

TADEUSZ SYROWATKA, DANUTA PALUT

PROBLEMY ZWIĄZANE Z BADANIEM PESTYCYDÓW NA DZIAŁANIE  
MUTAGENNE/KARCINOGENNEZ Zakładu Toksykologii Sanitarnej Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie  
Kierownik: prof. dr hab. T. Syrowatka*Na tle biologicznych hipotez karcinogenezy omówiono przydatność testów skringowych na działanie mutagenne pestycydów.*

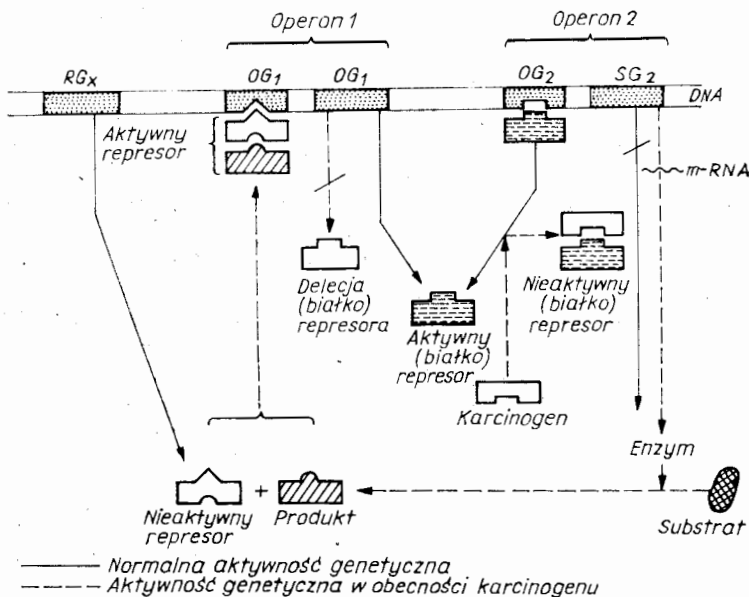
Badania ostatnich lat wykazały, że szereg związków chemicznych produkowanych na skalę przemysłową wykazuje działanie mutagenne i karcinogenne. Wyniki tych badań wzbudziły oczywisty niepokój, ponieważ wnioski jakie z nich wypływają dotyczą w głównej mierze zagrożenia wynikającego z odległych skutków długotrwałego narażenia człowieka na małe dawki związków chemicznych zanieczyszczających środowisko w tym i pestycydów [10].

Wiedza o przyczynach i mechanizmach nowotworowego przekształcenia komórek pomimo znacznych postępów, jest jeszcze fragmentaryczna i pozostaje w sferze hipotez. Najbardziej rozpowszechniona jest nie nowa, ale wciąż budząca duże zainteresowanie hipoteza mutacji somatycznej, według której pierwszym etapem procesu nowotworowego jest utrwalona mutacja uszkadzająca mechanizmy kontrolne komórki [5, 31, 34]. Mutacje somatyczne indukują między innymi genotoksyczne związki chemiczne lub produkty ich przemiany w ustroju, tworzące wiązanie kowalencyjne z DNA [12, 31]. Na korzyść tej teorii przemawia fakt, że u ludzi z zaburzeniami enzymatycznej naprawy DNA notuje się wzrost zachorowalności na nowotwory [15]. Ponadto wyniki badań wskazują, że większość karcinogenów lub ich metabolitów ma zdolność uszkodzenia struktury DNA i w wyniku błędnej reperacji lub braku naprawy, wywoływania mutacji [31]. Niestety teoretyczne podstawy tej korelacji nie zostały dotychczas ustalone. Nie rozstrzygnięto czy przekształcenie nowotworowe może dokonać się w wyniku jednej mutacji, czy też zjawisko jest wynikiem kilku następujących po sobie mutacji. Przypuszcza się, że dla rozwinienia nowotworu potrzeba jest kilku kolejnych mutacji. Nie ustalono też umiejscowienia, natury i funkcji genów, których mutacja może prowadzić do przekształcenia nowotworowego [10]. Uszkodzenie materiału genetycznego przejawiające się w postaci mutacji może mieć różne znaczenie dla żywego organizmu, zależnie od ważności uszkodzonego genu lub genów a także od rodzaju uszkodzenia. Najbardziej charakterystyczną cechą jest to, że zwłaszcza w organizmach wyższych szkodliwe skutki takiego uszkodzenia przejawiają się dopiero po upływie dłuższego, czasem bardzo długiego czasu. Geny człowieka stanowią jego najcenniejsze dziedzictwo a uszkodzenie ich jakości i prawidłowej ekspresji może spowodować pogorszenie jakości zdrowia następnych pokoleń.

Uszkodzenia genetyczne mogą ograniczać się do pojedynczych genów (mutacje punktowe), obejmować całe struktury chromosomów (mutacje

chromosomowe), a nawet prowadzić do zmiany w liczbie chromosomów (mutacje genomowe). Mogą występować nie tylko w komórkach somatycznych lecz także w komórkach rozrodczych. Mutacje w materiale rozrodczym osobników zdolnych do reprodukcji są przekazywane potomstwu ujawniając się w pierwszym pokoleniu (mutacje dominujące), lub są przekazywane następnym generacjom bez ujawniania się ich szkodliwych następstw (mutacje recesywne) aż do chwili powstania zygoty dziedziczącej zmutowane geny od obojga rodziców. Sądzi się, że zygoty takie przeważnie giną we wczesnych stadiach życia płodowego a te, które przeżyją obarczone są brakami funkcjonalnymi a w drastycznych przypadkach ciężkimi anomaliami.

