

HANNA LUTNICKA

Zmiany histopatologiczne w narządach karpia poddanego działaniu Gamakarbatoxu

Zakład Chorób Ryb Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Gamakarbatox jest pestycydem z grupy karbaminianów, powszechnie stosowanym w rolnictwie. Karbaminiany charakteryzuje wysoka toksyczność dla zwierząt zmiennocieplnych, a zwłaszcza dla wodnych bezkręgowców (4, 5). Ze względu na dużą szkodliwość dla tych zwierząt i ryb niektórzy autorzy twierdzą, że preparaty te nie powinny być stosowane w pobliżu zbiorników wodnych (cyt. 5). Toksyczność Gamakarbatoxu była określana na podstawie objawów klinicznych u karpia (1). Zmiany histopatologiczne spowodowane jego działaniem nie były dotychczas przedmiotem badań. Celem pracy było więc określenie toksyczności tego pestycydu na podstawie zmian histopatologicznych w narządach karpia.

Materiał i metody

Badaniu poddano narybek karpia o wadze 40–80 g, pochodzący z gospodarstwa rybnego Podlodów. Ryby wykazywały dobry stan zdrowia, co stwierdzono badaniem klinicznym i mikroskopowym wykonanym u 10 sztuk z każdej przywiezionej z gospodarstwa partii ryb. Okres kwarantanny i adaptacji do warunków akwaryjnych trwał 2 tygodnie. Ryby doświadczalne i kontrolne umieszczono w oddzielnych akwariach. W czasie trwania doświadczenia obserwowano zachowanie się ryb w obu grupach. Ryby karmiono płatkami owsianymi lub jęczmiennymi 2 razy w tygodniu. Akwaria zawierały wodę stojącą napowietrzaną. Celem uniknięcia zanieczyszczenia wody gromadzącymi się metabolitami ryby przenoszono co 2–3 dni do innego akwarium ze świeżo sporządzoną zawiesiną Gamakarbatoxu, o takich samych jak poprzednio właściwościach.

Akwaria doświadczalne i kontrolne zawierały wodę o temperaturze 15–17°C, pH 7,45, zawartości subst. rozp. 357 mg/dcm³, tlenu rozp. 7,10 mg/cm³, K 0,6 mg/dcm³, Fe 0,05 mg/dcm³, chlorków 16,5 mg/dcm³, BZT₅ 3,27 mg O₂/dcm³, o utlenialności ogólnej 1,88 mg O₂/dcm³, zasadowości ogólnej 5,20 mval/dcm³, twardości ogólnej 3,89 mval/dcm³, azotu azotanowego 1,74 mg N/dcm³, azotu azotynowego 0,0 mg N/dcm³, azotu amonowego 0,0 mg N/dcm³, fosforu 0,0065 mgPO₄⁻³/dcm³, siarczanów 13,29 mg SO₄⁻²/dcm³. W analizie wody kationy oznaczano na spektrofotometrze absorpcji atomowej EEL — Evans.

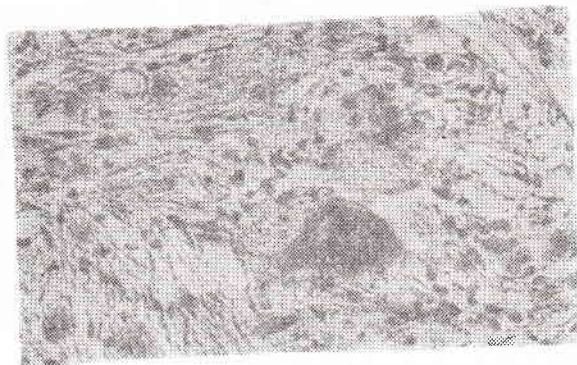
Do badań użyto Gamakarbatoxu zawiesinowego, zawierającego w swoim składzie 40% karbarylu (N-metylokarbaminianul-naftyli) i 10% lindanu (1, 2, 3, 4, 5, 6-sześciochlorocykloheksanu). Preparat ten jest przeznaczony do zwalczania stonki ziemniaczanej, słodyszka rzepakowego oraz innych szkodników w uprawach ziemniaków, lnu, konopi i rzepiku. Zaliczany do 3 klasy toksyczności jest stosunkowo mało szkodliwy dla organizmów stałocieplnych, a bardzo toksyczny dla zmiennocieplnych. Działa jako trująca kontakto- i żołądkowa. Toksyczność zależy w dużej mierze od temperatury — wzrasta powyżej 20°C (2).

