

TADEUSZ SYROWATKA, JOLANTA BAŃKOWSKA, ANDRZEJ JUREK,
JERZY PIOTROWSKI, TERESA NAZAREWICZ

WPLYW RÓWNOCZESNEGO PODAWANIA AZOTANU I AZOTYNU SODOWEGO NA TOKSYCZNE DZIAŁANIE KARBARYLU W BADANIU CHRONICZNYM DŁUGOOKRESOWYM

Z Zakładu Toksykologii Sanitarnej Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. T. Syrowatka
i z Zakładu Immunopatologii Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. med. A. Nowostawski

Zbadano wpływ równoczesnego podawania azotanu i azotynu sodowego na toksyczne działanie insektycydu karbarylu. Doświadczenie przeprowadzono na samcach szczurów szczepu Wistar utrzymując je przez 18 miesięcy na paszach zawierających odpowiednie stężenia w/w substancji toksycznych. Największą śmiertelność zanotowano w grupie szczurów otrzymujących karbaryl i azotyn sodu. Ocena histopatologiczna wybranych narządów wewnętrznych nie wykazała specyficznych zmian związanych z podawaniem preparatu.

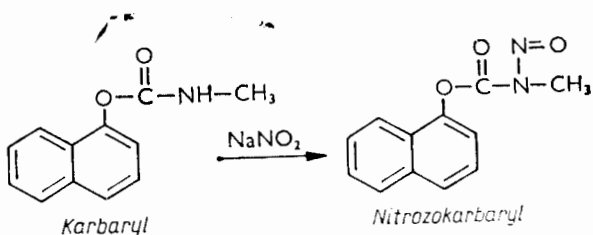
N-nitrozozwiązki — pochodne amin, amidów, mocznika, kwasu karbaminowego i dwutiokarbaminowego od dawna zostały rozpoznane jako chemiczne kancerogeny wykazujące zdolność wywoływania raka w różnych narządach zwierząt w warunkach doświadczalnych [1, 2, 6]. Związki te można łatwo otrzymać działając azotynem sodowym na odpowiednie II i III-rzędowe aminy i amidy, IV-rzędowe zasady amoniowe, guaninę i pochodne kwasu karbaminowego [3, 4]. Łatwość syntezy nitrozozwiązków z ich niekancerogennych prekursorów można również przewidzieć w różnych układach biologicznych, nie wyłączając organizmu człowieka np. fizjologiczne warunki umożliwiające zachodzenie procesu nitrozowania występują w żołądkach ssaków. Dowodów na poparcie takiego twierdzenia dostarczyły badania Sandera [5], który wykazał, że podanie zwierzętom laboratoryjnym azotynu i określonej aminy wywołuje podobne efekty toksyczne i kancerogenne, jak w przypadku bezpośredniego zaaplikowania odpowiedniej N-nitrozoaminy.

Karbaryl jest jednym z karbaminianów o szerokim spektrum działania insektobójczego, powszechnie stosowanym do ochrony upraw rolniczych, sadowniczych i warzywniczych.

Azotany, wszechobecne w środowisku są ponadto dodawane do żywności jako środki konserwujące. W pewnych okolicznościach, szczególnie przy udziale bakterii istnieje możliwość redukcji azotanów do azotynów. Redukcja taka może zachodzić np. w żywności przechowywanej

w temperaturze pokojowej. W warunkach intensywnego stosowania karbarylu w ochronie roślin, istnieje duże prawdopodobieństwo jednoczesnego występowania w żywności przeznaczonej do spożycia, zarówno pozostałości tego insektycydu, jak i azotanów i azotynów.

Zakładając taką możliwość wydawało się uzasadnione podjęcie badań wpływu równoczesnego podawania karbarylu oraz azotanu i azotynu sodu na organizm szczura w warunkach doświadczenia długookresowego. Badania takie mogą stanowić podstawę dla określenia stopnia niebezpieczeństwa różnych kombinacji tych związków, a pośrednio transformacji karbarylu do jego pochodnej nitrozowej.



MATERIAŁ I METODYKA

Karbaryl techniczny o zawartości ok. 98% karbarylu (1-naftylo-N-metylo-karbaminian) — otrzymano z Instytutu Przemysłu Organicznego w Warszawie.

Azotan sodu — P.P.H. Polskie Odczynniki Chemiczne — Gliwice.