Oprócz mechanizmu genetycznego procesów nowotworowych sprządzającego zjawisko transformacji nowotworowej do mutacji somatycznej, rozważa się również mechanizmy epigenetyczne [1, 5, 12, 34, 47], t.j. dziedziczenie utrwalonej zmiany w ekspresji genów, nie uwarunkowanej zmianionym w następstwie mutacji zapisem informacji genetycznej. Postuluje się, że karcinogeny epigenetyczne zakłócają procesy dziedziczenia na zasadzie pośredniego wpływu na kwasy nukleinowe (DNA, RNA) w wyniku uszkodzenia specyficznego białka represora (ryc. 1).



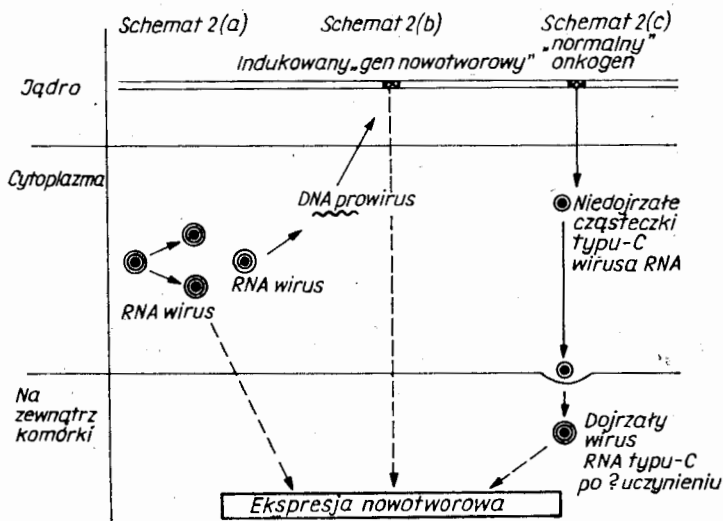
Ryc. 1. Mechanizm epigenetyczny indukcji raka (rozregulowanie mechanizmu kontrolującego transkrypcję genetyczną); RG = gen regulator; OG = gen operator; SG = gen strukturalny.

Dla wyjaśnienia indukcji nowotworów przez chemiczne karcinogeny na drodze wypadnięcia białka *Pitot* i *Heilderberger* [5] zaproponował schemat, w którym przyjmuje się, że produkt genu strukturalnego jest aktywnym represorem białkowym zdolnym do interakcji z operatorem innego operonu, uniemożliwiającej transkrypcję tego ostatniego. W schemacie tym karcinogen (lub jego aktywny metabolit) łączy się z represorem operonu 1 powodując jego inaktywację prowadzącą do odblokowania genu operatorowego OG2, a następnie transkrypcje jego genu strukturalnego. Końcowy produkt

tego genu (SG2) — enzym (E) katalizuje reakcję, której produkt (P) reaguje z nieaktywnym represorem operatora OG1, powodując jego inaktywację. Jak długo produkt (P) jest obecny, operon 1 pozostaje w stanie tłumionej represji, jego produkt nie pojawia się w komórce, a operon 2 koduje syntezę enzymu (E).

Schemat ten zakłada, że enzym (E) odpowiedzialny jest za nieograniczony wzrost komórek, a jego nieobecność w normalnych komórkach jest czynnikiem ograniczającym. W czasie podziału komórkowego część (E) przechodzi do komórki potomnej, co może tłumaczyć nieograniczony wzrost kolejnych generacji komórkowych bez potrzeby postulowania utrwalonych zmian w materiale genetycznym.

W świetle znanych już faktów przyjmuje się, że proces nowotworowego przekształcenia komórek może być zapoczątkowany również przez wirusy onkogenne [5, 12, 34]. Według hipotezy wirusowej przekształcenie nowotworowe jest przejawem ekspresji informacji genetycznej wirusów onkogennych. Hipoteza ta zakłada, że elementy materiału genetycznego wirusa istnieją w komórce jako składniki endogenne genomu, lub ulegają wbudowaniu do genomu komórki gospodarza poprzez pierwotną infekcję, a do ekspresji dochodzi dopiero pod wpływem różnych czynników dodatkowych wśród których uwzględnia się również chemiczne czynniki środowiskowe (ryc. 2).



Ryc. 2. Mechanizm indukcji raka przez wirus RNA (3 warianty).

Zgodnie z tym schematem, pierwotnym miejscem działania nowotworowego jest cytoplazma zainfekowanej komórki a nie jądro. Taka koncepcja ma charakter niegenetyczny („pseudogenetyczny”). Pozornie dziedziczny charakter cechy nowotworowej rzekomo normalnej komórki polega na tym, że wirus replikuje się z taką samą częstością z jaką następują podziały komórkowe.

Chemiczne karcinogeny aktywne *in vivo* nie mogą w tym wypadku być uznane w ścisłym znaczeniu tego terminu jako induktory procesu nowotworowego, ale raczej jako czynniki wspomagające np. przez: 1) „aktywację”

latentnego wirusa, 2) uwalnianie potencjalnie aktywnego wirusa, 3) tłumienie odpowiedzi immunologicznej gospodarza przeciw wirusowi (uwolnionemu), 4) przez uruchomienie fazy promocji po początkowej transformacji komórki.

Postęp badań stworzył w ostatnich latach przesłanki do opracowania szybkich testów umożliwiających wstępną ocenę rakotwórczości różnych związków chemicznych [10, 20].