Do badań użyto trzech różnych stężeń Gamakarbatoxu, a mianowicie: 0,4, 1,5 i 4,0 mg/l. Od karpia przebywających w roztworze 0,4 mg/l pobierano materiał

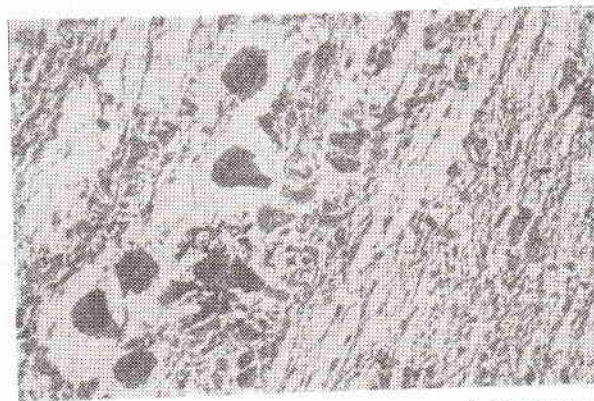
do badań histopatologicznych po 6, 12, 24, 48 godzinach oraz po 7, 14, 28, 48 dniach. Od karpia poddanych działaniu stężenia 1,5 i 4,0 mg/l materiał pobierano każdorazowo po 12 godzinach. Do badań pobierano każdorazowo od 5 ryb doświadczalnych i 5 ryb kontrolnych skrzela (drugie z prawej i lewej strony), mózgowie, nerkę (prawą i lewą) i wątrobę. Pobrane narządy utrwalano w 10% formalinie i AFA i wykonywano preparaty histologiczne grubości 8 mikronów, barwione HE.

Wyniki i omówienie

W czasie długotrwałego, trwającego 48 dni, przebywania ryb w niskim stężeniu Gamakarbatoxu obserwowano po około 7 pierwszych dniach pływanie ich blisko powierzchni wody, co świadczyłoby o zaburzeniach w oddychaniu. W wyższych stężeniach tego pestycydu, tj. 1,5 i 4,0 mg/l już w pierwszej godzinie występowały u ryb objawy nerwowe wyrażające się bardzo silnym podnieceniem, narastającym w miarę czasu, zaburzeniami równowagi, wykony-



Ryc. 1. Mózgowie karpia, kontrola (pow. 480×)



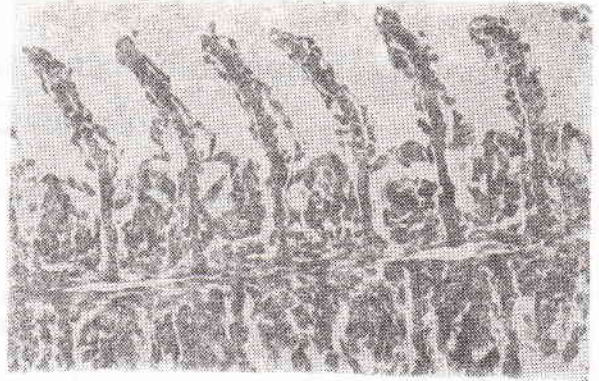
Ryc. 2. Wolne przestrzenie wokół komórek nerwowych i rozluźnienie struktury mózgowia. Gamakarbatox, stężenie 4,0 mg/l, 12 godzin, (pow. 480×)

