

HALINA MAZUR

WPŁYW BIS-IZOOKTYLOTIOGLIKOLANÓW DWUOKTYLOCYNOWEGO I DWUBENZYLOCYNOWEGO NA ORGANIZM SZCZURÓW PRZY PODAWANIU *PER OS*

CZ. I. BADANIE TOKSYCZNOŚCI PODOSTREJ I PRZEWLEKŁEJ

Z Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytku Państwowego Zakładu
Higieny w Warszawie

Kierownik: prof. dr M. Nikonorow

Badano toksyczność podostrą i przewlekłą związków cynoorganicznych stosowanych do stabilizacji wyrobów z polichlorku winylu.

Od kilku lat jako stabilizatory wyrobów z polichlorku winylu stosowane są związki cynoorganiczne. Są to różne połączenia czterowartościowej cyny o ogólnym wzorze R_2-Sn-K_2 , gdzie R jest rodnikiem alkilowym lub arylowym, zaś K resztą kwasową, często zestryfikowaną.

Związki te dodawane do tworzywa w ilości do 1,5% zapobiegają zarówno rozkładowi termicznemu, jak i rozkładowi pod wpływem powietrza lub światła. Ponadto umożliwiają one wytworzenie folii o dużej przezroczystości, co ma znaczenie ze względu na rosnące wymagania w stosunku do estetyki opakowań.

Pomimo prób zbadania mechanizmu stabilizującego działania związków cynoorganicznych nie został on jeszcze całkowicie poznany [1—4]. Znakowanie węglem radioaktywnym grupy alkilowej lub reszty kwasowej i obserwacja, która część stabilizatora wbudowuje się w cząsteczkę polichlorku winylu, nie dały jak dotąd zadowalających rezultatów. Aktualne poglądy wskazują, że część kwasowa stabilizatora łatwiej reaguje z polimerem, wchodząc na miejsce chloru, niż reszta alkilowa. Zaobserwowano przy tym wpływ reszt kwasowych na skuteczność stabilizatora. Wzrasta ona w następującej kolejności: laurynian, maleinian, merkaptan, tioglikolan.

Związki cynoorganiczne, podobnie jak wszystkie związki metaloorganiczne, uważane są za nieobojętne dla zdrowia. Piśmiennictwo związane z toksycznością stabilizatorów cynoorganicznych stosowanych do tworzyw sztucznych dotyczy wyłącznie związków dwualkilocynowych [5—15]. Brak jest danych o toksyczności związków dwuarylocynoorganicznych.

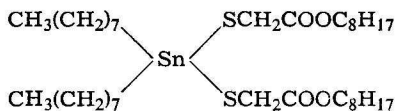
Wielokrotnie stwierdzona migracja stabilizatorów cynoorganicznych z polichlorku winylu do płynów modelowych, imitujących poszczególne środki spożywcze, a także do oleju, oliwy, płynów alkoholowych i solanki [12, 14—20] stanowiła punkt wyjściowy niniejszej pracy.

Celem jej było zbadanie wpływu bis-izooktylotioglikolanów dwuoktylocynowego i dwubenzyllocynowego na organizm szczurów przy podawaniu *per os* i porównanie stopnia toksyczności obu tych związków.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

1. Charakterystyka badanych związków

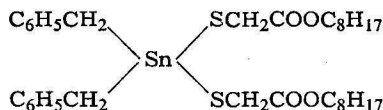
Do badań użyto: a) bis-izooktylotioglikolan dwuoktylocynowy



Związek ten występuje pod nazwą Advastab 17 MO (Deutsche Advance Produktion GmbH, Marienberg, NRF) i zawiera 75% stabilizatora dwuoktylcyanoorganicznego i 25% epoksydowanego oleju sojowego. Jest to ciecz oleista barwy żółtawej o słabym, swoistym zapachu. Ciężar właściwy przy 20° — 1,05 g/cm³. Współczynnik załamania światła przy 20° — 1,492.

LD₅₀ per os dla szczurów oznaczona przez Klimmera i Nebela [12] wynosi 2000 mg/kg.

b) bis-izooktylotioglikolan dwubenzylocynowy



Związek ten produkowany jest w kraju pod nazwą Ergoterm TGO (Zakłady Chemiczne „Boryszew” w Sochaczewie, produkcja doświadczalna). Jest to ciecz oleista, barwy żółtawej o ostrym, swoistym zapachu. Ciężar właściwy przy 20° — 1,19 g/cm³. Współczynnik załamania światła przy 20° — 1,564.

LD₅₀ per os dla szczurów oznaczona w Laboratorium Toksykologicznym Oddziału Instytutu Przemysłu Organicznego w Pszczynie — 1800 mg/kg.

W badanych związkach nie stwierdzono obecności zanieczyszczeń trójalkilocyanoorganicznych stosując metodę chromatografii cienkowarstwowej [21].

2. Zakres badań

Oba preparaty badano na szczurach szczepu Wistar hodowli własnej Zakładu, używając w badaniu 3-miesięcznym 100 szczurów obu płci o ciężarze 80—100 g. Czterem grupom doświadczalnym po 20 zwierząt (10 samców i 10 samic) w każdej podawano codziennie sondą przelkową badane substancje w dawkach 1% i 10 LD₅₀ (20 mg i 200 mg Advastabu 17 MO lub 18 mg i 180 mg Ergotermu TGO na kilogram ciężaru ciała) w postaci zawiesiny w oliwie. Grupa kontrolna otrzymywała w ten sam sposób oliwę.

Doświadczenia 7-, 12- i 18-miesięczne wykonano na 120 szczurach obu płci o ciężarze 80—100 g podzielonych na 3 grupy po 40 zwierząt (20 samców i 20 samic) w każdej. Dwie grupy otrzymywały badane związki w paszy, do której dodawane były one w ilości: Advastab 17 MO — 0,02%, czyli 200 mg/kg, Ergoterm TGO — 0,018%, czyli 180 mg/kg, przy czym spożycie paszy było ściśle kontrolowane.

Trzecia grupa zwierząt stanowiła kontrolę.

Skład paszy był następujący: drożdże — 6%, kazeina — 6%, mączka mięsno-kostna — 14,5%, mleko w proszku — 7%, owies — 28%, pszenica — 18,8%, żyto — 18,8%, tran — 1%.

