

Zakład Badań Podstawowych. Instytut Medycyny Pracy i Higieny Wsi w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Włodzimierz Tyburczyk

Jadwiga LATUSZYŃSKA

**Badania doświadczalne nad embriotoksycznym wpływem fosfamidonu
na nabłonek kanalików krętych nerki. I. Badania makroskopowe ***

Экспериментальные исследования эмбриотоксического влияния фосфамидона на
эпителий извилистых канальцев почки. I. Макроскопические исследования

Experimental Research on the Embryotoxic Influence of Phosphamidon on the
Epithelium of Renal Convoluted Tubules. I. Macroscopic Studies

Stosowanie chemicznych środków ochrony roślin stwarza ubocznie szereg zagrożeń dla człowieka. Jednym z nich może być wpływ chemicznych środków ochrony roślin na potomstwo, jeżeli na działanie tych środków narażona jest matka w czasie ciąży. Mówi się wówczas o embriotoksycznym lub teratogennym działaniu danego czynnika (1, 10).

W latach siedemdziesiątych naszego stulecia opublikowano szereg prac sygnalizujących występowanie zmian u noworodków zwierząt doświadczalnych, których matki narażone były na działanie pestycydów (1, 3, 7, 10). Wśród następstw wpływu tych związków wymienia się również wady nerek u płodów.

Zamiar wprowadzenia fosfamidonu do powszechnego użytku oraz brak w dostępnej literaturze badań dotyczących embriotoksycznego i teratogennego działania tego preparatu stanowiły bodziec do podjęcia badań własnych. Celem ich jest uzyskanie odpowiedzi na pytanie, jaki wpływ wywiera fosfamidon na noworodki szczurze, a szczególnie na nabłonek kanalików proksymalnych nerek.

W ramach doświadczenia przeprowadzono badania makroskopowe, pozwalające określić, czy preparat działa embriotoksycznie, czy teratogennie na płody, badania histologiczne i histochemiczne oraz badania ultrastrukturalne. Przedmiotem części I są wyniki badań makroskopowych.

* Wyrażam podziękowanie Panu Prof. Drowi hab. Maciejowi Latałskiemu, pod którego kierunkiem prowadzone były badania.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania prowadzono na 91 szczurach szczepu Wistar, samicach, w wieku 3—4 mies., o c.c. 200—250 g. Szczury pochodziły z hodowli własnej Instytutu Medycyny Pracy i Higieny Wsi w Lublinie. Karmione były paszą granulowaną LSM z dodatkiem jarzyn i wody.

Po ustaleniu cyklu płciowego samic, kojarzono je z samcami. Następnego dnia dokonywano oceny mikroskopowej wymazów z pochwy. Za pierwszy dzień ciąży przyjmowano dzień, w którym stwierdzono występowanie plemników w wymazach.

Do zatruwania zwierząt stosowano 93,3% fosfamidon techniczny, otrzymany z Instytutu Przemysłu Organicznego w Warszawie. Preparat zawieszano w oleju z oliwek i podawano szczurom sondą dożławkowo w ilości 1/2 LD₅₀ w dawkach pojedynczych i 1/10 LD₅₀ w dawkach wielokrotnych. Za ostrą dawkę toksyczną dostaną LD₅₀ fosfamidonu dla szczura przyjęto 30 mg/kg c.c. Wyróżnione grupy doświadczalne zestawiono w tab. 1.

Tab. 1. Zestawienie grup doświadczalnych
Comparison of experimental groups

Grupy doświadczalne	Dzień podenia	Dawka	Faza rozwoju płodu
I	8	1/2 LD ₅₀	organogeneza
II	9	1/2 LD ₅₀	organogeneza
III	10	1/2 LD ₅₀	organogeneza/ fetogeneza
IV	11	1/2 LD ₅₀	fetogeneza
V	12	1/2 LD ₅₀	fetogeneza
VI	13	1/2 LD ₅₀	fetogeneza
VII	8-13	1/10 LD ₅₀	organogeneza i początek fetogenezy

Zwierzęta doświadczalne podzielone zostały na 7 grup, z których 6 pierwszych otrzymało dawki jednorazowe w następujących dniach ciąży: w 8. (grupa I), 9. (grupa II), 10. (grupa III), 11. (grupa IV), 12. (grupa V), 13. dniu (grupa VI) ciąży. Ostatnia, grupa VII szczurów zatrutowana była wielokrotnie w okresie od 8. do 13. dnia ciąży włącznie, to jest w okresie organogenezy i wczesnej fetogenezy płodów.