Azotyn sodu — P.P.H. Polskie Odczynniki Chemiczne — Gliwice.

Badanie przeprowadzono na samcach szczurów szczepu *Wistar* o masie wyjściowej ciała 150 ± 20 g.

Doświadczenie trwało 18 miesięcy i obejmowało sześć grup zwierząt po 25 sztuk w każdej grupie. Zwierzętom podawano substancje badane wraz z pożywieniem lub/i w wodzie do picia w następujących stężeniach:

Grupa I (kontrolna): pasza i woda;

Grupa II: 1000 mg karbarylu/kg paszy i woda;

Grupa III: 1000 mg karbarylu/kg paszy i 1000 mg azotanu sodu/l wody;

Grupa IV: 1000 mg karbarylu/kg paszy i 1000 mg azotynu sodu/l wody;

Grupa V: pasza i 1000 mg azotanu sodu/l wody;

Grupa VI: pasza i 1000 mg azotynu sodu/l wody.

W czasie trwania doświadczenia prowadzono obserwacje zachowania się zwierząt, ich wyglądu zewnętrznego, dziennego spożycia paszy i pobrania płynów oraz zmian masy ciała i śmiertelności. Pod koniec doświadczenia zwierzęta dekapitowano, wyizolowano wybrane narządy wewnętrzne i przeprowadzono ich ocenę makroskopową. Materiał tkankowy utrwalano w 10% roztworze zbuforowanej formaliny. Do badań histopatologicznych pobrano skrawki wątroby, nerek, śledziony, płuc, serca, mózgu, przysadki, nadnerczy i gonad. Skrawki wymienionych narządów barwiono hematoksyliną i eozyną.

Wyniki zostały opracowane statystycznie w postaci wartości średnich z uwzględnieniem średniego błędu średniej ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$). W rubrykach przedstawiających wartości średnie z grup badanych dodatkowo w postaci „P” wyrażone jest prawdopodobieństwo wystąpienia przypadkowych wartości w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną (obliczone testem *Studenta*).

Tabela I. Śmiertelność samców szczurów szczepu *Wistar* w doświadczeniu chronicznym długokresowym

Czas w miesiącach	Grupa I (kontrolna)	Grupa II karbaryl +woda	Grupa III karbaryl +NaNO ₃	Grupa IV karbaryl +NaNO ₂	Grupa V pasza +NaNO ₃	Grupa VI pasza +NaNO ₂
1	—	—	—	—	—	—
2	—	—	1	1	—	—
3	—	—	—	—	1	1
4	1	—	—	1	—	—
5	—	—	1	1	2	2
6	1	—	—	2	3	—
7	—	—	2	1	—	—
8	—	—	—	—	—	—
9	1	—	1	3	—	1
10	3	2	1	1	—	2
11	—	1	1	—	—	—
12	1	1	—	—	—	—
13	—	—	—	—	—	—
14	—	1	1	3	—	—
15	2	2	2	1	1	—
16	—	1	—	3	—	1
17	—	1	—	2	2	—
18	1	1	2	1	—	1
Do chwili dekapitacji	10	10	12	20	9	8

