

TEODOR JUSZKIEWICZ, BOGDAN WŁODARCZYK,
MARIA MINTA, BOGUMIŁ BIERNACKI

Wpływ monenzyny i tiamuliny na wybrane wskaźniki samczego układu rozrodczego chomika

Zakład Farmakologii i Toksykologii Instytutu Weterynarii,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

Spermatotoxicity of monensin and tiamulin in hamsters following their oral administration

Four groups of male golden hamsters (12 animals per one group) were given orally for 5 consecutive days the following drugs: group I = 0 (control), group II = monensin at the rate of 2 mg per 1 kg, group III = tiamulin at the rate of 45 mg per 1 kg, group IV = monensin simultaneously with tiamulin at the rate of 0.5 mg and 10 mg per 1 kg respectively. Four animals of each group were sacrificed at 1, 4 and 10 weeks after the treatment. There were evaluated: the weight of testes, epididymides, accessory sex glands, the number of spermatozoons and the percentage of spermatozoons with morphological defects. The results were analysed statistically with Bartlett's test and two-way ANOVA.

Neither monensin nor tiamulin induced any adverse effects on the male reproductive system of hamsters.

Obserwacje kliniczne u ludzi, a także wyniki doświadczeń na zwierzętach wskazują, że za niepowodzenia w rozrodzie spowodowane lekami i innymi związkami chemicznymi samce mogą być odpowiedzialne w takim samym stopniu, co samice (1, 8). Dla wielu substancji chemicznych męski układ rozrodczy jest narządem docelowym, a obniżenie płodności może nastąpić bez zauważalnych objawów klinicznych i zaburzeń funkcjonalnych. Dlatego też istnieje potrzeba stosowania uproszczonych (skryningowych) metod badania nasienia u zwierząt doświadczalnych w cyklu testowania szkodliwości związków chemicznych skażających zwierzęta i ludzi oraz w badaniach przedklinicznych leków (6, 7). Komórki płciowe męskie (plemniki) są bardzo wrażliwe na szkodliwy wpływ środowiska, a jednocześnie względnie łatwo można uzyskać dużą ich liczbę i szybko przebadać pod względem morfologicznym. Dobrym modelem do badań w tym zakresie, przy zachowaniu pewnych warunków, jest chomik (3).

Celem obecnej pracy było sprawdzenie czy monenzyna (antybiotyk jonoforowy o działaniu kokcydiostatycznym) i tiamulina (półsyntetyczny antybiotyk z grupy makrolidów stosowany do zwalczania m.in. mikoplazmozy u drobiu i dyzenterii u świń) podane oddzielnie lub łącznie działają na gonady i produkcję nasienia u chomików. Z praktyki weterynaryjnej wiadomo, że oba te antybiotyki podane przypadkowo zwierzęciu w tym samym czasie stają się zaskakująco silnie toksyczne.

Materiał i metody

Preparaty. Monenzyna (Monensin sodium, Eli Lilly & Comp.) o zawartości składnika czynnego 96%.

Tiamulina (Tiamowet, Gorzowskie Zakłady Przemysłu Bioweterynaryjnego, zawierający 45% Tiamulin hydrogen fumarate).

Zwierzęta. Chomiki złociste, samce w wieku około 16 tyg. pochodzące z hodowli własnej. W pomieszczeniu o ustalonych warunkach środowiskowych (14-godz. dzień świetlny, temp. otoczenia $20 \pm 2^\circ\text{C}$ oraz wilgotność wzgl.

$50 \pm 10\%$) utrzymywano po 4 samce w klatkach. Mieszanke granulowaną „Murigran” oraz wodę do picia podawano *ad libitum*.

Do doświadczenia użyto 48 samców, które podzielono na 4 równe grupy po 12 zwierząt: I grupa — otrzymywała monenzynę w dawce 2 mg/kg m.c., II grupa — otrzymywała tiamulinę w dawce 45 mg/kg m.c., III grupa — otrzymywała monenzynę w dawce 0,5 mg/kg i tiamulinę w dawce 10 mg/kg m.c. IV grupa — kontrolna (roztwór wodno-alkoholowy).

Wszystkie dawki podano w przeliczeniu na związki czynne. Monenzynę podawano w roztworze wodno-alkoholowym (5 ml 96% alkoholu etylowego + woda destylowana ad 100 ml). Tiamulinę podawano w roztworze wodnym. Roztwory podawano sondą do żołądka tak, aby 1 ml przypadła na 100 g masy ciała zwierzęcia. Podawanie kontynuowano przez 5 kolejnych dni. Grupa kontrolna otrzymywała w analogicznym okresie roztwór wodno-alkoholowy w ilości 1 ml na 100 g m.c.

