

- D. M.: Proc. 11th Int. Congress Anim. Reprod. Art. Insem. 2, 141, 1988.
3. Bouters R., Moyaert J., Corijn M. Vandeplassche M.: Zucht-hygiene 18, 172, 1923.
4. Chapin D., Steiner M., Saumande J.: Proc. 11th Int. Congress Anim. Reprod. Art. Insem. 2, 147, 1988.
5. Dieleman S. J., Bevers M. M.: J. Reprod. Fert. 81, 533, 1987.

6. Dieleman S. J., Bevers M. M., Kruip Th. A. M.: Proc. 11th Int. Congress Anim. Reprod. Art. Insem. 2, 152, 1988.
7. Dieleman S. J., Bevers M. M., Wurth K. A., Kruip Th. A. M.: Proc. 11th Int. Congress Anim. Reprod. Art. Insem. 2, 157, 1988.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław Boryczko, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

EWA SITARSKA, ANNA WINNICKA, ELŻBIETA MALICKA,
WŁODZIMIERZ KLUCIŃSKI, STANISŁAW KRAUZE

Biologiczne skutki niskich stężeń lindanu w okresie okołoporodowym

Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką i Katedra Patologii Wydziału Weterynaryjnego
SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Summary

Biological effects of the low lindane concentration in the perinatal period

The degree of cumulation and biological effects of low concentrations of lindane administered to pregnant females was assessed experimentally on guinea-pigs. A high concentration of γ -HCH in the mammary gland was observed during the period of lactation. The level of this compound was statistically significantly higher in the mammary gland than that in the liver. In the group of females which had been given lindane there were noted two cases of mastitis, one case of adenocarcinoma and two cases of glandular tissue atrophy and collapse of follicles. Simultaneously a very high γ -HCH concentration was observed in the mammary glands with inflammatory changes. An intensive phagocytic activity of the peripheral blood cells in relation to *S. aureus* 305 and Smith bacteria was found in the group of females contaminated with lindane. An increased number of Heinz bodies and rings in erythrocytes were also noted; they indicated that some changes in the structure of haemoglobin and erythrocytic membranes took place. The values of haematological (morphology) and biochemical parameters (transaminase, cholesterol) in the control and experimental animals were within the species limits.

Zagadnienie pozostałości chlorowanych węglowodorów w ekosystemie, mimo formalnego zakazu stosowania DDT, jest ciągle aktualne i pozostaje w zakresie zainteresowania zarówno higienistów żywności, jak i klinicystów (4).

Pestycydem chloroorganicznym dopuszczonym do użytku jest sześciochlorocykloheksan. Najczęściej stosowaną formą jest czysty izomer γ -HCH zwany lindanem. Związek ten, o niewielkiej toksyczności ostrej, podlega jednak gromadzeniu w tkance tłuszczowej (7, 10). W piśmiennictwie ostatniego dziesięciolecia są doniesienia o klinicznych skutkach zatrucia lindanem wśród zwierząt i ludzi (5, 8, 9). Niewiele wiadomo na temat następstw wynikających z kumulacji tego związku, zwłaszcza w okresie okołoporodowym w relacji samica ciężarna — gruczoł mlekowy — mleko — noworodek.

Założeniem pracy było doświadczalne odtworzenie warunków kumulacji i wielostronne zbadanie biologicznych skutków niskich stężeń lindanu podawanego samicom w okresie okołoporodowym. Celem podjętych badań było:

- określenie stopnia kumulacji γ -HCH w gruczole mlekowym w okresie laktacji,
- porównanie stężeń γ -HCH w wątrobie i gruczole mlekowym samic w okresie laktacji,
- określenie wpływu różnych stężeń tego związku na strukturę tkankową gruczołu mlekowego, wątroby i nerek,
- określenie wpływu różnych stężeń lindanu na wybrane parametry hematologiczne i biochemiczne samic oraz ich potomstwa.

W badaniach uwzględniono: ocenę funkcji wątroby, stan białek erytrocytarnych oraz odporność komórkową.