Stabilizatory mieszano najpierw z tranem, po czym dodawano stopniowo pozostałe składniki paszy zmielone i uprzednio zmieszane. Całość mieszano starannie przez pół godziny. Wodę do picia zwierzęta otrzymywały bez ograniczeń.

Przedmiotem obserwacji było zachowanie się zwierząt, ogólny wygląd, spożycie paszy, ciężar ciała, śmiertelność. Określano liczbę białych i czerwonych krwi-

nek oraz poziom hemoglobiny. W badaniach 12-miesięcznych oznaczono frakcje białkowe surowicy krwi oraz poziom aktywności aminotransferaz: asparaginianowej i alaninowej.

Ponadto oznaczono aktywność tych enzymów u szczurów, które codziennie przez okres 3 miesięcy otrzymywały Advastab 17 MO w dawkach 1%, 1,5%, 2% i 5% LD₅₀ (20 mg, 30 mg, 40 mg i 100 mg/kg) lub Ergoterm TGO w dawkach 1% i 5% LD₅₀ (18 mg i 90 mg/kg). Stabilizatory podawane były sondą przelkową w postaci zawiesiny w oliwie. Grupy doświadczalne i grupa kontrolna liczyły po 20 zwierząt.

Po zakończeniu badań 3-, 7- i 12-miesięcznych zabijano przez dekapitację po 10 zwierząt z każdej grupy i wykonywano sekcję. Wątrobę, nerki i śledzionę ważono i przechowywano w 4%-owym roztworze formaliny. Z wycinków tych narządów sporządzano preparaty histologiczne, których oceny dokonano w Zakładzie Immunopatologii PZH. Wątrobę, nerki i śledzionę 9 szczurów z każdej grupy, które pozostawiono po 12 miesiącach na paszy z dodatkiem stabilizatorów jeszcze przez 6 miesięcy, badano w celu stwierdzenia ewentualnego odkładania się w nich cyny w wyniku wprowadzania związków tego pierwiastka do ustroju.

3. Stosowane metody

a) Kontrola spożycia paszy

Szczury otrzymywały odważoną ilość paszy, której spożycie kontrolowano co drugi dzień, ważąc pozostałość. Rozsyp, który kontrolowano przez pierwszy miesiąc doświadczenia, wynosił około 5%. Wartość tę przyjęto jako wartość stałą przy obliczaniu średniego spożycia paszy. 7-miesięczny okres doświadczenia podzielono na trzy podokresy, w których obliczono średnie spożycie paszy na jedno zwierzę. Roczny okres doświadczenia podzielono na pięć podokresów, w których obliczono średnie spożycie paszy.

Wyniki tych obliczeń przedstawiono w tabeli I.

b) Kontrola ciężaru ciała

Ciężar ciała zwierząt kontrolowano co tydzień, a po upływie pół roku co dwa tygodnie, każdorazowo po nocnym okresie głodzenia. Średnie przyrosty ciężaru ciała, wyrażone w liczbach bezwzględnych dla badań 3-miesięcznych przedstawiają ryc. 1 i 2, dla 7-miesięcznych ryc. 3 i 4, a dla badań rocznych ryc. 5 i 6. W tabelach II i III podano średnie ciężary ciała oraz średnie ciężary wątroby, nerek i śledziony obliczone w procentach w stosunku do ciężaru ciała.

c) Badanie ilości białych i czerwonych krwinek oraz poziomu hemoglobiny

U 10 zwierząt z każdej grupy doświadczalnej i grupy kontrolnej krwinki czerwone i białe liczono w komorze Thoma, zawartość hemoglobiny oznaczano hematrem Sahliego, po czym obliczano indeks Hb. Krew do badań pobierano z żyły ogonowej w godzinach rannych przed karmieniem zwierząt.

d) Oznaczenie aktywności aminotransferaz alaninowej (AlAT) i asparaginianowej (AspAT)

Po zakończeniu badań 3- i 12-miesięcznych od zwierząt znajdujących się pod narkozą eterową pobierano krew z tętnicy szyjnej do jałowych probówek, po czym zabijano je przez dekapitację. W odwirowanej surowicy oznaczano aktywność aminotransferaz AlAT i AspAT metodą kolorymetryczną z 2,4-dwunitrofenylohydrazyną wg *Reitmana* i *Frankela* [22]. Surowicę przed oznaczeniem rozcieńczano buforem fosforanowym w stosunku 1:2 dla oznaczenia aktywności AlAT i w stosunku 1:5 dla oznaczenia aktywności AspAT.

T a b e l a I
Średnie spożycie paszy w gramach na jednego szczura

Czas trwania doświadczenia		7 miesięcy			12 miesięcy				
Okresy doświadczenia		I	II	III	I	II	III	IV	V
Płeć		s a m i c e			s a m i c e				
Grupa	kontrola	14,4	14,1	13,7	14,1	14,7	13,0	12,7	13,5
	0,02% Advastab 17 MO	13,5	12,7	12,0	12,8	12,6	10,6	12,3	12,2
	0,018% Ergoterm TGO	13,0	13,4	12,6	12,5	12,2	11,5	12,3	12,9
Płeć		s a m c e			s a m c e				
Grupa	kontrola	18,1	17,9	17,6	17,9	17,3	17,7	17,5	18,0
	0,02% Advastab 17 MO	16,5	15,7	16,0	16,1	17,4	17,5	16,2	17,6
	0,018% Ergoterm TGO	16,6	17,8	17,7	15,8	16,8	16,5	16,3	16,9

Tabela II
Średnie wartości ciężaru ciała i procentowe wartości ciężarów narządów wewnętrznych