waniem nieskoordynowanych ruchów. Po upływie dalszych 2—3 godzin podniecenie ustępowało osłabieniu i ośpieniu, które były bardziej nasilone w stężeniu 4,0 mg/l. Ryby nie reagowały na dotyk, utrzymywały się tuż pod powierzchnią wody mając rozchylone pokrywy skrzelowe. Większość z nich wykazywała zaburzenia równowagi, objawiające się pływaniem na boku, przyjmowaniem pozycji pionowej lub leżeniem na dnie akwarium. Silne objawy intoksykacji stały się przyczyną śnięcia około 80% narybku doświadczalnego w obu wyższych stężeniach pestycydu w okresie od 1—3 dni. Ryby kontrolne zachowywały się normalnie przez cały czas trwania doświadczenia.

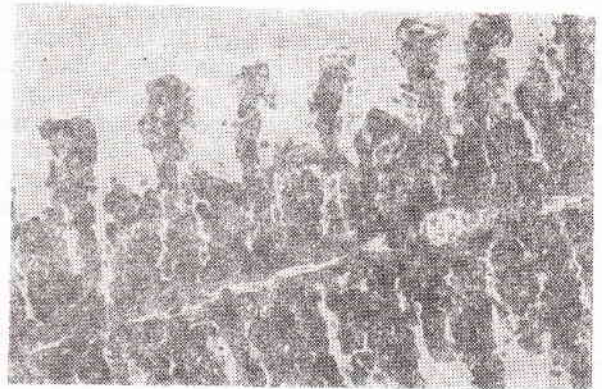
W mózgowiu ryb doświadczalnych, poza obecnością wolnych przestrzeni wokół komórek nerwowych i rozluźnieniem jego struktury (ryc. 2), nie stwierdzono innych zmian patologicznych. Były one zauważalne dopiero w stężeniach wyższych, z nasileniem ich w stężeniu 4,0 mg/l. Niskie stężenie (0,4 mg/l) nawet przy długotrwałym 48-dniowym działaniu nie wywoływało dostrzegalnych zmian.

W wątrobie ryb doświadczalnych przebywających w roztworze o stężeniu pestycydu 0,4 mg/l stwierdzono jedynie obrzęk komórek wątrobowych dostrzegalnych dopiero po około 24 dniach jego działania. Wyższe stężenie Gamakarbatoxu (1,5 i 4,0 mg/l) już w ciągu pierwszych 12 godzin wywoływały podobne, lecz bardziej nasilone zmiany, dając w efekcie obraz zwyrodnienia mięszonego narastającego w miarę zwiększania dawki pestycydu. Niezależnie od zaobserwowanych zmian wczesnej nekrobiozy wystąpiło pobudzenie układu histocytnego wątroby, wyrażające się nieznacznym rozplemem i powiększeniem komórek zatok Browicz-Kupfera. Występujące patologiczne zmiany w mózgowiu i wątrobie spowodowane działaniem Gamakarbatoxu nie były tak zaawansowane, jak opisywane w niektórych pracach (4, 6) histopatologiczne zmiany powstałe w wyniku działania innych pestycydów.

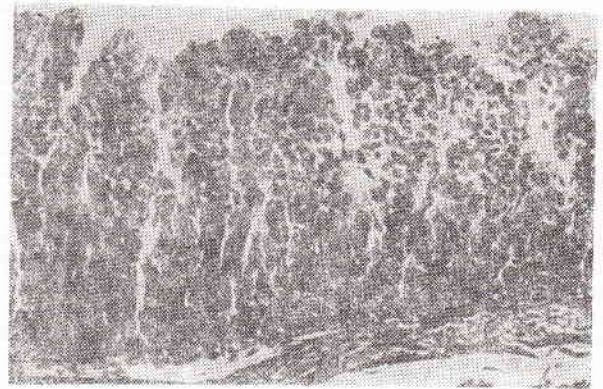
W skrzelach ryb doświadczalnych zmiany patologiczne obserwowano po około 7 dniach działania pestycydu o stężeniu 0,4 mg/l. Miały one charakter zapalno-destrukcyjny, wyrażający się znacznym rozszerzeniem naczyń włosowatych blaszek skrzelowych (ryc. 4), rozpułchnieniem, przerostem i deskwamacją śródbłonna oraz nacieczeniem leukocytarnym. Nabłonek oddechowy uległ również rozpułchnieniu i miejscami złuszczeniu, zwłaszcza na końcach blaszek. Tkanka skrzelowa leżąca między kapilarami posiadała rozluźnioną strukturę, z dużą ilością komórek kwasochłonnych. Dłuższe, przeszło 14-dniowe przebywanie ryb w tym stężeniu powodowało narastanie zmian destrukcyjnych (ryc. 5) w postaci silnego przekrwienia kapilarów, aż do ich pęknięcia włącznie. Obrzmiałe naczynia włosowate wykazywały nieco kręty przebieg. Końce blaszek skrzelowych tworzyły charaktery-