Materiał i metody

Doświadczenia zostały przeprowadzone na świnkach morskich. Ciężarne świnki morskie pocono lindanem w roztworze olejowym w stężeniach 0,04 i 0,4 mg/ml dziennie przez okres około 16 dni przed porodem i 12 dni po porodzie. Dawki te stanowiły 0,1 i 1% LD₅₀. Zwierzęta podzielono na 3 grupy. Grupa „0” stanowiła kontrolę i otrzymywała olej w dawkach 1 ml/szt. dziennie w okresie 4 tygodni. Grupa I — otrzymywała lindan w dawce dziennej 0,04 mg/szt. Dawka całkowita w ciągu 28 dni kontaminacji wynosiła 1,1 mg lindanu/szt. Grupa II — otrzymywała w takim samym układzie doświadczalnym dawkę 10-krotnie większą, wynoszącą 11,2 mg/szt. przez 4 tygodnie. Po porodzie potomstwo pozostawało przy matkach do 12 dnia. Następnie zwierzęta usypiano i pobierano materiał do dalszych badań.

Oznaczenie bezwzględnych stężeń γ -HCH w wątrobie i gruczolach mlekowych matek oraz w wątrobie potomstwa przeprowadzono metodą przewidzianą dla analityki pestycydów w mięsie (6).

Ocenę histopatologiczną gruczołów mlekowych, wątrób i nerek wykonano wg ogólnie przyjętych metod. Skrawki utrwalano 4% zobojętnioną formaliną, następnie parafinowano i barwiono metodą przeglądową „H-E” oraz metodą PAS. Dodatkowo wykonano badania na zawartość tłuszczu — mroźne skrawki barwiono Sudanem III (2).

Oceny funkcji wątroby samic dokonano poprzez oznaczenie stężenia transaminazy alaninowej i asparaginowej we krwi obwodowej metodą Reitmana i Frankla (3) oraz cholesterolu całkowitego metodą Błaszczyszyna (1).

Stan odporności komórkowej samic określano oznaczając aktywność fagocytarną granulocytów krwi obwodowej w stosunku do *S. aureus* nie wymagającego opsonizacji szczepu 305 oraz opsonizowanego szczepu *S. aureus* Smith (szczepu *Staphylococcus aureus* pochodzący z Nationale Center-Ames USA). Preparaty barwiono odczynnikami Giemsi, określano odsetek komórek fagocytydujących i liczbę sfagocytowanych bakterii.

Dla oceny stanu białek erytrocytarnych u samic i potomstwa wykonano badania oporności osmotycznej erytrocytów, uwzględniając początkową i końcową wartość hemo-

lize oraz barwiono rozmazy krwi fioletem metylowym metodą bezpośrednią w kierunku ciałek Heinza. Wyniki obliczono w 200 komórkach wg następującej kwalifikacji: komórki bez ciałek, z jednym, z dwoma, z trzema, z czterema i więcej ciałkami Heinza, komórki zawierające pierścienie Cabota.

W badaniach hematologicznych krwi obwodowej samic i potomstwa uwzględniono: liczbę erytrocytów, leukocytów, hematokryt, stężenie hemoglobiny oraz skład odsetkowy leukocytów.

Wyniki poddano analizie statystycznej (test t-Studenta) w różnych wariantach: w grupach wg dawek użytych do kontaminacji, w grupach zależnych od stężeń γ -HCH w wątrobie oraz w grupach uszeregowanych wg stężeń γ -HCH w gruczole mlekowym. Wobec braku różnic statystycznie istotnych między grupami zwierząt kontaminowanych, wyniki otrzymane od tych zwierząt potraktowano łącznie, analizując je w odniesieniu do grupy kontrolnej.

Wyniki i omówienie

Stopień kumulacji lindanu w gruczole mlekowym w okresie laktacji. W gruczole mlekowym wszystkich samic 12 dni po porodzie stwierdzono obecność γ -HCH. Obecność tego związku stwierdzono również u samic kontrolnych.

szym materiale. Różnica średnich wartości porównywanych grup jest statystycznie istotna przy $p \leq 0,01$. Stężenie γ -HCH w gruczolach mlekowych było istotnie wyższe niż w wątrobach kontaminowanych samic ($p \leq 0,01$, tab. 1).