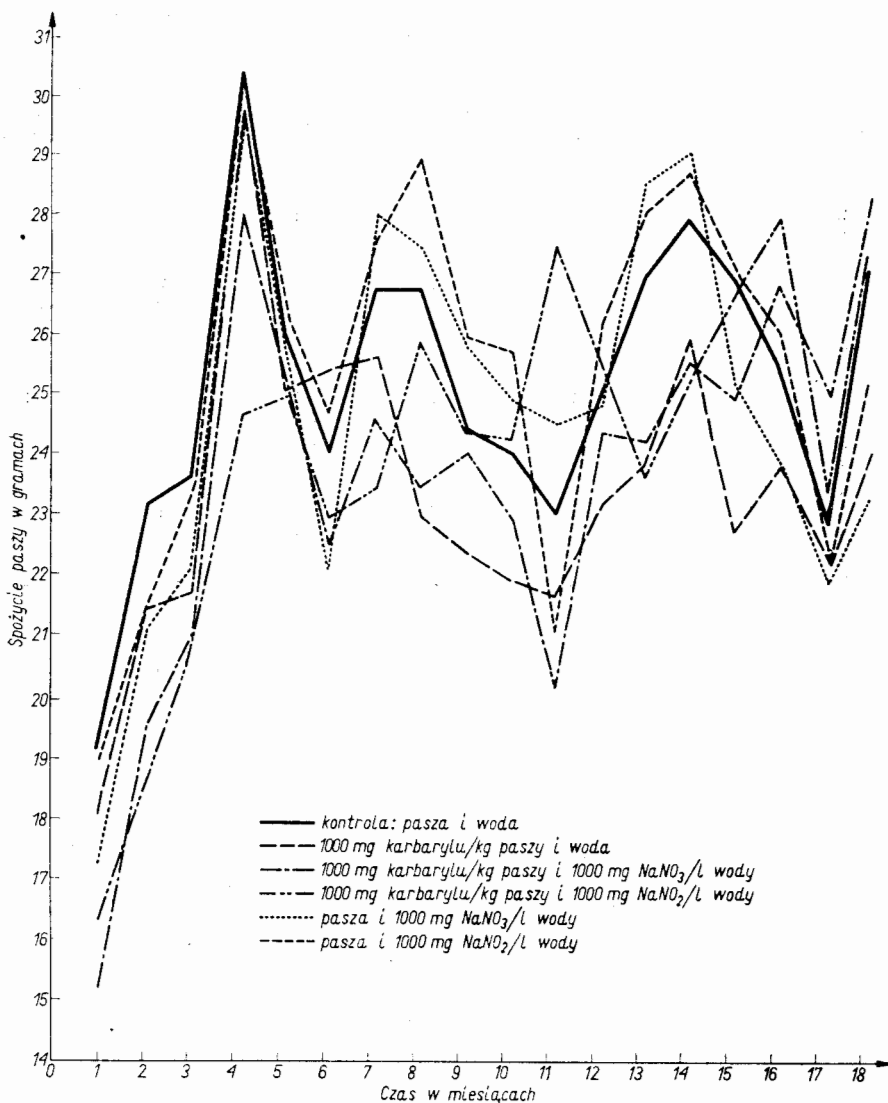
OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wygląd zewnętrzny i zachowanie się zwierząt w poszczególnych grupach doświadczalnych nie odbiegały od normy. W tabeli I podano śmiertelność zwierząt w czasie trwania doświadczenia. Najczęściej szczury padały w grupie otrzymującej karbaryl i azotyn sodu. Łącznie padło w tej grupie 80% zwierząt. W pozostałych grupach śmiertelność wyniosła około 40%.

Na ryc. 1, 2 i 3 zilustrowano kolejno: spożycie paszy, pobranie płynów oraz przyrost masy ciała zwierząt w czasie trwania doświadczenia. W ciągu pierwszych siedmiu miesięcy doświadczenia, w grupie szczurów otrzymujących karbaryl i azotyn sodu obserwowano zmniejszone spożycie paszy i przyjmowanie płynów, co wywarło również pewien wpływ na przyrost masy ciała w tym okresie. W pozostałej części doświadczenia nie zanotowano wyraźnego oddziaływania preparatów na badane parametry. W tabeli II przedstawiono średnie ilości pobieranego przez szczury karbarylu oraz azotanu i azotynu sodowego wyrażone w mg/kg masy ciała/dobę. W końcowych miesiącach doświadczenia można zauważyć wyraźne tendencje spadkowe w przyjmowaniu preparatów.

Zasadniczo nie stwierdzono wpływu podawanych preparatów zarówno na masę ciała, jak i na masę poszczególnych narządów wewnętrznych szczurów (tabela III).