Stwierdzono np. że pierwszy etap procesu nowotworowego można indukować i rozpoznawać w warunkach hodowli komórkowej. Przekształcone komórki różnią się od prawidłowych względnie łatwo uchwytными cechami. Dodatkowym dowodem nowotworowego charakteru transformacji *in vitro* jest między innymi zdolność przekształconych komórek do indukowania guzów nowotworowych, po przeszczepieniu zwierzętom doświadczalnym. Ogólnie wiadomo, że działanie karcinogenne wielu chemikaliów przejawia się dopiero po ich aktywacji metabolicznej w ustroju [36]. Proces ten zachodzić może w innych tkankach niż te, w których dochodzi do rozwoju procesu nowotworowego. Dlatego też we wcześniejszych badaniach zaledwie 30% związków o bezspornym działaniu karcinogenym u ludzi lub zwierząt indukowało przekształcenie nowotworowe komórek poddanych bezpośrednio działaniu w warunkach hodowli poza ustrojem. Wprowadzenie metody aktywacji metabolicznej doprowadziło do wyeliminowania rozbieżności wyników badań *in vivo* i *in vitro*.

Na podstawie empirycznej zależności pomiędzy działaniem karcinogenym i mutagenym opracowano również szereg testów do wykrywania potencjalnych związków karcinogennych\* [20]. Najczęściej stosowane w tym zakresie procedury polegają na indukcji specyficznych efektów biologicznych w różnych układach *in vivo* i *in vitro*. Znanych jest ponad 100 różnych testów. Wykonywane są one na różnym materiale biologicznym, począwszy od komórki bakteryjnej do komórek ssaków, a także bezpośrednio na zwierzętach i na podstawie badań ludzi narażonych np. w związku z pracą zawodową.

Żadna niestety z obecnie znanych metod oceny nie spełnia roli idealnego systemu wykrywania i jedynie wyniki uzyskane w doświadczeniach wielotestowych pozwalają na wykrycie i ocenę większości mutagenów/karcinogenów. Najbardziej przydatne w ocenie uszkadzającego działania na genom człowieka są dane z doświadczeń na ssakach. Są to jednak badania dość trudne, a metody badań w większości przypadków nie są wystandaryzowane (test na dominujące mutacje letalne, test plamkowy, wymiana chromatyd siostrzanych, morfologia spermy itp.). Dlatego też do wstępnej oceny aktywności genetycznej chemikaliów polecane są metody tańsze i szybsze.

Do najczęściej dziś stosowanych testów należą: test na kowalencyjne wiązanie się danego związku z kwasem nukleinowym, test indukcji mutacji w układach takich jak mikroorganizmy, owady, komórki ssaków, synteza naprawcza DNA [20].

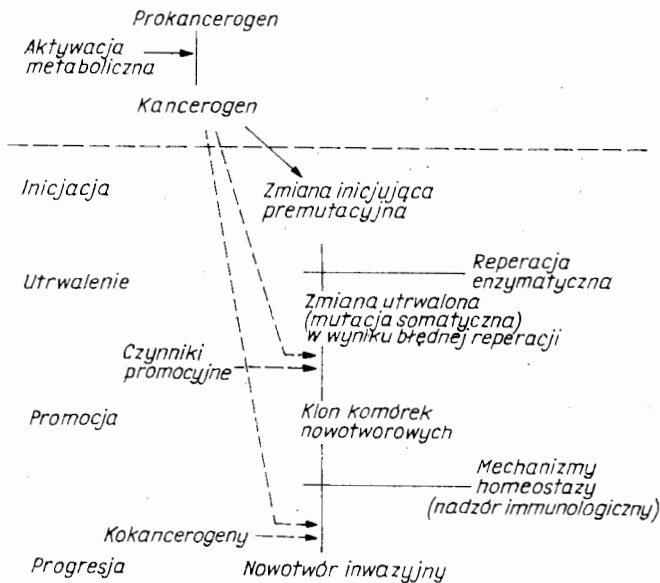
Pomimo jednak wysokiej korelacji pomiędzy właściwościami karcinogennymi i mutagennymi badanych związków jakie wykazują niektóre testy, powinny one służyć tylko do wstępnej selekcji związków chemicznych do dalszych badań i nie mogą zastąpić długookresowych doświadczeń na zwierzętach [20]. Czynnikiem poważnie ograniczającym zakres tych ostatnich badań są wysokie koszty. Dlatego też możliwości testowania nie nadążają za potrzebami, a większość związków chemicznych wprowadzanych do środowiska, a nawet większość preparatów stosowanych w terapii nie została

\* Związki, których działanie rakotwórcze stwierdzono co najmniej na dwóch gatunkach zwierząt doświadczalnych (ciężkich szczepach).

wystarczająco zbadana w aspekcie potencjalnego działania rakotwórczego. Co więcej interpretacja już istniejących wyników uzyskanych w badaniach na zwierzętach jest trudna, ponieważ nie dysponujemy jeszcze obiektywnymi kryteriami oceny ryzyka dla człowieka na podstawie danych z doświadczeń na ssakach [10]. W związku z tym ocena taka może być dokonywana tylko z największą ostrożnością i zastrzeżeniami. Nawet negatywny wynik badań, u kilku gatunków zwierząt nie daje całkowitej pewności, że badany związek jest niekarcinogeny dla ludzi. Jedynie z analizy epidemiologicznej wynika bezspornie, że takie działanie u ludzi mają nieorganiczne związki arsenu, chociaż nie wywołują one nowotworów u żadnego spośród wielu badanych pod tym kątem gatunków zwierząt. Podatność bowiem na działanie karcinogenów pozostaje w ścisłym związku z wieloma różnymi czynnikami endogennymi np. z cechami metabolizmu, które mogą być gatunkowo swoiste. Dlatego też wyniki badań działania niektórych karcinogenów u różnych gatunków zwierząt są nierzadko rozbieżne.

Najpełniejszy obraz wpływu czynników środowiskowych na rozwój nowotworów u ludzi daje analiza epidemiologiczna. Powodzenie tej metody zależy jednak od trafnego sformułowania hipotezy i doboru odpowiedniej grupy kontrolnej.

