

BOGUMIŁ BIERNACKI, BOGDAN WŁODARCZYK, MARIA MINTA, TEODOR JUSZKIEWICZ

Wpływ cypermetryny na ciążę i przedurodzeniowy rozwój królika

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

Summary

The influence of cypermethrin on the pregnancy and prenatal development of rabbits

New Zealand white rabbits were given cypermethrin by gastric intubation at the rate of 0, 300, 600 and 1000 mg per 1 kg on the 4th, 10th, 13th and 18th day of their pregnancies. The fetuses were aborted on day 28. All 166 fetuses were examined for external, internal and skeletal malformations or variations. There was no evidence of teratogenic action of cypermethrin in the rabbits; however, embryotoxic effects were detected. The results may have some value for prenatal toxicology of other mammal species and humans poisoned by cypermethrin, and of some benefit for the ecotoxicology of hares in the area where this pesticide is applied as a plant protection agent.

Syntetyczne pyretroidy należą do nowej grupy insektycydów, szeroko stosowanych w praktyce rolniczej i weterynaryjnej. Odznaczają się one silnym działaniem owadobójczym, przy małej toksyczności dla ssaków i niewielkiej trwałości w organizmach żywych (3, 4, 6, 9).

Mechanizm toksycznego działania pyretroidów u zwierząt polega na ich wpływie na centralny i obwodowy układ nerwowy. W oparciu o objawy kliniczne działania toksycznego, pyretroidy można podzielić na dwie grupy: wywołujące T-syndrom (ang. tremor), w obrębie którego oprócz drgawek prowadzących do wyczerpania nerwowego i śmierci obserwuje się pojawienie agresji, nadmiernej pobudliwości oraz CS-syndrom (ang. choreoatetosis, salivation), przy którym występuje płasawica, skurcze kloniczne, ślinotok, zmiana zachowania się (6, 9). Stwierdzono, że pyretroidy wywołujące T-syndrom nie zawierają w swojej cząsteczce grupy CN, podczas gdy związki indukujące CS-syndrom posiadają ten rodnik. Przedstawicielem tych ostatnich może być cypermetryna, która należy do pyretroidów posiadających w swej strukturze grupy cyjanowe (10).

W obszernym piśmiennictwie światowym z zakresu toksykologii wiele prac dotyczących pyretroidów skupia się na zagadnieniach toksyczności ostrej i chronicznej tych związków dla bezkręgowców, ssaków, ptaków, ryb i płazów. Dużo prac poświęcono problemom toksykodynamiki pyretroidów, sposobu ich działania na organizm oraz opisom objawów towarzyszących zatruciom. Brak jest natomiast danych mówiących o wpływie syntetycznych insektycydów pyretroidowych na rozwój prenatalny zwierząt. Dlatego też podjęto badania zmierzające do oceny embriotoksyczności cypermetryny, dość powszechnie stosowanego insektycydu.

Materiał i metody

Do doświadczenia użyto królików rasy białej nowozelandzkiej, samic w wieku 4-5 miesięcy o masie ciała $2,30 \pm 0,20$ kg. Zwierzętom zapewniono 12-godzinny czas oświetlenia oraz temperaturę otoczenia w granicach $18 \pm 2^\circ\text{C}$ i wilgotność względną

w granicach 50-60%. Żywienie oparto o standardową paszę (LSK) i wodę, które podawano *ad libitum*. Po okresie aklimatyzacji samice kojarzono z samcami losowo. Zainseminowane samice podzielono na 4 grupy, umieszczając każde zwierzę w oddzielnej klatce. Ciężarnym królicom cypermetrynę podawano w 4, 10, 13 i 18 dniu ciąży (d.c.). Poszczególne grupy otrzymywały następujące dawki: grupa I-0 (kontrola), II-300 mg/kg, III-600 mg/kg, IV-1000 mg/kg. Preparat przygotowywano *ex tempore* rozpuszczając w oleju rzepakowym tak, aby 2,5 ml roztworu przypadło na kilogram masy ciała królika. Grupa kontrolna otrzymywała olej rzepakowy w analogicznych dniach i objętościach. Łącznie do badań użyto 24 ciężarnych królic, od których otrzymano 166 żywych płodów. W badaniach wykorzystano cypermetrynę angielskiej firmy Imperial Chemical Industries (ICI), która zawierała 72% czystego związku. Użyte do doświadczenia samice znajdowały się pod stałą obserwacją lekarsko-weterynaryjną. Zwierzęta ważono w pierwszym dniu ciąży, w dniach podawania preparatu i w dniu sekcji. Określano przyrosty masy ciała matek. Samice uśmiercano przez dyslokację rdzenia kręgowego na dwa dni przed końcem ciąży (28 d.c.).

