prvním období nemoci. Množství amoniaku v mase vepřů poražených v druhém období nemoci však bylo tak vysoké, že i během sledování masa při teplotě místnosti se již ukázalo být statisticky významným v porovnání s masem zvířat kontrolních.

Vyšší množství amoniaku zjištěné během skladování v mase ozářených zvířat bylo způsobeno tím, že maso se dříve začínalo kazit. Že tyto rozdíly nebyly důsledkem jiných faktorů, dokazuje i statisticky zcela nevýznamné rozdíly v množství amoniaku, které byly zjištěny ihned po porážce v mase všech pokusných skupin vepřů.

Na základě výsledků těchto laboratorních analýz, které podporují smyslové posouzení masa, možno konstatovat, že maso ozářených vepřů mělo kratší dobu údržnosti. Doba údržnosti byla nepřímo úměrná stupni rozvoje akutní nemoci z ozáření charakterizovaného klinickými příznaky.

Souhrn

1. V mase jak vepřů ozářených celotělově dávkou 700 r ionizujícího záření, tak i vepřů kontrolních jsme sledovali změny pH, amoniaku a obsahu vody.

2. Všechny tyto hodnoty jsme sledovali při dvou teplotách, a to v chladničce a při teplotě místnosti, která se pohybovala v průměru kolem 20 °C.

3. V mase ozářených zvířat probíhal proces zrání rychleji a počátek kažení masa se projevoval dříve než v mase zvířat kontrolních. Délka doby, o kterou bylo možno dříve očekávat rychlejší počátek kažení masa z ozářených vepřů, byla v průměru až o dva dny kratší při uložení masa za teploty místnosti a kratší ještě o více než dva dny při uložení masa za teploty chladírenské. Délka doby údržnosti masa z ozářených vepřů byla úměrná stupni rozvoje příznaků nemoci u zvířat, ze kterých bylo maso získáváno.

Literatura

1. Bate-Smith, E. C., Bendall, J. R.: Rigor mortis and ATP. *J. Physiol.* 106, 1947: 577.
2. Bate-Smith, E. C., Bendall, J. R.: Factors determining the tissue course of rigor mortis. *J. Physiol.* 110, 1949: 47.
3. Breuer, H., Parchwitz, H. K.: The content of adenosintriphosphate in the spleen and liver of mice after wholebody irradiation. *Strahlentherapie* 108, 1959: 93—96.
4. Conway, E. J.: *Microdiffusion Analysis and Volumetric Error.* London 1947.
5. Dvořák, Z.: *Biochemie masa. Zpráva VÚM Brno 1956.*
6. Hamm, R.: Hydratation und Rigidität des Rindermuskels. *Zschr. Lebensmitt.-Unters.* 109, 1959: 113—131.
7. Hamm, R.: Proteinladung und Muskelhydratation. *Zsch. Lebensmitt.-Unters.* 109, 1959: 227—234.
8. Pawel, O., Kalousová, V., Vranovská, J.: Klinický průběh akutní nemoci z ozáření u vepřů. *VZL 1966*, v tisku.
9. Prokudina, E. A.: O patogeneze zvýšení adenosintrifosfátové aktivity v slezence při oblučení hlavy u krysu. *Med. radiol.* 4, 1959, 6: 47—51.
10. Smorodincev, I. A.: *Biochimija mjasu.* Moskva 1957.
11. Sokolov, A.: O sozrevání masa. *Mjasn. industrija* 2, 1951: 14—17.
12. Solovjev, V. I., Piulskaja, V. I., Botkina, A. G., Michajlova, E. N.: *Trudy vsesojuz. naučno-issl. inst. mjas. promyš. V.* 1953: 108.
13. Szent-Györgyi, A.: *Proc. of 4th Research Conference sponsored by the Council on Research, Amer. Meat Institute, March 1952.*
14. Trawinski, A.: Zrání masa ve světle sovětských výzkumů. *Med. veter.* 10, 1954: 652—654.