Stężenie lindanu w wątrobie. Stężenie γ -HCH w wątrobie samic dorosłych 12 dni po porodzie wynosiło od 0 do 0,006 mg/kg tkanki niezależnie od dawki lindanu użytego do kontaminacji w okresie 28 dni. W grupie kontrolnej u dwu samic stwierdzono obecność γ -HCH w wątrobie. Różnica stężeń γ -HCH w wątrobie samic doświadczalnych w stosunku do wartości tego związku w grupie kontrolnej była statystycznie istotna ($p \leq 0,05$).

Stężenie γ -HCH w wątrobie potomstwa (25 zwierząt) świnek morskich 12-dniowych pochodzących od samic kontaminowanych było wyższe niż u samic i wynosiło 0,0035 mg/kg. W grupie 9 zwierząt pochodzących od samic kontrolnych stężenie tego związku w wątrobie wynosiło 0,0014 mg/kg.

Wpływ lindanu na strukturę tkankową gruczolu mlekowego, wątroby i nerek. W ocenie anatomo-patologicznej nie stwierdzo-

Tab. 1. Porównanie stężeń γ -HCH w wątrobie i gruczole mlekowym samic (mg/kg tkanki)

Grupa	Gruczoł mlekowy		Wątroba		Istotność różnic
	n	$\bar{x} \pm s$	n	$\bar{x} \pm s$	
Kontrolna	5	0,00220 \pm 0,00179	5	0,00046 \pm 0,00087	$p \leq 0,05$
Badana	9	0,00544 \pm 0,00143	14	0,00220 \pm 0,00163	$p \leq 0,01$
Istotność różnic		$p \leq 0,01$		$p \leq 0,05$	

Tab. 2. Ciałka Heinza i pierścienie we krwi obwodowej dorosłych świnek morskich ($\bar{x} \pm s$)

Grupa	Liczba ciałek Heinza				Liczba pierścieni
	1	2	3	4 i więcej	
Kontrolna n = 5	16,0 \pm 11,40	6,0 \pm 4,18	2,0 \pm 2,74	1,0 \pm 2,24	21,0 \pm 38,79
Badana n = 11	30,0 \pm 26,55	17,27 \pm 22,84	2,73 \pm 2,61	5,0 \pm 8,06	32,73 \pm 37,17

Tab. 3. Ciałka Heinza i odporność osmotyczna krwi obwodowej potomstwa ($\bar{x} \pm s$)

Grupa	Ciałka Heinza + pierścienie					Odporność osmotyczna	
	1	2	3	4	P		
Kontrolna n = 9	6,88 \pm 7,04	1,88 \pm 3,72	1,88 \pm 3,72	0 \pm 0	7,14 \pm 11,50	0,26 \pm 0,09	0,42 \pm 0,07
Badana n = 22	21,30 \pm 19,02	5,65 \pm 7,28	3,26 \pm 6,50	5,65 \pm 8,57	33,86 \pm 38,08	0,20 \pm 0,06	0,40 \pm 0,05

Tab. 4. Aktywność fagocytarna granulocytów obojętnochłonnych ($\bar{x} \pm s$)

Grupa	<i>S. aureus</i> 305		<i>S. aureus</i> Smith	
	% komórek fagocytydujących	liczba bakterii	% komórek fagocytydujących	liczba bakterii
Kontrolna n = 4	20,0 \pm 5,89	106,50 \pm 27,0	33,75 \pm 8,73	180,00 \pm 36,11
Badana n = 8	40,13 \pm 23,20	380,50 \pm 365,94	52,75 \pm 18,55	541,75 \pm 368,50

Rozpiętość wyników była znaczna i wynosiła od 0,0001 do 0,1630 mg/kg. Z grupy samic, którym podawano lindan wyłączono dwa wyniki wynoszące 0,0348 i 0,1630 mg/kg, ponieważ gruczolę mlekową tych zwierząt objęte były ostrym stanem zapalnym. Zjawisko tak wysokiej kumulacji lindanu w porównaniu do pozostałych zwierząt wymaga weryfikacji na liczniej-

no widocznych zmian w wątrobie i nerkach samic 12 dni po porodzie. W grupie samic kontaminowanych stwierdzono dwa przypadki obustronnego zapalenia gruczolu mlekowego. U innej samicy tej grupy stwierdzono w prawej połowie gruczolu mlekowego guz nowotworowy o średnicy 5 cm, miękki, chlebocący, wypełniony mętnym, brunatnym płynem.