W każdej z siedmiu grup znajdowało się po 10 zapłodnionych samic. Równolegle prowadzono badania grup kontrolnych, z których każda obejmowała po 3 samice. Zwierzętom tym podawano w powyższych dniach ciąży olej w ilościach analogicznych do ilości preparatu stosowanego w grupach doświadczalnych.

Po skończonym doświadczeniu wykonywano sekcję samic i notowano zauważone zmiany, zwracając szczególną uwagę na narządy rodne. Określono liczbę implantacji, resorpcji, liczbę noworodków żywych i martwych. Wykonywano również sekcję noworodków, po 2 lub 3 z każdego miotu. Noworodki przed sekcją dokładnie oglądano i notowano wszelkie odchylenia od normy.

WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH

Fosfamidon, podawany w dawkach pojedynczych i wielokrotnych samicom ciężarnym w okresie organogenezy i na początku fetogenezy płodów, prowadził do wzrostu liczby resorpcji płodów, szczególnie u samic, które otrzymywały wielokrotną dawkę preparatu oraz dawki pojedyncze w 8. i 9. dniu ciąży (tab. 2).

Tab. 2. Wpływ fosfamidonu na rozwój płodów
The influence of phosphamidon on the development of fetus

Dzień podawania	Dawka preparatu	Implantacje	Wszystkie noworodki		Resorpcja		Noworodki martwe		Noworodki z wadami	
			liczba	odsetek implantacji	liczba	odsetek implantacji	liczba	odsetek urodzonych	liczba	odsetek
8	1/2 LD ₅₀	123	114	92,7	9	7,3	1	0,9	2	1,7
9	1/2 LD ₅₀	107	99	92,5	8	7,5				
10	1/2 LD ₅₀	109	105	96,3	4	3,7	2	1,9		
11	1/2 LD ₅₀	108	104	96,3	4	3,7				
12	1/2 LD ₅₀	91	90	98,9	1	1,1				
13	1/2 LD ₅₀	97	95	98,0	2	2,0				
8-13	1/10 LD ₅₀	106	97	91,5	9	8,5	3	2,0		
	Kontrola	231	228	98,7	3	1,3				

U samic, które otrzymywały preparat 8. i 10. dnia ciąży oraz w dawkach wielokrotnych od 8. do 13. dnia ciąży, obserwowano pojedyncze noworodki martwe.

W nerkach dwu noworodków, których matki otrzymywały preparat 8. dnia ciąży, obserwowano brak części rdzennej.

Samice grupy kontrolnej nie rodziły martwych noworodków. Nieznaczny odsetek resorpcji stwierdzono niezależnie od tego, czy podawano olej w dawkach jednorazowych, czy wielokrotnych (tab. 2).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Dane piśmiennictwa światowego sygnalizują fakt embriotoksycznego i teratogennego działania szeregu preparatów fosforoorganicznych (5, 8). Stwierdzono, że znajdujące się w organizmie matki związki fosforoorganiczne mogą przechodzić do płodu (5, 9). Podzielone są natomiast opinie co do tego, czy teratogenne działanie tych preparatów zależy od inhibicji

cholinoesterazy u płodów, czy też wrażliwość płodów na omawianą grupę pestycydów wynika z ich niedojrzałości rozwojowej, na którą składa się niedojrzałość metabolizmu, detoksykacji, transportu, wydalania i innych procesów zachodzących w organizmie (8).

Z przeprowadzonych badań wynika, że fosfamidon, podobnie jak szeregi innych związków tej grupy, może działać szkodliwie na rozwój zarodków i ich narządów wewnętrznych.

Kilkakrotne, kolejne podanie małych dawek preparatu ciężarnym samicom w okresie organogenezy i na początku fetogenezy płodów okazało się bardziej embriotoksyczne niż teratogenne. Przejawiało się to nieco większą (niż w przypadku dawek pojedynczych) liczbą resorpcji płodów i nieco większą liczbą noworodków martwych. W grupie I doświadczalnej, otrzymującej wysoką dawkę jednorazową fosfamidonu, stwierdzono 1,7% noworodków z wadami, czego nie obserwowano w pozostałych grupach doświadczalnych.

Dane te są zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy (6, 7), z poglądami panującymi wśród teratologów, którzy twierdzą, że dawki jednorazowe stwarzają większe prawdopodobieństwo teratogennego działania niż dawki wielokrotne.

Według D y b a n a i wsp. (4), zwierzęta w tym samym stadium rozwoju mogą reagować odmiennie na różne preparaty. W badaniach doświadczalnych nad embriotoksycznym działaniem środków chemicznych należy, według tego autora, podawać je zarówno w dawkach pojedynczych, jak i wielokrotnych.