Nazwa związku	bis-izooktylotioglikolan dwuoktylocynowy				bis-izooktylotioglikolan dwubenzylcynowy				Kontrola			
	3 miesiące				3 miesiące				3 miesiące			
	♀		♂		♀		♂		♀		♂	
Dawka	20 mg/kg	200 mg/kg**	20 mg/kg	200 mg/kg**	18 mg/kg	180 mg/kg	18 mg/kg	180 mg/kg	0	0	0	0
ciężar ciała g	177,2 ± 99,1	—	239,4 ± 60,3	—	195,0 ± 38,0	199,3 ± 99,1	275,5 ± 79,9	280,6 ± 81,9	183,0 ± 26,0	183,0 ± 26,0	257,0 ± 100,7	257,0 ± 100,7
wątrobą %	3,41 ± 2,21	—	3,43 ± 0,80	—	3,18 ± 0,59	3,71 ± 0,19 *	3,17 ± 0,54	3,41 ± 1,77	3,21 ± 0,66	3,21 ± 0,66	2,87 ± 0,90	2,87 ± 0,90
nerki %	0,83 ± 0,12	—	0,80 ± 0,09	—	0,73 ± 0,11	0,78 ± 0,09	0,72 ± 0,07	0,73 ± 0,17	0,78 ± 0,14	0,78 ± 0,14	0,77 ± 0,20	0,77 ± 0,20
śledziona %	0,38 ± 0,18	—	0,32 ± 0,09	—	0,38 ± 0,18	0,36 ± 0,09	0,29 ± 0,00	0,31 ± 0,17	0,39 ± 0,07	0,39 ± 0,07	0,32 ± 0,07	0,32 ± 0,07

* różnica statystycznie istotna przy prawdopodobieństwie 0,05

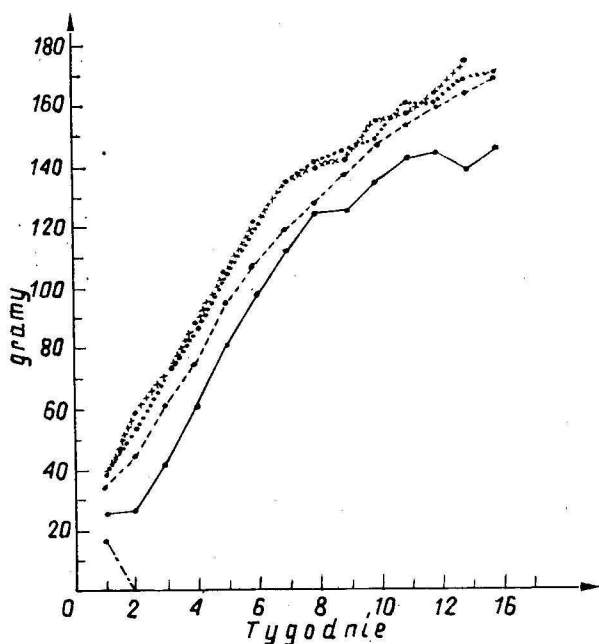
** wszystkie zwierzęta z tej grupy padły na skutek wystąpienia ostrego nieżytu przewodu pokarmowego

T a b e

Średnie wartości ciężaru ciała i procentowe

Nazwa związku	bis-izooktylotioglikolan dwuoktylocynowy				bis-izooktylotioglikolan	
Okres podawania	7 miesięcy		12 miesięcy		7 miesięcy	
Płeć	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Dawka	0,02% w paszy				0,018%	
Ciężar ciała g	214,0±54,1	304,0±71,0*	198,0±48,6*	357,0±83,1	238,0±34,8	363,0±125,1
wątroba %	3,70±0,72	3,07±0,47	3,56±1,47	3,25±1,42	3,20±1,47	3,17±0,53
nerki %	0,82±0,14	0,82±0,14	0,91±0,23*	0,78±0,20	0,73±0,14	0,79±0,20
śledziona %	0,27±0,00	0,25±0,14	0,36±0,23	0,25±0,00	0,28±0,14	0,23±0,00

Do badania pobierano 0,1 ml rozcieńczonej surowicy. Jako substrat dla aminotransferazy alaninowej stosowano DL-alaninę i kwas α -ketoglutaryny, zaś dla aminotransferazy asparaginianowej kwas DL-asparaginowy i kwas α -ketoglutaryny w buforze fosforanowym.



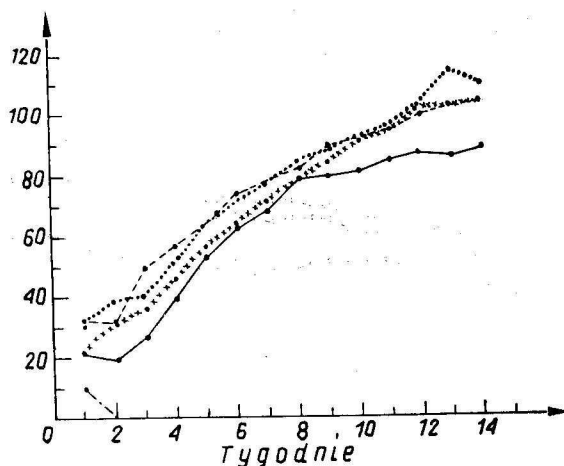
Ryc. 1. Średnie przyrosty ciężaru ciała samców w okresie badania 3 miesięcznego.
 — kontrola. — — — Advastab 17 MO 20 mg/kg c. ciała.
 Advastab 17 MO 200 mg/kg c. ciała * * * * * Ergoterm
 - - - - - TGO 18 mg/kg c. ciała. Ergoterm TGO 180 mg/kg c. ciała.