W wyniku badań mikroskopowych gruczołu mlekowego stwierdzono u wszystkich samic pęcherzyki gruczołu mlekowego wyścielone zróżnicowanym nabłonkiem od cylindrycznego do płaskiego. U większości zwierząt obserwowano ogniskową wakuolizację komórek nabłonka wydzielniczego z towarzyszącą nekrobiozą oraz naciekami komórkowymi różnego stopnia w tkance śródmiąższowej i sporadycznie pęcherzykach.

Porównując wyniki badań histopatologicznych gruczołu mlekowego samic grupy kontrolnej i grup doświadczalnych stwierdzono zróżnicowanie w zawartości lipidów w komórkach nabłonka wydzielniczego. U samic otrzymujących lindan obserwowano znaczniejsze nagromadzenie lipidów, co może świadczyć o częściowym zahamowaniu wydzielania tłuszczu. Ponadto w grupie tej stwierdzono u jednej samicy gruczolakoraka oraz u innych dwu samic zanik tkanki gruczołowej i zapadnięte pęcherzyki gruczołowe. W wyniku badań mikroskopowych wątroby i nerek stwierdzono u świń dorosłych zarówno z grupy kontrolnej, jak i doświadczalnej w mięszu i wokół naczyń krwionośnych wątroby sporadycznie obecne skupiska komórek jednojądrzastych, występowanie dwujądrowych komórek wątrobowych z silnie kwasochłonną cytoplazmą oraz ogniskową nekrobiozę hepatocytów.

Barwienie na zawartość tłuszczów i obecność substancji PAS-dodatnich nie wykazało wyraźnych różnic między zwierzętami grupy doświadczalnej i kontrolnej. U zwierząt otrzymujących lindan wydaje się liczniejsza obecność komórek wątrobowych z silnie kwasochłonną cytoplazmą. U czterech osesków pochodzących od samic otrzymujących lindan stwierdzono ogniskowe skupienia komórek jednojądrzastych, ogniskową martwicę hepatocytów oraz u jednego zwierzęcia nacieczenia tłuszczowe hepatocytów. W nerkach zarówno zwierząt kontrolnych, jak i doświadczalnych nie stwierdzono zmian.

Wpływ lindanu na wybrane parametry hematologiczne i biochemiczne. Wyniki podstawowych parametrów hematologicznych mieściły się w zakresie norm dla tego gatunku zwierząt. Nie stwierdzono różnic między porównywanymi grupami osobników dorosłych. Jedynie w obrazie morfologicznym erytrocytów zwierząt kontaminowanych u 13,3% stwierdzono anizopoikilocytozę.

Natomiast analizując parametry hematologiczne krwi obwodowej potomstwa w obrębie porównywanych grup stwierdzono różnice w średniej liczbie leukocytów wynoszącą 1,33 G/l oraz podobnie jak u dorosłych świń morskich niższą wartość stężenia hemoglobiny w grupie kontaminowanej. Anizopoikilocytozę stwierdzono u 13,6% potomstwa samic doświadczalnych.

Wpływ lindanu na funkcje wątroby, stan błon erytrocytarnych oraz odporność komórkową. Oceny wpływu kontaminacji lindanem na stan błon erytrocytarnych dokonano w oparciu o znaczenie oporności osmotycznej oraz występowanie ciałek Heinza. Uzyskane wyniki wskazują na liczniejsze występowanie ciałek Heinza i pierścieni w erytrocytach zwierząt doświadczalnych. W oporności osmotycznej erytrocytów nie stwierdzono wyraźnych zmian (tab. 2 i 3). Oceny funkcji wątroby dokonano na podstawie oznaczeń w surowicy aktywności trans-

aminazy asparaginowej i alaninowej oraz stężenia cholesterolu. Porównanie wartości omawianych parametrów grupy zwierząt kontrolnych i doświadczalnych nie wykazało różnic statystycznie istotnych.