Badania, prowadzone przez K o n s t a n t i n o w ą (7), nad wpływem estru butylowego kwasu 2,4,5-T na embriogenezę u szczurów sugerują, że jednorazowe lub krótkotrwałe podawanie preparatu prowadzi do zwiększenia liczby płodów z wylewami krwawymi w narządach i tkankach oraz do powstawania anomalii rozwojowych w układzie moczowo-płciowym. Z badań tych wynika, że najbardziej czułym okresem na działanie tego preparatu u szczura jest okres między 7. a 14. dniem ciąży. Brak podobnych zmian u płodów po długotrwałym podawaniu preparatu tłumaczy autorka adaptacją organizmu szczura do wielokrotnego zatruwania.

B o u c a r d i wsp. (1), podając insektycyd — Dieldrin — szczurom rasy Wistar, nie zauważyli różnic w wielkości i rodzaju zmian występujących po podaniu dawek wielokrotnych i pojedynczych. Okresem, w którym płód był najbardziej wrażliwy na powstawanie wad, okazała się organogeneza i początek fetogenezy. Podobne wyniki uzyskało wielu autorów prowadzących badania nad embriotoksycznym i teratogennym wpływem pestycydów (6, 10). Również po wielokrotnym podaniu pestycydów obserwowano wzrost resorpcji płodów (3, 7).

Chernoff (3), podając insektycyd Endrin chomikom 8. dnia ciąży w dawce jednorazowej (maksimum 10 mg/kg) oraz w dawkach wielokrotnych (maksimum 3,5 mg/kg) w okresie od 5. do 14. dnia ciąży, stwierdził, że jednorazowe podanie preparatu prowadzi do powstawania wad, natomiast zatrucie wielokrotne wpływa na wzrost śmiertelności i spadek wagi ciała płodów. Wady po podaniu dawek wielokrotnych obserwował znacznie rzadziej.

Wnioski

1. Fosfamidon, podawany ciężarnym samicom w dawkach jednorazowych lub wielokrotnych, działał embriotoksycznie.
2. Teratogenne działanie fosfamidonu stwierdzono tylko w odniesieniu do płodów 8-dniowych.

PISMIENNICTWO

1. Boucard M. i wsp.: Experimental Study of Teratogenesis. Influence of the Period and Duration of Treatment. *Therapie (Paris)* 25 (5), 907, 1970.
2. Budreau C. H.: Teratogenicity and Chronic Toxicity of Three Organophosphorus Insecticides in CF Mice. *Diss. Abstr. Inst.* 33 (3), 1774 B, 1972.
3. Chernoff N., Rogers E. H.: Fetal Toxicity of Kepone in Rats and Mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 38 (1), 189, 1976.
4. Dyban A. P. i wsp.: Osnownyje mietodiczeskije podchody k' tiestirowaniju tieratogennoj aktiwnosti chemiczeskich wieszczestw. *Archiw. Anat. Gistol. Embriol.* 59 (10), 89, 1970.
5. Declume C., Derache R.: Etude radioisotopique du passage placentaire d'un dérivé carbamate pesticide (sevin) chez la rate. *Toxicol. Eur. Res.* 1 (2), 85, 1978.
6. Glukhova L. G.: Morfologichni zmini v organakh potomstva shchurvi pri otruenii samok polikhorpinenom. *Pediatr. Akush. Ginekol.* 6, 44, 1977.
7. Konstantinowa T. K.: Wlijanije gierbicyda butilowogo efira na embriogenez bielych krysz pri wozdiejstwii w razlicznyje pieriody bieriemiennosti. *Gigijena Truda* 8, 15, 1976.
8. Lu F. C. i wsp.: Toxicity of Pesticide in Young Versus Adult Rats. *Food Cosmet. Tox.* 3 (4), 591, 1965.
9. Maślińska D., Zalewska Z.: Effect of Dichlorvos Administred to the Pregnant, on the Cholinesterases Activity in the Progeny. *Folia Histochem. Cytochem.* 16 (4), 335, 1978.
10. Palmer A. K. i wsp.: Effect of Lindane on Prognancy in the Rabbit and Rat. *Toxicol.* 9 (3), 239, 1978.

РЕЗЮМЕ

Влияние фосфамидона исследовалось на новорожденных крысах. Из проведенных исследований вытекает, что фосфамидон имеет эмбриотоксическое влияние. Введенный на 8-й день беременности вызвал 1,7% случаев повреждения почек.

SUMMARY

The influence of phosphamidon on newborn rats was investigated. From the conducted studies it appears that phosphamidon reveals an embryotoxic effect. When administered on the 8th day of pregnancy in 1.7% of the cases it led to the development of kidney defects.