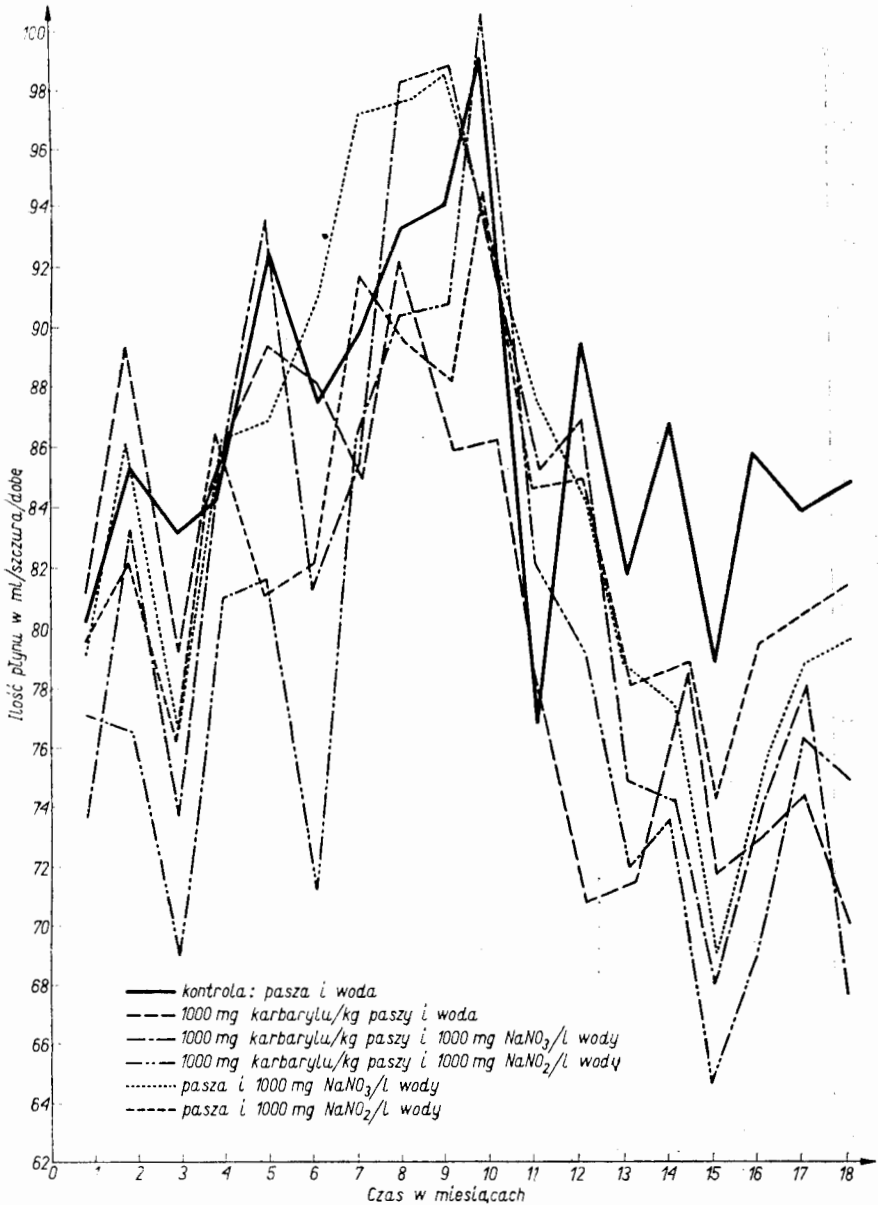
Ocena makroskopowa tych narządów u zwierząt badanych nie ujawniła także istotnych różnic w porównaniu z grupą kontrolną.



Ryc. 1. Spożycie paszy przez samce szczurów szczepu Wistar w doświadczeniu chronicznym długookresowym.

(Wyniki badań histologicznych zostały przedstawione w tabeli IV.