Ia III

wartości ciężarów narządów wewnętrznych

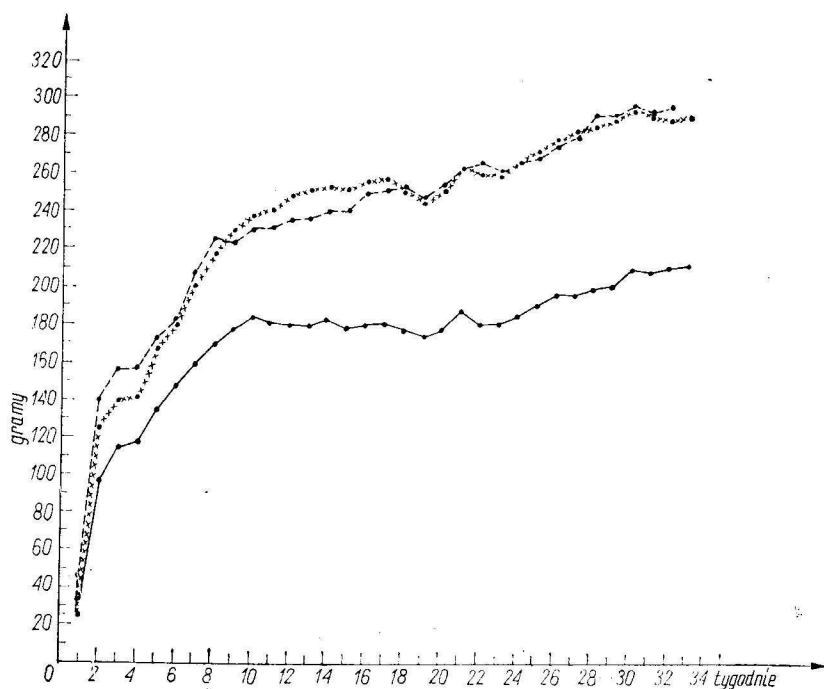
dwubenzylcynowy		Kontrola			
12 miesięcy		7 miesięcy		12 miesięcy	
♀	♂	♀	♂	♀	♂
w paszy		0			
224,0 ± 51,4	325,0 ± 100,0	243,0 ± 61,7	372,0 ± 44,5	236,0 ± 72,3	322,0 ± 116,3
2,93 ± 0,78	2,99 ± 1,67	3,41 ± 1,58	3,45 ± 1,14	3,09 ± 0,64	3,11 ± 1,11
0,76 ± 0,00	0,80 ± 0,23	0,77 ± 0,19	0,74 ± 0,19	0,74 ± 0,00	0,83 ± 0,19
0,38 ± 0,20	0,27 ± 0,00	0,46 ± 0,47	0,21 ± 0,19	0,32 ± 0,28	0,29 ± 0,30

* różnica statystycznie istotna przy prawdopodobieństwie 0,05

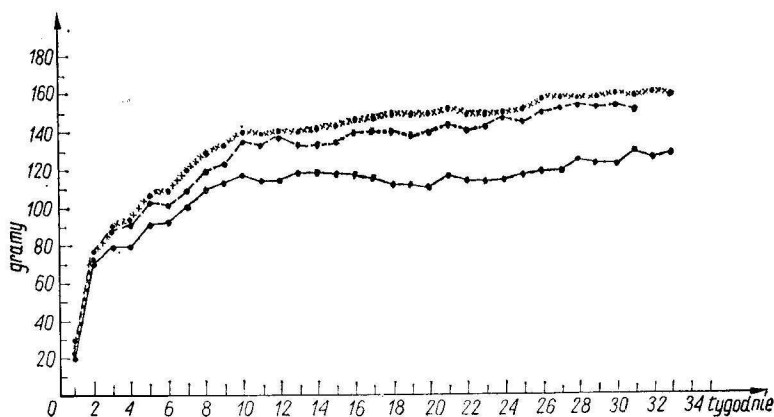


Ryc. 2. Średnie przyrosty ciężaru ciała samic w okresie badania 3 miesięcznego.
 — . — . — . — kontrola. — . — . — . — Advastab 17 MO 20 mg/kg c. ciała.
 - - - - - Advastab 17 MO 200 mg/kg c. ciała. * * * * * Ergoterm
 TGO 18 mg/kg c. ciała. Ergoterm TGO 180 mg/kg c. ciała.

Krzywą wzorcową sporządzano z roztworu kwasu pirogronowego, zawierającego 2 μ M kwasu w 1 ml. Czas inkubacji wynosił odpowiednio 30 min. i 60 min. w temp. 37°. Pomiaru intensywności zabarwienia dokonywano w spektrofotometrze Colemana przy długości fal 505 m μ , wobec próby kontrolnej sporządzanej bez inkubacji.



Ryc. 3. Średnie przyrosty ciężaru ciała samców w okresie badania 7 miesięcznego
 — . — . — . — kontrola. — . — . — . — Advastab 17 MO. ** ** * * * *
 Ergoterm TGO



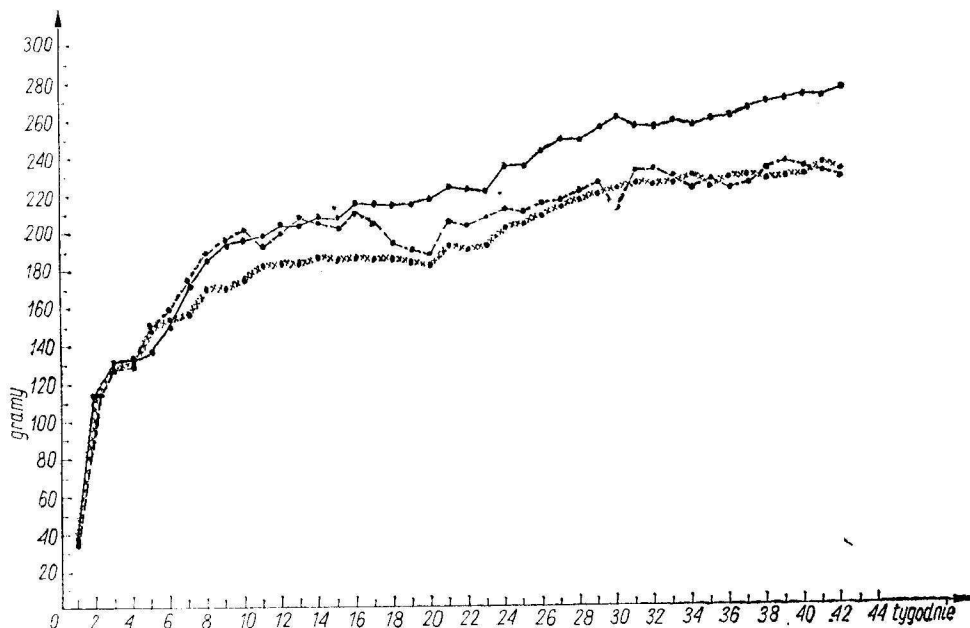
Ryc. 4. Średnie przyrosty ciężaru ciała samic w okresie badania 7 miesięcznego.
 — . — . — . — kontrola. — . — . — . — Advastab 17 MO. ** ** * * * *
 Ergoterm TGO

Tabela IV ilustruje otrzymane wyniki.