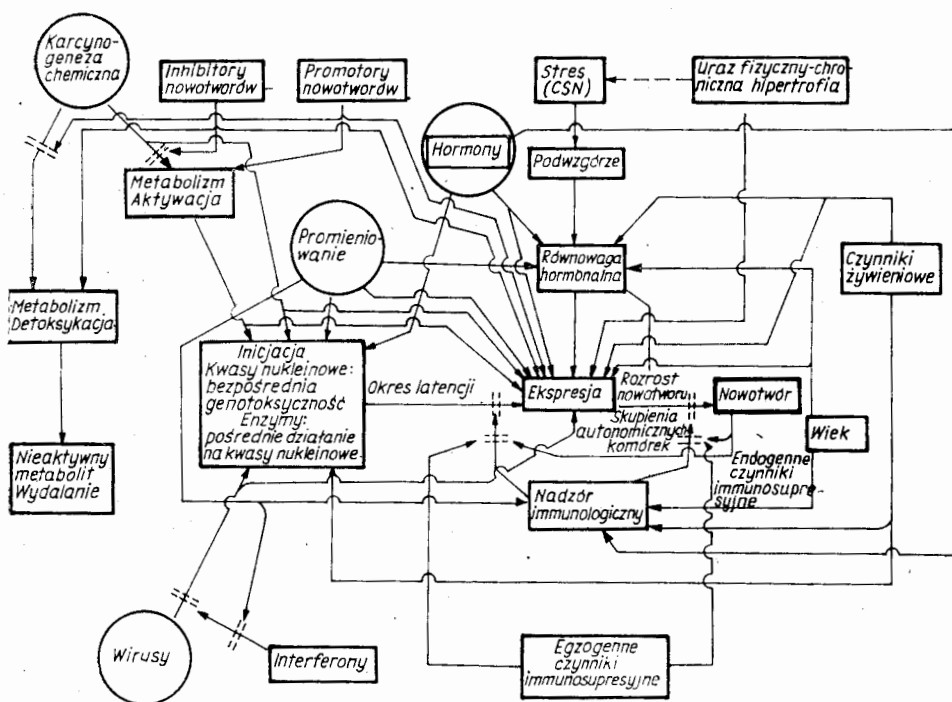
Badania biologii nowotworów dostarczają licznych dowodów na złożoność i wieloetapowy charakter procesów biologicznych, których ostatnią fazą jest choroba nowotworowa (ryc. 3) [5]. Na podstawie dość jeszcze fragmentarycznej znajomości przedklinicznej fazy rozwoju raka wyróżnić można umownie



Ryc. 3. Umownie sekwencje procesów przedklinicznej fazy rozwoju raka.

sekwencję następujących procesów: zmiana inicjująca (premutacyjna), zmiana utrwalona (mutacja somatyczna), promocja i progresja (nowotwór inwazyjny). W badaniach doświadczalnych promocja przejawia się wybitnym wzrostem zachorowalności w warunkach, gdy po ekspozycji na właściwy czynnik karcinogeny następuje ekspozycja na niektóre związki chemiczne

lub czynniki, które same w sobie nie posiadają właściwości inicjacji procesu nowotworowego (promotory, kokarcinogeny). W rzeczywistości populacja ludzka narażona jest na szereg czynników środowiskowych o różnym potencjale karcinogennym. Niektóre czynniki mogą promować inne zaś hamować proces karcinogenezy. Także oddziaływanie dwóch karcinogennych czynników może dawać efekt addycyjny, antagonistyczny lub synergistyczny [1]. W sprawnej działającym ustroju istnieje szereg czynników endogennych, decydujących o tym czy zdarzenie inicjujące wyrazi się w postaci nieodwracalnej proliferacji komórek nowotworowych (rycina 4). Spośród tych czynników



Ryc. 4. Wpływ czynników endo- i egzogennych na procesy nowotworowe

działających na etapie ekspresji wymienić należy przynajmniej dwa a mianowicie system nadzoru immunologicznego i równowaga hormonalna. Próba pełniejszej oceny czynników hormonalnych jak i układu odpornościowego jest przy obecnym stanie wiedzy przedwczesna, ponieważ stanowią one przedmiot początkowych badań i ich znaczenie w dynamice zmian nowotworowych jak dotychczas nie jest całkowicie jasne. Ponadto istnieje gęsty splot wzajemnych powiązań między tymi czynnikami a czynnikami egzogennymi i innymi endogennymi takimi jak wiek, stres, a nawet sposób odżywiania. W kontekście tym wspomnieć należy również o interferonach, którym przypisuje się rolę związaną z syntezą białek inaktywujących wirusy onkogenne.

Ponieważ pestycydy stanowią obecnie poważną grupę chemikaliów wprowadzanych do środowiska, były one przedmiotem wielu prac badawczych dotyczących ewentualnego działania mutagennego [2-4, 6, 7, 9, 11, 13, 14,

16—19, 21—30, 32, 33, 35, 38—43, 45, 46]. Dane z tych prac przedstawiono w tabeli I. Niektóre pestycydy w różnych układach doświadczalnych powodują różne typy mutacji. Stwarza to nie tylko potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzkiego ale także możliwości wywoływania niekorzystnych zmian w środowisku, w tym także u roślin uprawnych i w mikroflorze glebowej. Wydaje się jednak, że dla większości przedstawionych tutaj pestycydów dane dotyczące aktywności mutagennej są fragmentaryczne a czasem nawet wyrywkowe jak np. dla diallate, chlordekonu, mireksu, toksafenu i monuronu. Jak już wspomniano żaden pojedynczy system nie spełnia wymaganych warunków w tym zakresie, a jedynie odpowiednio dobrany układ systemów może dostarczyć ważnych informacji o potencjale mutagennym poszczególnych preparatów. Informacje takie w zestawieniu z danymi o ich losach metabolicznych w ustroju oraz z badaniami długookresowej toksyczności z uwzględnieniem działania rakotwórczego na zwierzętach umożliwiają dokonanie przynajmniej przybliżonej oceny zagrożenia dla ludzi.