Po 1, 4 i 10 tygodniach od zakończenia podawania preparatów usypiano po 4 zwierzęta z każdej grupy. Te odstępy czasowe podyktowane zostały odpowiednimi stadiami spermatogenezy u samców w okresie ekspozycji takimi, jak: dojrzałe plemniki, różniące się spermatocyty oraz spermatogonie. Od uspijonych zwierząt pobierano: jądra, najądrza oraz gruczoły pęcherzykowe i koagulacyjne. Jądra i gruczoły płciowe dodatkowo ważono, natomiast z najądrzy wypreparowywano ogon najądrza, który po zważeniu rozcinano na jak najmniejsze cząstki i umieszczano w 10 ml 10% roztworu formaliny w zbuforowanym jałowym roztworze soli fizjologicznej (PBS). Uzyskaną zawiesinę wytrząsano przez 3 minuty na mieszadle typu „Vortex”. Część zawiesiny wykorzystywano do określenia liczby plemników metodą hemocytometryczną. Pozostałą część barwiono 1% roztworem eozyny Y w PBS i po 30 min. wykonywano rozmaz na szkiełku podstawowym. Po wyschnięciu rozmaz płukano wodą destylowaną i oglądano pod mikroskopem (pow. 400×). Oceniano pod względem morfologicznym 1000 plemników od każdego chomika. Plemniki o nieprawidłowej budowie morfologicznej klasyfikowano wg tablicy opracowanej przez Singha i wsp. (5).

W opracowaniu statystycznym wyników zastosowano test Bartletta oraz analizę wariancji w klasyfikacji podwójnej (2).

Wyniki i omówienie

Wyniki doświadczenia zestawiono w tab. 1.

Grupa kontrolna. Średnie wartości ocenianych wskaźników w tej grupie dla całego okresu doświadczenia wyniosły: masa jąder 3,05 g, masa ogonów najądrzy 662,3 mg, masa gruczołów płciowych dodatkowych 2,29 g, liczba plemników $0,920 \times 10^6$, plemniki z wadami morfologicznymi 0,49%.

Grupy doświadczalne. Średnie wartości ocenianych wskaźników w tych grupach dla całego okresu doświadczenia różniły się nieznacznie między poszczególnymi grupami. Średnie masy ocenianych narządów były najniższe w grupie III otrzymującej tiamulinę i monenzynę łącznie, zaś najwyższe w grupie II otrzymującej tylko tiamulinę. Najwyższy odsetek plemników z wadami morfologicznymi zaobserwowano w grupie III (0,74%), w której zwierzętom podawano tiamulinę i monenzynę, a najniższy w grupie II (0,60%). Liczba plemników w 1 mg ogona najądrza była średnio najniższa w grupie I ($0,826 \times 10^6$) otrzymującej tylko monenzynę,

Tab. 1. Wpływ monenzyny i tiamuliny na wybrane parametry układu rozrodczego samczego chomików

Grupy, dawka mg/kg m.c.	Czas po ekspozycji (tygodnie)			
	1	4	10	$\bar{x} \pm \text{SEM}^*$
	masa jąder (g)			
I Monenzyna 2,0	3,17	3,06	2,96	3,06 \pm 0,08
II Tiamulina 45,0	2,96	3,18	3,45	3,19 \pm 0,12
III Mon. 0,5 Tiam. 10,0	2,89	2,90	3,10	2,96 \pm 0,07
IV kontrola	2,95	3,00	3,21	3,05 \pm 0,08
$\bar{x} \pm \text{SEM}$	2,99 \pm 0,06	3,03 \pm 0,06	3,18 \pm 0,09	
	masa ogonów najądrza (mg)			
I Monenzyna 2,0	674	686	632	664,2 \pm 18,7
II Tiamulina 45,0	657	686	719	687,4 \pm 23,4
III Mon. 0,5 Tiam. 10,0	652	597	739	662,8 \pm 28,8
IV kontrola	621	682	683	662,3 \pm 13,2
$\bar{x} \pm \text{SEM}$	651 \pm 10,8	663 \pm 21,9	694 \pm 17,8	
	masa gruczołów płciowych dodatkowych (g)			
I Monenzyna 2,0	2,20	2,20	1,98	2,13 \pm 0,06
II Tiamulina 45,0	2,11	2,39	2,14	2,21 \pm 0,07
III Mon. 0,5 Tiam. 10,0	2,10	2,21	1,93	2,08 \pm 0,08
IV kontrola	2,15	2,19	2,51	2,29 \pm 0,08
$\bar{x} \pm \text{SEM}$	2,14 \pm 0,06	2,25 \pm 0,05	2,14 \pm 0,07	
	liczba plemników ($n \times 10^6$)			
I Monenzyna 2,0	0,726	0,845	0,907	0,826 \pm 0,046
II Tiamulina 45,0	0,726	0,893	0,912	0,844 \pm 0,043
III Mon. 0,5 Tiam. 10,0	0,854	0,855	0,844	0,851 \pm 0,026
IV kontrola	0,952	0,871	0,935	0,920 \pm 0,020
$\bar{x} \pm \text{SEM}$	0,815 \pm 0,05	0,866 \pm 0,01	0,900 \pm 0,02	
	plemniki o nieprawidłowej budowie morfologicznej (%)			
I Monenzyna 2,0	0,65	0,67	0,62	0,65 \pm 0,05
II Tiamulina 45,0	0,42	0,62	0,75	0,60 \pm 0,07
III Mon. 0,5 Tiam. 10,0	0,85	0,57	0,80	0,74 \pm 0,06
IV kontrola	0,42	0,50	0,55	0,49 \pm 0,04
$\bar{x} \pm \text{SEM}$	0,59 \pm 0,10	0,59 \pm 0,37	0,68 \pm 0,05	