Ryc. 3. Skrzela, kontrola (pow. 480×)



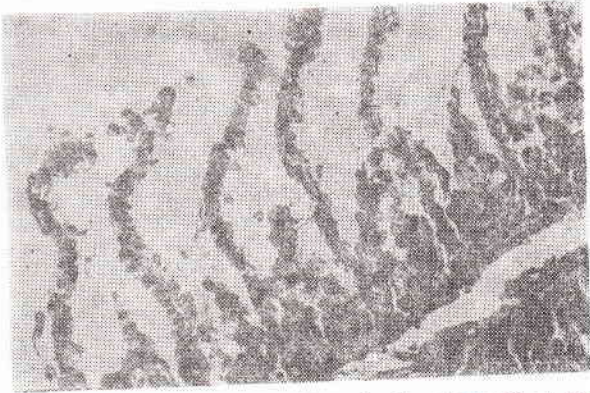
Ryc. 4. Obrzęk kapilarów blaszek skrzelowych i miejscowe zluszczenie się nabłonka oddechowego. Gamakarbatox, 0,4 mg/l, 14 dni (pow. 480×)



Ryc. 5. Pękające naczynia włosowate blaszek skrzelowych, zatarcie struktury komórek między kapilarami, liczne komórki kwasochłonne. Gamakarbatox, stężenie 0,4 mg/l, 28 dni. (pow. 480×)

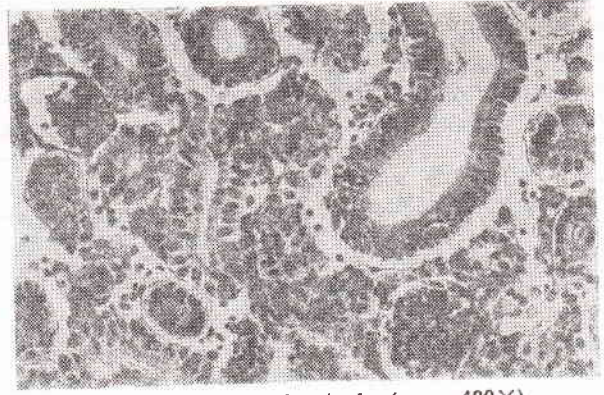
styczne obrznięcia w kształcie buławek lub przybierały wygląd kalafiorowaty. Nabłonek skrzelowy na skutek zmian w kapilarach uległ rozluźnieniu i często złuszczeniu. Komórki leżące u podstaw blaszek skrzelowych przybierały charakter rozplywny, a między nimi znajdowała się duża liczba komórek kwasochłonnych. Dłuższe, przeszło 28-dniowe przebywanie ryb w tym samym stężeniu pestycydu powodowało nasilenie występujących wcześniej

zmian destrukcyjnych. Wyrażały się one uszkodzeniem i rozpadem końców blaszek skrzelowych i wynaczynieniami krwi. Nabłonek oddechowy uległ uszkodzeniu lub odstawał od kapilarów pozostawiając je zupełnie nagie. Podobne, lecz bardziej zaawansowane zmiany obserwowano w skrzelach w wyniku działania wyższych stężeń Gamakarbatoxu. W stężeniu 1,5 mg/l kapilary były obrzmiałe, liczne z nich w rozpadzie. Nabłonek skrzelowy zluszczał się, a między kapilarami występowały liczne komórki kwasochłonne (ryc. 6). Stężenie 4,0 mg/l tego pestycydu powodowało całkowitą destrukcję całych listków skrzelowych.