Podczas nekropsji oceniano makroskopowo stan narządów wewnętrznych samic, a także rejestrowano masę wątroby i nerek oraz pobierano jajniki i określano liczbę ciałek żółtych. Następnie nacinano macicę w celu określenia liczby implantacji, płodów żywych i martwych, łożysk, a także resorpcji. Łożyiska ważono. Obliczano również liczby płodów opóźnionych w rozwoju, tzn. płodów, których masa była mniejsza od średniej masy płodu grupy kontrolnej pomniejszonej o dwa odchylenia standardowe ($x - 2s$). Wczesne i trudno dostrzegalne resorpcje w macicy wykrywano wg metody opisanej przez Yamado (11). Płody po wyjęciu z macicy i osuszeniu ważono oraz mierzono ich długość. Po ocenie makroskopowej płodów, wykonywano preparaty barwione czerwiecią alizarynową wg metody Dawsona (2). Tak przygotowane preparaty przeznaczano do analizy i wyceny wykształcenia 106 kości, które są możliwe do badania na tym etapie rozwoju.

Wyniki i omówienie

Wygląd i zachowanie się zwierząt otrzymujących cypermetrynę *per os* w dawkach 300, 600, 1000 mg/kg w dniach 4, 10, 13 i 18 ciąży nie różniły się istotnie od obserwowanych u samic kontrolnych. W grupach królic zatrutowanych preparatem nie stwierdzono także przypadku śmierci. Średnie przyrosty masy ciała samic w czasie ciąży we wszystkich grupach były podobne (tab. 1).

Tab. 1. Wpływ cypermetryny podawanej w 4, 10, 13 i 18 dniu ciąży na ciężarne królice ($\bar{x} \pm s$)

Obserwacje	dawka, p. o., mg/kg			
	0	300	600	1000
Ciężarne samice				
przyrosty kg	0,52±0,16	0,41±0,20	0,52±0,33	0,48±0,18
nerki g*	4,54±0,55	4,36±0,75	4,38±0,53	4,51±0,59
wątroba*	23,75±4,09	22,60±3,11	30,69±3,44**	26,23±4,12

Objaśnienia: * g/1000g masy ciała, ** różnica statystycznie istotna przy $p < 0,05$.

Tab. 2. Wpływ cypermetryny podawanej w 4, 10, 13 i 18 dniu ciąży na wybrane wskaźniki rozrodu królika

Obserwacje		dawka, p. o., mg/kg			
		0	300	600	1000
Mioty badane n. +	6	6	6	6	6
Łożyska g*, $\bar{x} \pm s$		5,46±0,70	5,22±0,35	5,46±1,00	5,73±0,99
Ciałka żółte n, $\bar{x} \pm s$		39 (6,5±2,1)	52 (8,6±2,0)	39 (6,5±1,4)	52 (8,6±2,7)
Implantacje n, $\bar{x} \pm s$		39 (6,5±2,1)	50 (8,3±2,6)	39 (6,5±1,4)	52 (8,6±1,4)
Śmiertelność przedimplantacyjna n, %		0	2 (3,8)	0	0
Śmiertelność poimplantacyjna n, %		1 (2,6)	1 (2,6)	6 (15,4)	6 (11,5)
Płody żywe n, $\bar{x} \pm s$		36 (6,3±1,7)	49 (8,2±2,2)	35 (5,8±1,7)	44 (7,3±1,9)
masa g, $\bar{x} \pm s$		37,8±6,5	34,8±4,6	36,0±5,5	36,3±2,7
długość cm, $\bar{x} \pm s$		8,4±0,4	8,5±0,4	8,3±0,6	8,4±0,3
opóźnione w rozwoju n, %		0	8 (15,3)	2 (5,1)	2 (3,8)

Toksyczne działanie cypermetryny na matki przejawiało się powiększeniem średniej masy wątroby w grupie samic otrzymujących cypermetrynę w dawce 600 i 1000 mg/kg, chociaż w tym ostatnim przypadku różnicy nie można było potwierdzić statystycznie (tab. 1). Może to być jednak, jak twierdzą niektórzy autorzy proces traktowany jako zmiana adaptacyjna wynikająca z potrzeby przystosowania się organizmu do czynnika toksycznego i w wyniku czego hipertrofia wątroby występuje jedynie sporadycznie (7, 8). Pozostałe badane wskaźniki tzn. średnia liczba ciałek żółtych, implantacji, masa nerek i łożysk nie różniły się u matek zatrutowanych i matek kontrolnych (tab. 1, 2). Śmiertelność poimplantacyjna wystąpiła we wszystkich grupach zwierząt i zwiększała się wraz ze wzrostem dawki (tab. 2). Podobne zjawisko tzn. wzrost liczby resorpcji zaobserwowano także u samic innych gatunków zwierząt (chomika i szczura), którym w czasie ciąży podawano cypermetrynę (1). W grupie matek otrzymujących preparat w dawce 1000 mg/kg stwierdzono oprócz resorpcji zarodków także dwa płody martwe (tab. 2). Badanie morfologiczne płodów nie wykazało zewnętrznych anomalii rozwojowych. Również podczas badania narządów wewnętrznych nie wykryto żadnych zmian rozwojowych. We wszystkich grupach królic otrzymujących cypermetrynę stwierdzono obecność płodów opóźnionych w rozwoju. Najwięcej (15,3%) takich płodów pochodziło od matek, które otrzymywały cypermetrynę w dawce 300 mg/kg. W dwóch pozostałych grupach wielkości te osiągnęły wartości 5,1% i 3,8% (tab. 2).