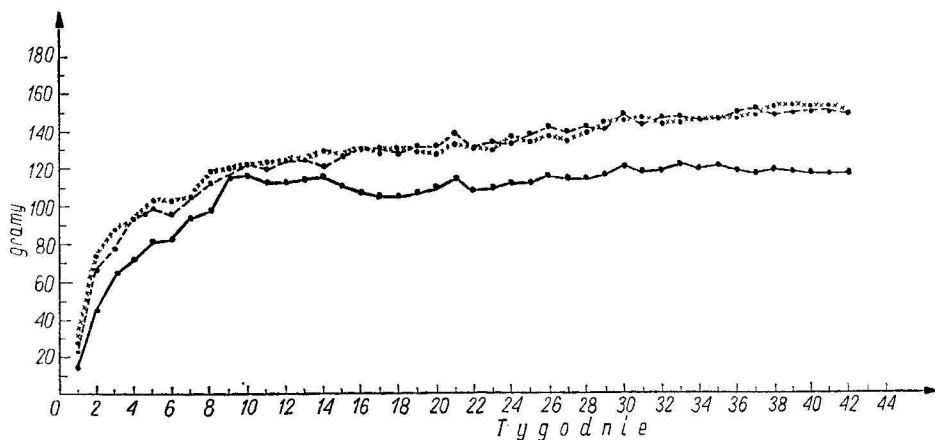
e) Oznaczanie frakcji białkowych surowicy krwi

Badanie to wykonano po 12-miesięcznym podawaniu stabilizatorów cynoorganicznych w paszy. Surowicę otrzymywano w sposób podany w punkcie d). Rozdział frakcji białkowych surowicy krwi wykonano metodą elektroforezy bibułowej w środowisku buforu weronałnego. Elektroforogramy rozwijano w czasie 20

godzin przy napięciu prądu równym 90 V i natężeniu wynoszącym 8 mA, wywoływano w etanolowym roztworze chlorku rtęci i błękitu bromofenolowego, płukano zaś w 1%-owym kwasie octowym. Do badań stosowano bibułę Whatman Nr 1. Densytometrem wykreślano krzywą ekstynkcji i obliczano zawartość poszczególnych frakcji białkowych w surowicy. Zawartość białka całkowitego obliczano na podstawie oznaczenia współczynnika refrakcji [23]. Wyniki badań przedstawia tabela V.



Ryc. 5. Średnie przyrosty ciężaru ciała samców w okresie badania 12 miesięcznego.
 - - - - - kontrola. — Advastab 17 MO. ** ** ** **
 Ergoterm TGO



Ryc. 6. Średnie przyrosty ciężaru ciała samic w okresie badania 12 miesięcznego.
 - - - - - kontrola. — Advastab 17 MO. ** ** ** **
 Ergoterm TGO

T a b e l a IV
Średnie wartości aktywności aminotransferaz AspAT i AlAT w surowicy krwi

Nazwa związku	bis-izooktylotioglikolan dwuoktylocynowy				bis-izooktylotioglikolan dwubenzylcynowy		Kontrola
	3 miesiące				3 miesiące		
O okres podawania							3 miesiące
Dawka	20 mg/kg	30 mg/kg	40 mg/kg	100 mg/kg**	18 mg/kg	90 mg/kg	0
AspAT	77,8±45,83	80,6±59,95	143,0±76,24*	—	63,1±37,53	100,9±45,17*	68,6±35,29
AlAT	22,7±18,91	42,0±18,79*	41,0±33,09*	—	28,3±10,45	40,9±25,95*	25,4±19,00
O okres podawania	12 miesięcy				12 miesięcy		12 miesięcy
Zawartość preparatu w paszy	0,02%				0,018%		0
AspAT	88,0±54,70				80,4±48,2		76,6±53,9
AlAT	39,4±18,16				37,7±27,7		38,7±34,56

* różnica statystycznie istotna przy prawdopodobieństwie 0,05
 ** wszystkie zwierzęta z tej grupy padły na skutek wystąpienia ostrego nieżytu przewodu pokarmowego

T a b e l a V
Średnie wartości frakcji białkowych surowicy krwi

Nazwa związku	bis-izooktylotioglikolan dwooktylocynowy	bis-izooktylotioglikolan dwubenzylcynowy	Kontrola
Okres podawania	12 miesięcy	12 miesięcy	12 miesięcy
Dawka	0,02% w paszy	0,018% w paszy	0
Białko całkowite	5,89 ± 0,71	5,74 ± 0,88	6,13 ± 0,66
Albuminy %	32,00 ± 4,78*	42,44 ± 11,97	39,62 ± 14,19
α ₁ globuliny %	16,12 ± 7,47	18,19 ± 7,52	17,81 ± 8,47
α ₂ globuliny %	7,94 ± 4,61*	5,62 ± 4,04	5,06 ± 2,48
β globuliny %	25,00 ± 4,94	23,06 ± 7,78	24,62 ± 7,78
γ globuliny %	18,69 ± 9,65*	10,69 ± 8,09	12,87 ± 3,88
Albuminy/globuliny	0,47*	0,75 ± 1,21	0,67 ± 0,33

* różnica statystycznie istotna przy prawdopodobieństwie 0,05

f) Oznaczanie cyny w narządach wewnętrznych

Po 18 miesiącach podawania zwierzętom doświadczalnym paszy z dodatkiem stabilizatorów cynoorganicznych, zabito po 9 zwierząt z obu grup doświadczalnych i z grupy kontrolnej. Wątrobę, nerki i śledzionę ważono i mineralizowano, stosując mieszaninę kwasu siarkowego i azotowego [24].

Uprzednio dla sprawdzenia, czy cyna nie ulatnia się w warunkach mineralizacji, wykonano równolegle próby spalania znanych ilości cyny w kolbach trój-szyjnych z zabezpieczającą chłodnicą zwrotną oraz w kolbach Kjeldahla. Nie stwierdzono różnic w odzyskiwalności cyny, wobec czego zastosowano mineralizację narządów zwierząt w kolbach Kjeldahla jako sposób prostszy.