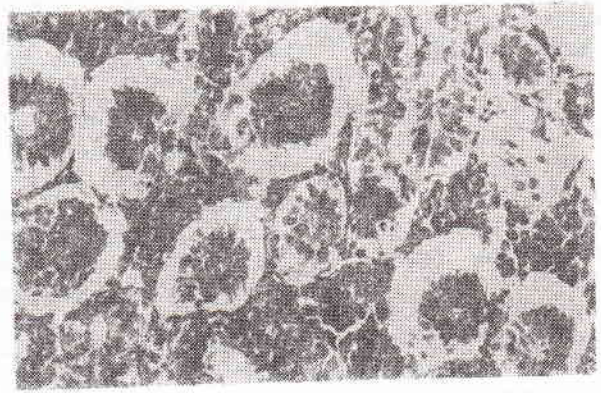


Ryc. 6. Uszkodzone końce blaszek skrzelowych, a często rozpad blaszek, zniszczony nabłonek skrzelowy i odsłonięte naczynia włosowate. Gamakarbatox, stężenie 1,5 mg/l, 12 godzin (pow. 480×)

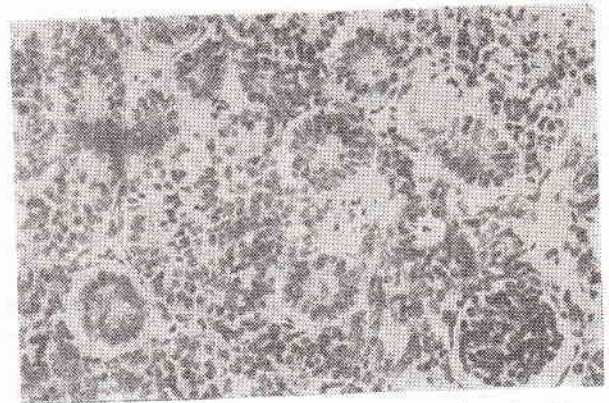
W nerkach ryb doświadczalnych stwierdzono wyraźne oznaki zapalenia i martwicy, pojawiające się w stężeniu 0,4 mg/l, po co najmniej 14 dniach działania Gamakarbatoxu. Wyrażały się one znacznym rozplemem komórek śródbłonka naczyń oraz naciekiem leukocytarnym w obrębie kłębuszków naczyniowych. Tak zapalnie zmienione kłębuszki posiadały zwykle poszerzoną przestrzeń moczową, a niejednokrotnie ich torebki ulegały przerwaniu. W świetle obrzmiałych kanalików nerkowych stwierdzono obecność granulocytów obojętnochłonnych i zluszczonych komórek nabłonka. Zmiany martwicze dotyczyły samego nabłonka kanalików i wyrażały się znacznym jego obkurczeniem i odrywaniem się od błony podstawnej. Jądra komórek nabłonka były obkurczone i wykazywały cechy znacznej hiperchromazji. Cytoplazma tych komórek charakteryzowała się wakuolizacją, upłynnieniem i postępującym zanikiem. Poza stwierdzonymi zmianami zapalno-martwicowymi w obrębie kanalików zauważano znaczny rozplem tkanki limfoidalnej nerki, która w sposób rozlany i często ogniskowy wypełniała przestrzenie okołokanalikowe. Dłuższe, co najmniej 28-dniowe przebywanie ryb w tym stężeniu Gamakarbatoxu pogłębiało opisane zmiany (ryc. 8), z nasileniem stanu martwicowego. Struktura komórkowa kanalików nerkowych ulegała zatarciu, na skutek oddzielania się ko-



Ryc. 7. Nerka, kontrola (pow. 480×)