Średnia długość i masa ciała płodów grup doświadczalnych były porównywalne z analogicznymi wskaźnikami płodów grupy kontrolnej. Opóźnione kostnienie niektórych elementów szkieletu płodów jest czułym wskaźnikiem embriotoksycznego działania badanej substancji. Dane z piśmiennictwa i własne doświadczenia wskazują, iż u królików szczególne znaczenie przypisuje się ocenie rozwoju mostka i dystalnych części kończyn (4). Podczas analizy szkieletu płodów króliczych w grupie otrzymującej najwyższą dawkę cypermetryny u 34,1% stwierdzono zahamowanie kostnienia mostka oraz u 22,7% opóźnienie kostnienia paliczek w kończynie przedniej. Nieprawidłowości te znalazły potwierdzenie statystyczne (tab. 3).

Tab. 3. Wpływ cypermetryny na rozwój układu kostnego płodów królika

Obserwacje	dawka, p. o., mg/kg			
	0	300	600	1000
Liczba preparatów barwionych, n	38	49	35	44
Liczba punktów kostnienia, n, %				
- mostek < 6 punktów kostnienia	1 (2,7)	9 (18,4)	11 (31,4)	15 (34,1)*
- paliczki < 12 punktów kostnienia	0	0	0	10 (22,7)*

Objaśnienie: * różnica statystycznie istotna przy $p < 0,05$.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że aczkolwiek cypermetryna nie wywoływała zmian rozwojowych u płodów królika, to pojawienie się różnych efektów embriotoksycznych (śmiertelność poimplantacyjna) i fetotoksycznych (płody opóźnione w rozwoju, płody martwe, opóźnione kostnienie) skłaniają do wniosku, iż badany związek w odpowiednio wysokich dawkach może zakłócać prenatalny rozwój królika. Spostrzeżenie to może mieć znaczenie dla toksykologii prenatalnej cypermetryny u innych gatunków zwierząt i człowieka, jak też określone znaczenie ekotoksykologiczne dla populacji zajęcy przy masowym stosowaniu cypermetryny w ochronie roślin.

Piśmiennictwo

1. Biernacki B.: Praca doktorska. IWet. 1991.
2. Dawson A. B.: Stain Technol. 1, 123, 1926.
3. Elliott H. M., Farnham A. W., Janes N. F., Needham P. H., Person B. C.: Nature 4, 493, 1967.
4. Elliott H. M., Farnham A. W., Janes N. F., Needham P. H., Pulman D. A.: Nature 246, 169, 1973.
5. Fritz H.: Teratology 11, 313, 1975.
6. Hijzen T. H., Slagen J. L.: Toxicology Letters 40, 141, 1988.
7. Ishamuel J., Litchfield M. H.: Fundam. Appl Toxicol 11, 308, 1988.
8. Krechniak J., Wrześniowska K., Hać E., Orzechowski I.: Bromat. Chem. Toksykol. 1, 63, 1991.
9. Narahashi T.: Bull. Wild Hlth Org. 44, 337, 1971.
10. The Pesticide Manual. W: Worthing C. R. 427, 3690. British Crop Protection Council, 1983.
11. Yamada T., Ohsawa K., Ohno H.: Exp. anim. 37, 325, 1988.

Adres autora: dr Bogumił Biernacki, ul. Eustachiewicza 5/54, 24-100 Puławy

SANDEIER P., STAUBER E. H., WARDRIOP K. J., WASHIZUKA AKI: Przeżywalność krwinek czerwonych gołębia po transfuzji do wybranych biorców. (Survival of pigeon red blood cells after transfusion into selected receptors). J. Am. vet. med. Ass. 204, 427-429, 1994 (3)

U ssaków transfuzja krwi i krwiopochodnych produktów jest przeprowadzana pomiędzy osobnikami tego samego gatunku, rzadziej pomiędzy osobnikami innych gatunków (transfuzja heterologiczna). Natomiast u ptaków coraz częściej są przeprowadzane transfuzje heterologiczne. Efekty tych transfuzji, a zwłaszcza przeżywalność krwinek czerwonych nie jest dobrze znana. Określono czas przeżycia erytrocytów gołębia znakowanych ^{51}Cr po transfuzji do *Bubo virginianus*, *Buteo jamaicensis*, *Accipiter gentilis*. Średni czas przeżycia erytrocytów w organizmie badanych biorców wynosił 0,51-0,19 dni. Natomiast w przypadku transfuzji krwi do gołębi ten czas wynosił 7,1 dnia. Można domniemywać, że we krwi badanych heterogatunkowych biorców występują przeciwciała naturalne skierowane przeciwko krwinkom gołębia, które powodują w szybkim czasie zniszczenie przetoczonych erytrocytów. Niemniej jednak transfuzja obcych gatunkowych erytrocytów nie dawała żadnych klinicznych objawów ubocznego działania.