Wątroby spalano w całości jako oddzielne próby, nerki trzech zwierząt z danej grupy łączono w jedną próbę, tak samo postępowano ze śledzionami. W zmineralizowanych próbach oznaczano zawartość cyny metodą ditiolową [25]. Próbę przenoszono do kolby poj. 50 ml i do oznaczenia pobierano 5 ml. W żadnej ze zmineralizowanych prób nie stwierdzono obecności cyny.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Obserwacja zwierząt w doświadczeniu 3-miesięcznym wykazała już w ciągu pierwszych dni objawy zatrucia u zwierząt, które otrzymywały stabilizator dwuoktylocynoorganiczny Advastab 17 MO w dziennej dawce równej 200 mg/kg ciężaru ciała. Szczury były apatyczne, osowiałe, spożywały mniejszą ilość paszy, a nawet następowała całkowita utrata apetytu. Sierść zwierząt była zjeżona, chód chwiejny, niepewny, „kaczkowaty”, tylne kończyny podkurczone. Obserwowano biegunki.

Wszystkie zwierzęta w tej grupie szybko traciły na wadze i padały w okresie od 9 do 17 dnia od chwili rozpoczęcia doświadczenia. Wykonywana każdorazowo sekcja wykazywała ostry nieżył przewodu pokarmowego, wyrażający się obrzękiem jelit i przekrwieniem krezki.

Ściany żołądka i niektóre odcinki jelit pozbawione były śluzówki. Wątroba była przekrwiona, barwy ciemno-brunatnoczerwonej, obserwowano nieznaczny obrzęk płatów. Stwierdzone makroskopowe zmiany miały charakter zmian ostrych, toteż nie badano mikroskopowo wycinków narządów wewnętrznych zwierząt z tej grupy. Obserwacja pozostałych grup zwierząt nie wykazała różnic w wyglądzie, zachowaniu się i spożyciu paszy w porównaniu z grupą kontrolną.

Z grupy otrzymującej dawkę 20 mg/kg Advastabu 17 MO w czasie doświadczenia oraz z grupy, która otrzymywała dawkę 180 mg/kg Ergotermu TGO padły po 3 zwierzęta. Sekcja ich nie wykazała zmian makroskopowych. Wszystkie zwierzęta otrzymujące Ergoterm TGO w dawce 18 mg/kg oraz zwierzęta z grupy kontrolnej przeżyły doświadczenie.

W doświadczeniu długotrwałym, w którym zwierzęta otrzymywały stabilizatory cynoorganiczne z paszą, nie stwierdzono różnic w wyglądzie i zachowaniu się grup doświadczalnych w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej.

Z tabeli I widoczne jest, że zwierzęta doświadczalne przyjmowały mniej pożywienia od zwierząt kontrolnych. Można to tłumaczyć charakterystycznym zapachem badanych związków, które choć dodawane były w ilościach 0,02% i 0,018%, mogły niekorzystnie wpłynąć na cechy organoleptyczne paszy.

Śmiertelność w stosunku do liczby zwierząt w chwili rozpoczęcia doświadczenia wynosiła: 4 szczury w grupie kontrolnej oraz po 8 szczurów w obu grupach doświadczalnych.

Wpływ bis-izoktylotioglikolanów dwuoktylocynowego i dwubenzyllocynowego na obraz poszczególnych obserwowanych parametrów ukształtował się następująco:

Advastab 17 MO podawany zwierzętom w dawce 20 mg/kg przez okres 3 miesięcy nie spowodował uchwytłych zmian poza statystycznie istotnym wzrostem średniego ciężaru wątroby samców z tej grupy (tabela II). Zwraca uwagę, że dawka ta nie wywołała wzrostu aktywności aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej w surowicy krwi, natomiast dawki 30 mg/kg i 40 mg/kg ciężaru ciała spowodowały zwiększenie się poziomu aktywności tych enzymów (tabela IV).

Uwzględniając, że badanie histologiczne preparatów, wykonanych z wątroby zwierząt doświadczalnych nie wykazało zmian patologicznych, można przypuszczać, że wzrost aktywności aminotransferaz nie był spowodowany uszkodzeniem wątroby, a stanowił tylko objaw nasilenia procesów metabolicznych w komórkach tego narządu [26—28]. Podobnie można tłumaczyć znaną statystycznie istotną różnicę w średnim ciężarze wątroby samców.

Dziennie dawki Advastabu 17 MO równe 100 mg/kg i 200 mg/kg spowodowały śmierć wszystkich zwierząt doświadczalnych na skutek ostrego nieżytu przewodu pokarmowego i biegunki.

Quess i wsp. [13] podając domięśniowo królikom stabilizatory cynoorganiczne w jednorazowej dawce równej 60 mg, stwierdzają również występowanie biegunek, a także opisali objawy stopniowego porażenia tylnych kończyn. Prawdopodobne jest, że zaobserwowane w niniejszej pracy trudności w poruszaniu się, występujące u szczurów, które otrzymywały dzienną dawkę Advastabu 17 MO równą 200 mg/kg (chód chwiejny, „kaczkowaty”) są wynikiem porażenia opisywanych przez Quessa.

Wydaje się bardzo niekorzystne, że dzienna dawka toksyczna Advastabu 17 MO (100 mg/kg) jest tylko pięciokrotnie wyższa od dawki nie powodującej objawów chorobowych (20 mg/kg).

Przy skarmianiu zwierząt doświadczalnych paszą z dodatkiem 0,02% Advastabu 17 MO przez okres 7 miesięcy i roku wystąpiły statystycznie istotne różnice w średnim ciężarze ciała, przy czym u samic spożywających ten związek z dietą przez 1 rok zaobserwowano równocześnie statystycznie istotne powiększenie ciężaru nerek (tabela III).

Badanie elektroforetyczne frakcji białkowych surowicy krwi wykazało obniżenie zawartości albumin, podwyższenie zaś α_2 i γ -globulin (tabela V). Zmiany te, które okazały się w porównaniu z kontrolą statystycznie istotne, mogłyby świadczyć o istnieniu w ustroju zwierzęcia doświadczalnego procesu, powodującego wzrost frakcji globulinowych kosztem albumin [29—31]. Wzrost frakcji α_2 -globulin wiąże się na ogół z występowaniem zmian w wątrobie, co nie zostało potwierdzone wynikami badań histologicznych, które nie wykazały w badanych narządach zmian chorobowych.