Tabela II ilustruje aktywność rakotwórczą pestycydów omawianych w tabeli I.

Do grupy pestycydów, których działanie guzotwórcze udowodniono przynajmniej dla dwóch gatunków zwierząt laboratoryjnych lub dwóch szczepów należą: herbicydy — amitrol [24] i monuron [25], insektycydy — chlordan, lindan, mireks, chlordekon i toksafen [21, 37], fungicyd — sześciochlorobenzen [21] oraz grupa chemosterylantów między innymi tepa i tretamina [26]. DDT i dieldrin indukują guzy u myszy [22]. Natomiast herbicydy z grupy pochodnych kwasu fenoksyoctowego, kwas 2,4-D i 2, 4, 5-T [27], grupa fungicydów dwutiokarbaminianowych [25] między innymi ferbam, ziram) zostały zbadane w aspekcie karcinogennego oddziaływania w nieodpowiednich warunkach eksperymentalnych (czas ekspozycji, dawka, liczba zwierząt). Również wyniki uzyskane dla folpetu i kaptanu [9] oraz dla karbarylu [25] nie mogą być jednoznacznie interpretowane ponieważ z jednej strony sugerują występowanie, z drugiej zaś brak efektów karcinogennych. Karbendazym [8, 44], metoksychlor [21] i hydrazyd kwasu maleinowego [23] dały negatywne wyniki w długookresowych badaniach toksyczności. Dichlorfos również nie indukował statystycznie znamiennego wzrostu guzów u myszy i szczura. Wydaje się jednak, że dane w tym zakresie nie są wystarczające do oceny karcinogenności tego insektycydu [21]. Dla niektórych preparatów stosowanych nawet od lat w ochronie roślin w dostępnej literaturze brak jest informacji na temat ich rakotwórczego oddziaływania. W tabeli III wymieniono niektóre pestycydy, które badane były w aspekcie mutagenozy [2, 6, 7, 13, 18, 28—30, 38, 42, 43, 45, 46], a dla których brak jest danych dotyczących karcinogenności.

W 1979 roku Grupa Ekspertów Międzynarodowej Agencji Badania Raka oceniła 54 związki chemiczne i związane z nimi procesy technologiczne, które mogą stanowić potencjalne niebezpieczeństwo dla człowieka [24]. Spośród pestycydów amitrol zakwalifikowano do grupy II B tj. do klasy związków chemicznych, które są prawdopodobnie rakotwórcze dla ludzi. Pestycydy chloroorganiczne takie jak chlordan, heptachlor, DDT, lindan i dieldrin z uwagi na brak dostatecznych danych znalazły się w klasie II tj. w grupie związków podejrzanych o działanie rakotwórcze u człowieka. Pozostałe środki ochrony roślin nie zostały zakwalifikowane pod kątem ich rakotwórczości, ponieważ dane doświadczalne były fragmentaryczne i wyrywkowe.

Tabela I. Działanie mutagenne

Preparat	Organizmy				
	bakterie			grzyby	
	bez aktywacji metabolicznej	z aktywacją metaboliczną	przy użyciu gospodarza pośredniego	bez aktywacji metabolicznej	z aktywacją metaboliczną
<b>Fungicydy</b>					
Kaptan	+	?	—	+	+, —
Folpet	+	?	n.b.	+	—
Karbendazym	—	—	n.b.	+	—
Ferbam	+, —	n.b.	n.b.	+	n.b.
Ziram	+, —	n.b.	n.b.	+	n.b.
Sześciochlorobenzen	n.b.	n.b.	n.b.	—	n.b.
<b>Insektycydy</b>					
Karbaryl	—	—	n.b.	+) )	+
Dichlorfos	+	n.b.	—	+	n.b.
Chlordan	—	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Metoksychlor	—	—	n.b.	n.b.	—
Chlordekoni	—	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Mireks	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Toksafen	+	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Heptachlor	—	—	n.b.	n.b.	n.b.
Dieldrin	—	—	n.b.	n.b.	n.b.
DDT	—	—	—	—	n.b.
Lindan	—	n.b.	—	n.b.	n.b.
<b>Herbicydy</b>					
Amitrol	—	n.b.	—	n.b.	+
Monuron	—	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
2,4-D	—	—	—	+	n.b.
2,4,5-T	—	—	—	—	—
Hydrazyd kwasu maleinowego	—	—	n.b.	n.b.	n.b.
<b>Chemosterylanty</b>					
Tiotepa	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Tretamina	+	n.b.	n.b.	+	n.b.

+ preparat indukuje mutacje,

— preparat nie indukuje mutacji,

+) preparat słabo indukuje mutacje,

? wynik wątpliwy (wzrost częstości mutacji statystycznie nieznamienny),

n.b. preparatu nie badano w aspekcie działania mutagennego.

Przedstawione wyniki badań odległych skutków wynikających ze stosowania pestycydów wskazują na konieczność dalszych bardziej wnikliwych badań w tym zakresie.