Ryc. 8. Całkowite zatarcie struktury nefronów, wyraźne przestrzenie moczowe w kłębuszkach naczyniowych i silny rozplem tkanki limfoidalnej pomiędzy kanalikami. Gamakarbatox, stężenie 0,4 mg/l, 48 dni (pow. 480×)



Ryc. 9. Obrzęk komórek nabłonka nefronów i rozluźnienie jego struktury, częściowy rozpad kanalików nerkowych

mórek nabłonka od błony podstawnej i upłynnienia cytoplazmy tworzyła się jednolita, bezstrukturalna masa położona w centrum kanalka, którego światło ulegało zwężeniu lub całkowitej obliteracji. Degeneracyjne zmiany dotyczyły również jąder tych komórek, ich struktura ulegała zatarciu. Kłębuszki naczyniowe były obrzmiałe, z wyraźnie zaznaczonymi przestrzeniami moczowymi. Obserwowano również

bardziej nasilony niż poprzednio rozplem tkanki limfoidalnej. W przypadku wyższych stężeń pestycydu (1,5 i 4,0 mg/l) stwierdzono brak wyraźnych zmian zapalno-martwicowych. Występowały jednak (ryc. 9) oznaki zwyrodnienia mięszowego, wyrażające się znacznym obrzękiem komórek nabłonka i rozluźnieniem jego struktury. Powiększone komórki nabłonka wpuklając się do światła kanalików powodowały niekiedy całkowitą ich obliterację. Zauważalne było również słabo zaznaczone odstawanie komórek od błony podstawnej. W tych kanalikach jądra komórek były bezładnie ułożone, o zacieśniającej się strukturze. Stężenie 4,0 mg/l nasilało objawy zwyrodnienia mięszowego. Kanaliki miały charakter rozplywny, część z nich pozostawała w całkowitym rozpadzie, niektóre z upłynnioną cytoplazmą i rozpadającymi się jądrami komórkowymi. Torebki kłębuszków naczyniowych często ulegały przerwaniam. Podobnie jak w stężeniach 0,4 i 1,5 mg/l występował silny rozplem tkanki limfoidalnej.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że najbardziej zaawansowane zmiany występują w skrzelach i nerce. Stopień ich uszkodzenia przemawia za nieodwracalnością zmian w tych narządach. Skrzela są jednym z narządów, bezpośrednio narażonych na kontakt ze środowiskiem zanieczyszczonym. Stąd zrozumiałe jest, że właśnie tu pojawiają się najwcześniej zmiany patologiczne. Długotrwałe działanie niskiego stężenia Gamakarbatoxu na tkanki skrzeli jest co najmniej równie szkodliwe jak krótkie działanie stężeń wyższych. Podobnie wczesną reakcję skrzeli obserwowano w wyniku działania innych niż karbaminiany środków chemicznych, jak np. fenolu i amoniaku (4, 7, 8).

Przyczyny zmian histopatologicznych w nerce nie są w pełni wyjaśnione, tym bardziej, że karbaminiany nie ulegają kumulacji w tkankach ryb.

Wnioski

1. Kliniczne objawy toksyczności u ryb doświadczalnych spowodowane Gamakarbatoxem pojawiają się wcześniej aniżeli zmiany histopatologiczne w narządach.

2. Gamakarbatox wykazuje silnie toksyczne działanie dla narybku karpia zarówno w niskim stężeniu działającym przez dłuższy czas, jak i w wyższych stężeniach działających krótko. Potwierdza to opinię niektórych autorów, że preparat ten nie powinien być stosowany w pobliżu zbiorników wodnych.

Piśmiennictwo

1. Antychowicz J., Szymbor E., Roszkowski J.: Bull. vet. Inst. Puław 23, 124, 1979.
2. Byrdy S., Górecki K., Łaszcz E.: Pestycydy. PWRIL 1976.
3. Flis J.: Acta Hydrobiol. 10, 205, 1968.
4. Lakota S.: Badania nad ubocznym działaniem pestycydów na przykładzie Metoksychloru i Propoksuru. Praca hab., Instytut Przemysłu Organicznego w Pszczynie 1979.
5. Lukjanienko W. I.: Toksykologia ryb. PWRIL 1974.