Piśmiennictwo podaje, że ta frakcja proteinogramu jest dość chwiejna i że nawet drobne ognisko zakażenia może spowodować jej wzrost.

Wzrost frakcji γ -globulin, która zawiera większość ciał odpornościowych należałoby traktować jako zjawisko korzystne dla organizmu zwierzęcia doświadczalnego, jednakże wiadomo, że z frakcją tą wędrują paraproteiny, w związku z czym jej zwiększenie się nie zawsze świadczy o wzroście odporności [32].

W dostępnym piśmiennictwie fachowym nie znaleziono, jak dotychczas, danych dotyczących badania toksyczności bis-izooktylotioglikolanu dwubenzylocynowego — Ergotermu TGO. Jedynie Smith [33] wspomina o małej toksyczności związków dwubenzylocynoorganicznych, powołując się na wyniki badań *f-m-y* Deutsche Advance Produktion — prawdopodobnie nie publikowane (brak odpowiedniego odnośnika w piśmiennictwie podanym przez tego autora).

W trzymiesięcznych badaniach własnych stwierdzono, że Ergoterm TGO podawany wiennej dawce 18 mg/kg ciężaru ciała, nie spowodował u zwierząt doświadczalnych uchwytne zmiany chorobowe. Przy dawce 90 mg/kg stwierdzono wzrost aktywności aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej w surowicy krwi (tabela III), a przy dawce 180 mg/kg wzrost średniego ciężaru wątroby samic z tej grupy (tabela II). Z uwagi na wykazany w badaniach histologicznych brak zmian patologicznych wątroby można przypuszczać, że wzrost aktywności aminotransferaz nie był wywołany uszkodzeniem komórek tego narządu.

Badanie toksyczności przewlekłej Ergotermu TGO podawanego zwierzętom doświadczalnym w diecie w ilości 0,018% przez okres 7 miesięcy i jednego roku nie wykazało istnienia jakichkolwiek uchwytne zmiany. Znalazło to wyraz w braku statystycznie istotnych różnic między ocenianymi wskaźnikami u zwierząt z grupy doświadczalnej i z grupy kontrolnej.

Zmniejszenia spożycia paszy zaobserwowanego zarówno w grupie zwierząt otrzymujących dietę z dodatkiem Advastabu 17 MO, jak i Ergotermu TGO — nie można, wydaje się, uważać za przyczynę obniżenia ciężaru ciała, ponieważ obniżenie to stwierdzono wyłącznie w grupie otrzymującej Advastab 17 MO.

Po 18 miesiącach podawania zwierzętom doświadczalnym paszy zawierającej dodatek 0,02% Advastabu 17 MO lub 0,018% Ergotermu TGO nie stwierdzono odkładania się cyny w wątrobie, nerkach i śledzionie. Klimmer i Nebel [12] uzyskali podobne wyniki po 4-miesięcznym podawaniu szczurom stabilizatorów cynoorganicznych.

Na podstawie ilości spożytej paszy obliczono, że w czasie trwania doświadczenia samce spożyły średnio 1800 mg badanego związku, a samice średnio 1300 mg. Uznano, że w wypadku kumulowania się cyny w w/w narządach zastosowana metoda ditiolowa, której wykrywalność wynosi 5 µg cyny w 5 ml zmineralizowanej próby, umożliwiłaby oznaczenie zawartości tego pierwiastka.

WNIOSKI

1. Badanie toksyczności bis-izooktylotioglikolanu dwuoktylocynowego — Advastabu 17 MO wykazało, że związek ten podawany szczurom w zależności od dawki (20, 30 i 40 mg/kg ciężaru ciała lub 0,02% w paszy) powoduje obniżenie średniego ciężaru ciała, zwiększenie średniego ciężaru wątroby i nerek, wzrost aktywności aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej oraz wpływa na obraz frakcji białkowych surowicy krwi (obniżenie frakcji albumin, zwiększenie frakcji α_2 - i γ -globulin).

Dawki 100 mg/kg i 200 mg/kg ciężaru ciała powodują w ciągu kilkunastu dni śmierć wszystkich zwierząt doświadczalnych na skutek wystąpienia ostrego nieżytu przewodu pokarmowego.

2. Badanie toksyczności bis-izooktylotioglikolanu dwubenzylcynowego — Ergotermu TGO wykazało, że związek ten podawany szczurom w dawce 18 mg/kg lub jako dodatek do paszy w ilości 0,018% nie wywołuje uchwytnych zmian chorobowych. Dawka 90 mg/kg ciężaru ciała powoduje wzrost aktywności aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej w surowicy krwi, zaś dawka 180 mg/kg zwiększenie średniego ciężaru wątroby.

Pozostałe oceniane wskaźniki nie różniły się od wskaźników grupy kontrolnej.

3. Nie stwierdzono odkładania się cyny w wątrobie, nerkach i śledzionie zwierząt, które przez okres 18 miesięcy otrzymywały paszę zawierającą dodatek 0,02% związku dwuoktylocynoorganicznego lub 0,018% związku dwubenzylcynoorganicznego.

4. Otrzymane wyniki sugerują mniejszą toksyczność badanego po raz pierwszy w tym kierunku bis-izooktylotioglikolanu dwubenzylcynowego — stabilizatora produkcji krajowej — w porównaniu z bis-izooktylotioglikolanem dwuoktylocynowym — stabilizatorem importowanym.

Panu doc. dr *Adamowi Nowostawskiemu* za ocenę preparatów histologicznych autorka składa serdeczne podziękowanie.

X. Мазур

ВЛИЯНИЕ БИС-ИЗООКТИЛТИОГЛИКОЛЯНОВ ДИОКТИЛОЛОВЯННОГО И ДИБЕНЗИЛОЛОВЯННОГО НА ОРГАНИЗМ КРЫС ПРИ ПОДАВАНИИ PER OS

Содержание

Исследовано токсичность бис-изооктилтиогликолянов диоктилоловянного (Ad-vastab 17 MO) и дибензилоловянного (Ergoterm TGO) на экспериментальных животных, которыми были белые крысы породы Вистар.