Analiza współistnienia korelacji pomiędzy aktywnością karcinogenną i mutagenną omawianych w referacie pestycydów pozwala wnioskować, że jest ona słaba, a brak jej zupełnie w przypadku pestycydów chloroorganicznych, chociaż większość tego typu pochodnych charakteryzuje się działaniem genotwórczym przynajmniej u jednego gatunku to jednak preparaty te nie



## wybranych pestycydów

testowe				
<i>Drosophila melanogaster</i>	komórki ssaków		dominujące mutacje letalne	Piśmiennictwo
	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>		
—	+, —	+, —	+, —	[9, 13, 41, 42, 45]
—	+	n.b.	+, —	[9, 42, 45]
—	+	+	—	[19, 32, 38, 39, 45]
n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	[25, 33, 42]
—	n.b.	+	n.b.	[25, 33, 42]
—	n.b.	n.b.	—	
+	+, —	+	—	[7, 28, 29, 25]
—	+, —	—	+, —	[3, 7, 6, 11, 13, 18, 21, 33, 42, 45]
n.b.	n.b.	n.b.	—	[21]
—	n.b.	—	—	[21]
n.b.	n.b.	n.b.	—	[21, 42]
n.b.	n.b.	n.b.	—	[21]
n.b.	n.b.	n.b.	—	[21]
—	n.b.	+	n.b.	[16, 21, 42, 45,]
n.b.	+	n.b.	—	[14, 42, 45]
?	+	+	+, —	[18, 42, 45]
—	+	n.b.	—	[21, 42, 45]
n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	[4, 13, 24, 42, 45]
n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	[25, 42]
—	+	—	—	[6, 27, 42, 45]
+	n.b.	—	—	[27, 40, 42, 45]
+	+	+	n.b.	[23, 35, 45]
+	+	n.b.	+	[26]
+	+	n.b.	+	[26]

wykazują zdolności indukowania mutacji u licznych organizmów testowych. Williams [47] sugeruje, że pestycydy chloroorganiczne działają karcinogenicznie na drodze mechanizmów epigenetycznych podobnie jak hormony, immunosupresory, kokarcinogeny i promotory. Mechanizm oddziaływania tej kategorii karcinogenów nie jest odzwierciedlany w testach skriningowych służących do wykrywania związków genotoksycznych. Dyktuje to konieczność prowadzenia dalszych prac nad udoskonaleniem szybkich metod identyfikacji różnego typu chemicznych karcinogenów.

Tabela II. Działanie rakotwórcze wybranych pestycydów

Preparat	Gatunek zwierząt		Rodzaj zmian neoplastycznych	Piśmiennictwo
	mysz szczur			
<b>Fungicydy:</b>				
Kaptan	?	?	mięsaki płuc	[9]
Folpet	?	?	mięsaki płuc	[9]
Karbenazym	—	—		[8, 44]
Ferbam	?	?		[25]
Ziram	?	?		[25]
Sześciochlorobenzen.	+	+	guzy wątroby, gruczolaki tarczycy	[21]
<b>Insektycydy:</b>				
Karbaryl	?	?	mięsaki i guzy płuc	[25]
Dichlorfos	—	—		[21]
Metoksychlor	—	—		[21]
Chlordekon	+	+	rak z komórek wątroby, guzy tarczycy	[21]
Mireks	+	+	łagodne i złośliwe guzy wątroby	[21]
Toksafen	+	+	rak z komórek wątroby, guzy tarczycy	[21]
Chlordan	+	?	rak z komórek wątroby	[21]
Heptachlor	+	?	guzy wątroby	[21]
Dieldrin	+	?	guzy wątroby	[21]
DDT	+	?	guzy wątroby	[22]
Lindan	+	+	łagodne i złośliwe guzy wątroby u myszy, łagodne i złośliwe guzy w różnych organach u szczura	[37]
<b>Herbicydy:</b>				
Amitrol	+	+	guzy wątroby i tarczycy	[24]
Monuron	+	+	guzy w różnych organach i tkankach	[25]
2,4-D	?	?	guzy w różnych organach	[27]
2,4,5-T	?	n.b.	guzy w różnych organach	[27]
Hydrazyd kwasu maleinowego	—	—		[23]
<b>Chemostorylanty:</b>				
Tiotepa	+	+	łagodne i złośliwe guzy w różnych organach i tkankach	[26]
Tretamina	+	+	łagodne i złośliwe guzy w różnych organach takich jak jajniki, płuca, grasicca oraz guzy w miejscu zastosowania	[26]

+ preparat wykazuje działanie rakotwórcze,

— preparat nie wykazuje działania rakotwórczego,

? działanie rakotwórcze preparatu nie w pełni udokumentowane,

n.b. preparatu nie badano w aspekcie działania rakotwórczego.

## T. Сыроватка, Д. Палут

### ПРОБЛЕМЫ СВЯЗАННЫЕ С ТЕСТИРОВАНИЕМ ПЕСТИЦИДОВ В НАПРАВЛЕНИИ ИХ МУТАГЕННОГО/КАНЦЕРОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ

#### Резюме

На фоне биологических гипотез канцерогенеза обсуждается пригодность скрининг-тестов для установления мутагенного действия пестицидов. Анализ корреляции между канцерогенной и мутагенной активностью химических соединений показывает, что в случае пестицидов, в особенности хлорорганических

Tabela III. Działanie mutagenne wybranych pestycydów dla których brakuje danych dotyczących aktywności rakotwórczej

Preparat	Organizmy ces'owe										
	bakterie			grzyby			<i>Drosophila melanogaster</i>	komórki ssaków		dominujące mutacje letalne	Piśmiennictwo
	bez aktywacji metabolicznej	z aktywacją metaboliczną	przy użyciu gospodarza pośredniego	bez aktywacji metabolicznej	z aktywacją metaboliczną	<i>in vitro</i>		<i>in vivo</i>			
Fungicydy:											
Benomyl	+	—	—	+	n.b.	—	+	+	—	[13, 19, 30, 37, 39, 45]	
Herbicydy:											
Symazyna	—	—	n.b.	—	—	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	[45]	
Atrazyna	—	n.b.	n.b.	—	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	[45]	
Dikwat	+	+	n.b.	+) )	+) )	n.b.	n.b.	n.b.	—	[2, 45]	
Parakwat	+	+	n.b.	+) )	+) )	n.b.	n.b.	n.b.	—	[2, 45]	
Insektycydy:											
Propoksur	—	—	n.b.	+,—	+	n.b.	n.b.	n.b.	+,—	[7, 23, 29, 45, 46]	
Diazinon	—	—	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	+	+	[42,45]	
Malation	—	—	+	—	—	n.b.	n.b.	+	+	[18,42,43,45]	
Dimetoat	+	n.b.	n.b.	+	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	+	[18,42]	

— preparat nie indukuje mutacji,

+) preparat słabo indukuje mutacje,

n.b. preparat nie był badany w aspekcie działania mutagennego.