6. Walsh A. H., Ribelin W. E.: Pathology of pesticide poisoning. University of Wisconsin Press, 1975.
7. Waluga D.: Wpływ długotrwałego oddziaływania fenolu w niskiej koncentracji na leszcza — Abramis brama (L.). Praca hab., ART Olsztyn 1974.
8. Waluga D.: Zmiany anatomiczne i histopatologiczne u leszczy pod wpływem fenolu. Praca dokt., WSR Olsztyn 1964.

Adres autora: lek. wet. Hanna Lutnicka, ul. Paganiniego 9/99, 20-850 Lublin.

Лютыньская Г. — Гистопатологические изменения в органах карпа, подвергнутого действию Gamakarbatox

Цель исследований состояла в определении токсического влияния Gamakarbatox на организм карпа на основании гистопатологических изменений в жабрах, головном мозгу, печени и почках, возникших в результате действия этого пестицида. Исследования велись на мальках карпа весом 40—80 г. Применялся Gamakarbatox в концентрации 0,4 мг/л в течение 6, 12, 24 и 48 часов, а также 7, 14, 28 и 48 дней, как и концентрации 1,5 и 4,0 мг/л, действовавшие 12 часов. Отметилось, что этот пестицид показывает сильное токсическое действие для мальков карпа как в низкой концентрации, но длительном действии, так и в высших концентрациях, действующих коротко. Наиболее интенсивные изменения появлялись в жабрах и почках. Изменения в жабрах имели воспалительно-деструктивный характер. Изменения в почках показывали черты воспаления и некроза. Изменения в головном мозгу и печени были незначительны.

Lutnicka H. — Histopathological lesions in the internal organs of the carp intoxicated with gamamacarbatox

The purpose of the studies was to determine a toxic action of gamamacarbatox on the carp on the basis of histopathological lesions in gills, central nervous system, liver and spleen. The studies were performed with car fryes at a weight 40—80 g exposed to gamamacarbatox at a concentration of 0,4 mg/ml for 6, 12, 24 and 48 h and 7, 14, 28 and 48 days, and at a concentration of 1,5 and 4,0 mg/l for 12 h. It was found that the applied pesticide was highly toxic for carp fryes both at a low and at a high concentrations after a long term exposition, and at higher concentrations after a short term exposition. The most intense lesions appeared in gills and kidneys. The lesions in gills characterized inflammation and destruction and in kidneys characterized inflammation and necrosis. Insignificant lesions were noted in the central nervous system and in the liver.

REGNIER A., TOUTAIN P. J., ALVINERIE M., PERIQUET B., RUCKEBUSCH Y.: Czynność kory nadnerczy i kształtowanie się biochemicznych parametrów plazmy u psów po podspójwkowym stosowaniu octanu metyloprednizolonu. (Adrenocortical function and plasma biochemical values in dogs after subconjunctival treatment with methylprednisolone acetate). Res. Vet. Sci. 32, 306—310, 1982 (3).

Na pięciu psach o masie 13,2—22,7 kg określono wpływ podspójwkowych iniekcji octanu metyloprednizolonu na czynność kory nadnerczy oraz poziom sodu, potasu, kreatyny, azotu mocznikowego, glukozy, białka całkowitego, cholesterolu, fosfatasy zasadowej, SGPT, SGOT w płazmie krwi. Octan metyloprednizolonu podano dwukrotnie w odstępie 21 dni, podspójnikowo w dawce 10 mg. W okresie 2—5 dni po pierwszej iniekcji obniżał się poziom kortyzolu w płazmie. Po iniekcji ACTH, 9 i 20 dnia po iniekcji octanu prednizolonu obserwowano obniżenie poziomu kortyzolu. Pozostałe badane parametry nie ulegały zmianom.

G.