Препараты подавали животным в периоде 90 дней ежедневно желудочным зондом в дозах: 1,0; 1,5; 2,0 5,0 и 10,0% LD₅₀ в виде взвеси в оливковом масле а также в периоде 7, 12 и 18 месяцев в корме, к которому добавляли эти препараты в количестве 0,02 и 0,018%.

Результаты исследований показали большую токсичность диоктилоловянного бис-изооктилтиогликоляна, который вызывал, в зависимости от дозы и времени подавания статистически существенные занижение веса тела, увеличение среднего веса печени и почек, увеличение активности аспарагиниановой и аланиновой аминотрансферазы а также влиял на картину белковых фракций сыворотки крови (занижение альбуминовой фракции, повышение фракции α₂ и γ-глобулинов) Дозы 5% и 10% LD₅₀ вызвали в продолжении около 10-ти дней смерть всех подопытных животных вследствие острого катара пищевого тракта.

Исследование дибензилоловянного бис-изооктилтиогликоляна показало при дозе 5% LD₅₀ статистически существенное повышение активности аланиновой и аспарагиниановой аминотрансфераз при дозе 10% LD₅₀ увеличение среднего веса печени. Остальные оцениваемые показатели не отличались от показателей контрольной группы.

H. Mazur

THE INFLUENCE OF PERORAL ADMINISTRATION OF DIOCTYLtin
BIS-ISOOCTYLthioglycolate AND DIBENZYLtin
BIS-ISOOCTYLthioglycolate ON RAT ORGANISM

Summary

The toxicity of dioctyltin bis-isooctylthioglycolate (Advastab 17 MO) and dibenzyltin bis-isooctylthioglycolate (Ergoterm TGO) was tested on white rats of the Wistar strain. The substance were administered by a stomach tube everyday for the period of 90 days in the doses of 1.0%; 1.5%; 2.0%; 5.0% and 10.0% of LD₅₀ as suspensions in oil and for the period of 7, 12, and 18 months as fodder admixture in the amounts of 0.02% and 0.018%.

The results indicate that dioctyltin bis-isooctylthioglycolate is more toxic as it effected, depending on the dose and the period of administration, a more significant decrease in the body weight, increase in the mean weight of liver, increase in the activity of glutamic-oxalacetic and glutamic-pyruvic transaminases and influenced the serum protein picture (decrease in the albumine fraction and increase in the α_2 and γ globuline fractions). The doses of 5% and 10% of LD₅₀ resulted in the death of all experimental animals in the period of ten to twenty days caused by catarrh of the gastro-intestinal tract.

The results obtained with dibenzyltin bis-isooctylthioglycolate showed that the dose of 5% of LD₅₀ effected a statistically significant increase in the activity of glutamic-oxalacetic and glutamic-pyruvic transaminases while the dose of 10% of LD₅₀ caused an increase in the mean weight of the liver. All other indices were similar to those of the control group.

PIŚMIENNICTWO

1. Wajnryb M.: *Przemysł Chemiczny*, 1963, 42, 16. — 2. Troickaja T. S., Troickij B. B.: *Plast. Massy*, 1968, 9, 12. — 3. Minskier K. S. i in.: *Wyskomol. Sojed.*, 1968, 10, 1336. — 4. Tin Stabilization of PVC — The „inside” story — *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 1965, 3, 851. — 5. Thinius K.: *Plaste Kautsch.*, 1964, 11, 324. — 6. Klimmer O. R.: *Angew. Chemie*, 1958, 70, 135. — 7. Aldridge W. N., Cremer J. E.: *Biochem. J.* 1955, 61, 406. — 8. Klimmer O. R.: *Angew. Chemie*, 1964, 76, 305. — 9. Barnes J. M., Stoner H. B.: *Br. J. Ind. Med.*, 1958, 15, 15. — 10. Stoner H. B., Barnes J. M., Duff J. F.: *Br. J. Pharmac.*, 1955, 10, 16.
11. Tauberger G., Klimmer O. R.: *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmak.*, 1961, 242, 370. — 12. Klimmer O. R., Nebel J. U.: *Arzneimittel Forsch.*, 1960, 10, 44. — 13. Quess W. L. i in.: 22 nd Annual Technical Conference Sponsored by the Quebec Section, Society of Plastics Engineers, Montreal, Quebec, Canada, March 7—10 1966, *Technical Papers Vol. XII*. — 14. Houška M., Majlath L.: *Ernährungsforsch.*, 1966, 11, 424. — 15. Woggon H., Uhde W. J.: *Plaste Kautsch.*, 1969, 16, 88. — 16. Romminger K., Hoppe H.: *Ernährungsforsch.*, 1966, 11, 487. — 17. Philips J., Marks G. S.: *Br. Plast.*, 1961, 34, 319. — 18. Houška M.: *Z. Lebensmittelunters. u. — Forsch.*, 1961, 114, 373. — 19. Franzen V., Neubert G.: *Chemiker Ztg.*, 1965, 89, 801. — 20. Mazur H.: *Roczn. PZH*, 1965, 16, 275.
21. Türler M., Högl O.: *Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg.*, 1961, 52, 123. — 22. Reitman S., Frankel S.: *Am. J. Clin. Path.*, 1957, 28, 56. — 23. Homolka J.: *Diagnostyka biochemiczna*, Warszawa 1958. — 24. PN-59/A-04014. Polska Norma — *Artykuły żywności. Oznaczenie zawartości cyny*. — 25. Bernstein I., Gilew-

ska Cz.: Rocz. PZH, 1955, 6, 243. — 26. *Hanke J.*: Medycyna Pr., 1963, 14, 223. — 27. *Hanke J.*: ibid., 1968, 19, 187. — 28. *Hanke J.*: ibid., 1969, 20, 18. — 29. *Kośmider S., Zajączkowski S.*: ibid., 1963, 14, 373. — 30. *Sroczyński J., Kujawska A., Piekarski B.*: ibid., 1964, 15, 77.

31. *Kariozen Z.*: ibid., 1965, 16, 291. — 32. *Janecki J., Rekowski K.*: Wiad. Lek., 1962, 15, 277. — 33. *Smith H. V.*: Br. Plast. 1964, 37, 445.

Dn. 17.X.1970 r.

Warszawa, ul. Chocimska 24