ких, она относительно слабая. Хлорорганические пестициды индуцируют опухоли минимум у одного вида лабораторных животных, в то время как проявляют слабую мутагенную активность у многих тест-организмов. Гипотезы касающиеся химического канцерогенеза, кроме генетических механизмов (соматические мутации, зафиксированные в результате неправильной репарации ДНК — *error-prone zeuozis*) учитывают также существование эпигенетических механизмов, н.пр. наследование потомственными клетками зафиксированного изменения в экспрессии генов в результате косвенного влияния на нуклеиновые кислоты а также расстройство контрольных механизмов путём повреждения специфического репрессорного белка. Вероятно хлорорганические пестициды оказывают канцерогенное действие путём эпигенетического механизма, так-же как и гормоны, иммуносупрессоры, кокарциногены и промоторы. Механизм действия этой группы канцерогенов не отражается в скрининг-тестах предназначенных для обнаружения генотоксических соединений. Это вызывает необходимость проведения дальнейших работ по усовершенствованию быстрых методов идентификации разного типа химических канцерогенов.

T. Syrowatka, D. Palut

#### PROBLEMS CONNECTED WITH PESTICIDE TESTING FOR MUTAGENIC AND CARCINOGENIC EFFECTS

##### Summary

In the aspect of the biological hypotheses of carcinogenesis the usefulness of screening examinations for the mutagenic action of pesticides is discussed. The analysis of the possible correlation between the mutagenic and carcinogenic actions of chemical compounds shows that in the case of pesticides, particularly organic chlorine pesticides, it is weak. Organic chlorine pesticides induce neoplasms in at least one species of laboratory animals, but they show a weak ability of inducing mutation in numerous tested organisms. The hypotheses on chemical carcinogenesis include, besides genetic mechanisms (fixed somatic mutations due to faulty reparation of DNA (error-prone repair), also the existence of epigenetic mechanisms, e.g. inheritance by the cells of fixed change in gene expression due to an indirect effect on nucleic acids and disarray of the control mechanisms through damage to the specific repressor protein. Probably, organic chlorine pesticides exert their carcinogenic action through an epigenetic mechanism, similarly as hormones, immunosuppressants, cocarcinogens and promoters. The mechanism of action of this category of carcinogens is not reflected in screening tests serving for detection of genotoxic compounds. This indicates the necessity of further studies on the improvement of rapid methods for identification of various types of chemical carcinogens.

##### PIŚMIENNICTWO

1. *Acoros J.C.*: Cancer chemical factors in the environment. International Laboratory, 1978, 105. — 2. *Anderson D., McGregor D.B., Purchase F.H.*: Dominant lethal studies with paraquat in male CD-1 mice. *Mut. Res.*, 1976, 40, 349. — 3. *Ashwood-Smith, Trevino M.J., Ring R.*: Mutagenicity of dichlorvos. *Nature*, 1972, 240, 418. — 4. *Barnford D., Sorsa M., Grinberg U., Laamen J., Meretoja T.*: Mutagenicity and toxicity of amitrole. *Mut. Res.*, 1976, 40, 197. — 5. *Berenblum I.*: Carcinogenesis as a Biological Problem North-Holland/American Elsevier Amsterdam, New York 1974. — 6. *Bignami M., Alicino F., Velcich A., Corere A., Morpurgo G.*: Mutagenic and recombinogenic action of pesticides in *Aspergillus nidulans*. *Mut. Res.*, 1977, 46, 995. — 7. *Blevins R.D., Lee M., Degan J.D.*: Mutagenicity of five methyl carbamate insecticides and their nitroso derivatives using mutants of *S. typhimurium*. *Mut. Res.*, 1977, 56, 1. — 8. *Borzsonyi M., Sipos V., Csik M.*: Malignant lymphomas in mice induced by *in vivo* produced N-nitroso-compounds. *Magy. Oncol.*, 1975, 19, 175 (Pest. Abstr. 760—765). — 9. *Bridges B.A.*: Mutagenicity of captan and related fungicides. *Mut. Res.*, 1975, 32, 3. — 10. *Bridges B.A.*: General principles and minimal criteria for mutagenicity screening. *Mut. Res.*, 1978, 53, 361.

11. *Bulmaier z., Rohrborn G., Propping P.*: Comparative investigations of the mutagenicity of pesticides in mammalian test systems. *Mut. Res.*, 1973, 21, 25. — 12. *Busch H.*: The Molecular Biology of Cancer. Academic Press. New York, London 1974, 393. — 13. *Carere A., Ortali V.A., Corlamone G., Torracca A.M., Raschett R.*: Microbiological mutagenicity studies of pesticides *in vitro*. *Mut. Res.*, 1978, 57, 277. — 14. *Clark J.M.*: Mutagenicity of DDT in mice, *Drosophila melanogaster* and *Neurospora crassa*. *Austr. J. Biol. Sci.*, 1974, 27, 427. — 15. *Cleaver J.E.*: DNA repair and its coupling to DNA replication in eucariotic cells. *Biochim. Biophys. Acta*,