Wpływ lindanu na odporność komórkową badano w układzie fagocytarnym granulocytów w stosunku do szczepów wymagających opsonizacji i bez opsonizacji. Wyniki zestawiono w tab. 4. W grupie samic doświadczalnych stwierdzono wyraźny wzrost zarówno liczby komórek fagocytujących, jak i liczby bakterii sfagocytowanych w stosunku do obu szczepów bakterii, co wskazuje na wtórne uruchomienie mechanizmów obronnych. Uzyskane wyniki, wykazując wysokie odchylenia standardowe, świadczą o zróżnicowanych reakcjach osobniczych.

Wnioski

1. Gruczoł mlekowy wykazuje narządową predyspozycję do gromadzenia lindanu w stopniu przewyższającym gromadzenie w wątrobie.

2. Obecność ogniskowych zmian o charakterze zapalnym, naciekowym i nekrotycznym wskazuje na udział lindanu w patologii gruczołu mlekowego.

3. Anizopoikilocytoza oraz zwiększona liczba ciałek Heinza i pierścieni Cabota w erytrocytach zwierząt traktowanych lindanem świadczy o wpływie γ -HCH na błony komórkowe.

Piśmiennictwo

1. Błaszczyszyn M.: Wiadomości lek. 23, 1413, 1970.
2. Burck H. Ch.: Technika histologiczna, PZWL, Warszawa 1975, s. 139.
3. Cornelius C. E.: Calif. Vet. 13, 72, 1960.
4. Epstein S. S., Ozonoff D.: Terafogen Carciog. Mut. 7, 527, 1987.
5. Frank R., Braun H. E.: Bull. Environ. Contam. Toxicol. 32, 533, 1984.
6. Informator Analityki Pesticydów 1/56/72, 821.
7. Januszkiewicz T., Sikorski A., Niewiadomska A., Radomski T.: Ginek. pol. 50, 317, 1979.
8. Matolepszy J., Jankowska R. i wsp.: Pneum. Pol. 53, 478, 1985.
9. Portig J., Schnorre C.: Toxicology 52, 399, 1988.
10. Rasmussen J. E.: J. Am. Acad. Dermat. 5, 507, 1981.

Adres autora: doc. dr hab. Ewa Sitarska, ul. Międzynarodowa 60 m. 14, 03-922 Warszawa

PYE D., BATES J., EDWARDS S. J., HOLLINGWORTH J.: Opracowanie szczepionki zapobiegającej zaburzeniom rozrodu spowodowanym u świń przez parwowirusy. (Development of a vaccine preventing parvovirus-induced reproductive failure in pigs). Aust. vet. J. 67, 179—184, 1990 (5)

Parwowirus prosiąt (PPV) powoduje zaburzenia w rozrodzie zwierząt nieuodpornionych. Ponieważ bardzo trudno wyeliminować wirusa z chlewni, alternatywna metoda zwalczania choroby opiera się na szczepieniach. W tym celu opracowano inaktywowaną beta propiolaktonem szczepionkę opartą o wirus namnożony na hodowli tkankowej, która jako adjuwant zawiera wodorotlenek glinu. Nieškodliwość szczepionki określono szczerpiąc maciory ciężarne. Immunogenność szczepionki przebadano na prosiątach w wieku 6—10 tyg., które szczepiono jednorazowo lub dwukrotnie w odstępie 4 tyg. Miano przeciwciał HAI po jednorazowym szczepieniu wynosiło 8—64 (średnia geometryczna 30) po szczepieniu dwukrotnym 128—512 (średnia geometryczna 256). Działanie protekcyjne przebadano na prosiątach pochodzących od maciur szczepionych dwukrotnie. U 93 prosiąt pochodzących od maciur szczepionych nie wystąpiły po challenge objawy zakażenia, podczas gdy u prosiąt od świń nie szczepionych występowały objawy zakażenia (13 sztuk), a 10 płodów uległo mumifikacji. Średnia liczba prosiąt uzyskiwana od szczepionych świń wynosiła 9,2, od nie szczepionych 1,5.