Objaśnienie: * — błąd standardowy średniej.

choć po 10 tygodniach od zaprzestania podawania leków najniższą liczbę plemników stwierdzono w grupie III. Wszystkie te wyniki mogą wskazywać na pewną, ale dość słabą toksyczność monenzyny, zwłaszcza w przypadku działania skojarzonego z tiamuliną, na samczy układ rozrodczy. Spostrzeżenie to nie znalazło jednak statystycznego potwierdzenia w tej pracy. Należy dodać, że we wszystkich grupach doświadczalnych średnia liczba plemników, a także odsetek plemników o nieprawidłowej budowie były niższe niż w grupie kontrolnej.

Porównując średnie wartości wyników uzyskanych w poszczególnych okresach badania (1, 4 i 10 tyg. po ekspozycji) stwierdzono ich ogólną tendencję wzrostową w okresie od 1 do 10 tygodnia we wszystkich ocenianych wskaźnikach (tab. 1). Wyjątek stanowiła masa gruczołów płciowych dodatkowych, która zwiększyła się w 4 tyg. z 2,14 g do 2,25 g, jednak w 10 tyg. spadła do poziomu wyjściowego 2,14 g. Należy przypuszczać, że obserwowana tendencja wzrostowa średnich mas ocenianych narządów, tj. jąder, najądrzy i gruczołów płciowych dodatkowych spowodowana była fizjologicznym rozwojem organizmu zwierząt, w tym również układu rozrodczego. Jedynie w I grupie otrzymującej monenzynę odnotowano niewielkie zmniejszenie masy omawianych narządów w czasie trwania doświadczenia.

Średnia liczba plemników od 1 do 10 tygodnia stopniowo zwiększała się, przy czym największy wzrost wystąpił w grupach I i II, w których najniższe wartości zanotowano w 1 tyg. doświadczenia ($0,726 \times 10^6$). W 10 tygodniu średnie liczby plemników w poszczególnych grupach osiągnęły bardzo wyrównany poziom z wyjątkiem grupy III, w której liczba plemników nieznacznie obniżyła się.

Odsetek plemników wadliwych morfologicznie, mimo

nieznacznych wahań, utrzymywał się na dość stałym poziomie w okresie całego doświadczenia i nie przekraczał wartości 1%. W świetle kilkuletnich badań własnych poziom ten należy uznać za fizjologiczny dla chomików z posiadanej hodowli (4).

Ocena statystyczna uzyskanych wyników wykazała, że różnice między wartościami średnimi w poszczególnych grupach doświadczalnych i grupą kontrolną, a także w kolejnych okresach badania (1, 4 i 10 tydzień) we wszystkich ocenianych wskaźnikach były statystycznie nieistotne przy poziomie prawdopodobieństwa $p < 0,05$.

W związku z powyższym można przyjąć, że monenzyna i tiamulina podawane osobno lub łącznie w warunkach przeprowadzonego doświadczenia nie wykazały działania spermatotoksycznego u chomików. Przedstawione wyniki nie pozwalają jednak wykluczyć u innych zwierząt takiej toksyczności monenzyny lub jej kombinacji terapeutycznej z innymi lekami.

Piśmiennictwo

- Dixon R. L., Hall J. L.: Reproductive toxicology, w: Principles and Methods of Toxicology, red. A. W. Hayes, Raven Press, New York, 1982.
- Gad S. C., Weil C. S.: Statistics for Toxicologists, w: Principles and Methods of Toxicology, red. A. W. Hayes, Raven Press, New York, 1982.
- Juszkiewicz T., Włodarczyk B., Minta M., Biernacki B.: Pat. Pol. 41, 138, 1990.
- Juszkiewicz T., Włodarczyk B., Minta M., Biernacki B.: Z. Versuchstierkd. Jena (w druku).
- Singh H., Richards D., Gould K. G.: Georgia Journal of Science 44, 104, 1986.
- Wyrobek A. J., Gordon L. A., Burkhart J. G., Francis M. W., Kapp Jr. R. W., Letz G., Malling H. V., Topham J. C., Whorton M. D.: Mutat. Res. 115, 1, 1983.
- Wyrobek A. J., Watchmaker G., Gordon L.: Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis 4, 83, 1984.
- Zenick H., Blackburn K., Hope E., Oudiz D., Goeden H.: Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis 4, 109, 1984.

Adres autora: prof. dr hab. Teodor Juszkiewicz, ul. Kaniówczyków 6/3, 24-100 Puławy