1978, 516, 489. — 16. *Clerey K., Izakovic Y., Ruttkay-Medecka J.*: Effect of heptachlor on dominant lethality and bone marrow in rats., 1973, 21, 26. — 17. *Dean B.J., Blair D.*: Dominant lethal assay in female mice after dosing with dichlorvos or exposure to atmosphere containing dichlorvos. *Mut. Res.*, 1976, 40, 67. — 18. *Degrevae N., Moutchen J.*: Genetic effect of organophosphorus insecticides in mouse. *Mut. Res.*, 1979, 64, 131. — 19. *Fiscor G., Bordas G., Steward S.J.*: Mutagenicity testing of benomyl, methyl 2-benzimidazole carbamate and N-methyl-N-nitro-N-nitrosoquanine in *S. typhimurium* *in vitro* and in rodent host mediated assay. *Mut. Res.*, 1978, 51 151. — 20. *Hollstein M., McCann., Anglosanto F.A., Nicols W.W.*: Short term tests for carcinogens and mutagens. *Mut. Res.*, 1979, 65, 133.

21. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemical to Man. International Agency for Research on Cancer, Lyon 1979, 20. — 22. *Ibidem* 1974, 5, 83. — 23. *Ibidem* 1974, 4, 173. — 24. *Ibidem* 1974, 7, 31. *Suppl.* 1979, 13. — 25. *Ibidem* 1976, 12, 37. — 26. *Ibidem* 1975, 9, 85. — 27. *Ibidem* 1977, 15, 111. — 28. *Jaszczuk E., Syrowatka T., Cybulski J.*: Aktywność mutagenna propoksuru, karbarylu oraz produktów ich nitrozowania: indukcja rewersji mutagennej u *S. typhimurium*. *Roczn. PZH*, 1979, 30, 81. — 29. *Jaszczuk E., Syrowatka T.*: Indukcja mitotycznej konwersji u *S. cerevisiae* D4 propoksurem, karbarylem, DMNA oraz produktami ich aktywacji. *Roczn. PZH*, 1979, 30, 324. — 30. *Kapas A., Grenn M.H.L., Bridges B.A., Rogers A.M., Muriel W.J.*: Benomyl a novel type of base analogue mutagen. *Mut. Res.*, 1976, 40, 379.

31. *Magee P.N.*: The relationship between mutagenesis, carcinogenesis and teratogenesis, *Progress in Genetic Toxicology*. Elsevier/North Holland. Biochem. Press, Amsterdam, 1977, 2, 15. — 32. *Mollet P.*: Lack of proof induction of somatic recombination and mutation in *Drosophila* by methyl-2-benzimidazole carbamate, dimethyl sulfoxide and acetic acid. *Mut. Res.*, 1976, 40, 288. — 33. *Moriya M., Kato K., Shirasu Y.*: Mutagenicity screening of pesticides in microbiological system. *Mut. Res.*, 1978, 54, 221. — 34. *Mery R.*: Carcinogenic mechanisms a critical review and a suggestion that oncogenesis may be adaptative oncogenesis. *Chem. Biol. Interaction* 1976, 12, 145. — 35. *Nishi Y., Mori M., Inui N.*: Chromosomal aberrations induced by maleic hydrazide and related compounds in chinese hamster cells *in vitro*. *Mut. Res.*, 1979, 67, 249. — 36. *Oeach E., Glatt R.R.*: Evaluation of the importance of enzyme involved in the control of mutagenic metabolites In: *Screening Tests in Chemical Carcinogenesis*. IARC Scientific Publications, 1976, 12, 225. — 37. *Reuber M.D.*: Carcinogenicity of lindane. *Environ. Research*, 1979, 19, 460. — 38. *Seiler J.P.*: Toxicology and genetic effects of benzimidazole compounds. *Mut. Res.*, 1975, 32, 157. — 39. *Seiler J.P.*: The mutagenicity of benzimidazole and benzimidazole derivatives. Cytogenetic effects of benzimidazole derivatives in the bone marrow of the mouse and the chinese hamster. *Mut. Res.*, 1976, 40, 339. — 40. *Seiler J.P.*: The genetic toxicology of phenoxy acids other than 2,4,5-T. *Mut. Res.*, 1978, 55, 197.

41. *Shirasu Y.H., Tezuka R., Henmis S.*: Cytogenetic and dominant lethal studies on captan. *Mut. Res.*, 1978, 2, 127. — 42. *Shirasu Y.H., Moryiya K., Furuhashi A., Kato T.*: Mutagenicity screening of pesticides in the microbial system. *Mut. Res.*, 1976, 40, 19. — 43. *Silianco C.Y.L.*: Some interactions affecting the mutagenicity potencial of dipyrone, hexachlorophene, thiodan and malathion. *Mut. Res.* 1978, 53, 271. — 44. *Syrowatka T., Tyrkiel E., Wiadrowska B., Nazarewicz E.*: Badania wpływu równoczesnego podawania azotynu sodowego na działanie toksyczne i karcinogenne karbendazyumu w doświadczeniu przewlekłym. *Roczn. PZH*, 1980, 31, 117. — 45. *Syrowatka T., Jaszczuk E., Tyrkiel E.*: Badania mutagenności substancji chemicznych. *Materiały Sympozjum Naukowego Instytutu Ochrony Roślin, Poznań 1977*, 149. — 46. *Tyrkiel E.*: Mutagenne oddziaływanie propoksuru na komórki pleiowe myszy. *Roczn. PZH*, 1977, 28, 602. — 47. *Williams S.M.*: Classification of genotoxins and epigenic carcinogen using liver culture assaya Abstracts of conference differentiation and carcinogenesis in liver cell cultures. New York Academy of Science 1979, 23.

Dn. 26.VI.1981 r.

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24.