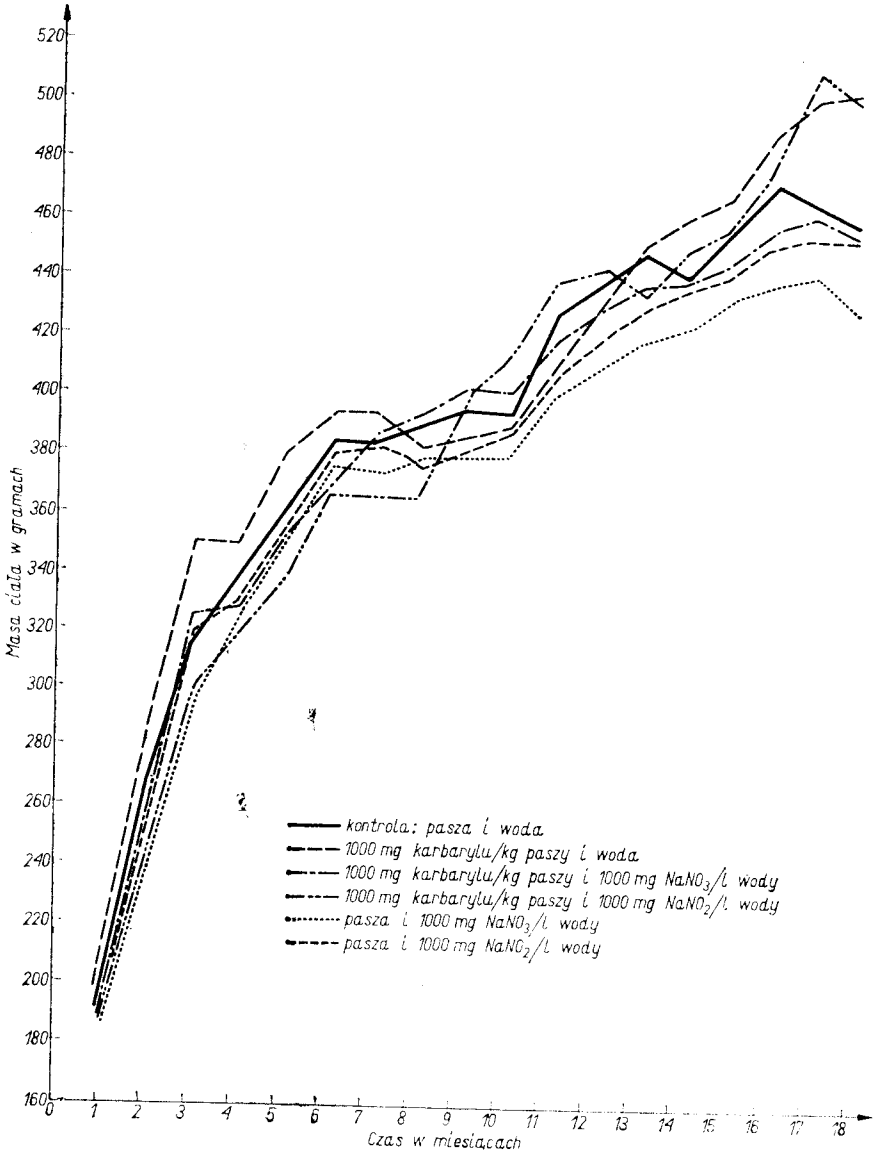
W niektórych grupach doświadczalnych u szczurów występowały zmiany w postaci zapalenia śródmiąższowego lub odoskrzelowego płuc, charakteryzujące się rozszanymi ogniskami zapalnymi w obrębie zrazików płucnych. Może to świadczyć o obniżonej odporności ustroju zwierząt, związanej przypuszczalnie z podawaniem badanych preparatów.



Ryc. 2. Przyjmowanie płynów przez samce szczurów szczepu Wistar w doświadczeniu chronicznym długookresowym.

W kilku grupach doświadczalnych stwierdzono także ropne zapalenie oskrzeli.

W grupie szczurów otrzymujących karbaryl i azotan sodu stwierdzono jeden gruczolak kory nadnercza.



Ryc. 3. Masa ciała samców szczurów szczepu Wistar w doświadczeniu chronicznym długookresowym.

Pojedyncze zmiany w wątrobie w postaci nieswoistych ziarniaków złożonych z komórek siateczki wystąpiły w grupach V i VI u szczurów otrzymujących azotan i azotyn sodu.

Badania mikroskopowe pozostałych narządów (nerek, śledziony, serca, mózgu, przysadki i gonad) nie wykazały zmian histopatologicznych.

Tabela II. Pobranie karbarylu w spożytej paszy oraz pobranie azotynu i azotanu sodowego w płynach w mg/kg m.c./dobę

Czas w miesiącach	Grupa I kontrolna	Grupa II karbaryl+H ₂ O	Grupa III karbaryl+NaNO ₃	Grupa IV karbaryl+NaNO ₂	Grupa V pasza+NaNO ₃	Grupa VI pasza+NaNO ₂					
1	—	92,4	—	79,6	386,1	87,0	409,5	—	439,1	—	403,2
2	—	76,4	—	74,2	316,4	70,0	287,6	—	325,4	—	302,5
3	—	62,9	—	64,1	227,7	65,4	217,4	—	247,2	—	238,3
4	—	85,6	—	86,1	265,7	75,0	248,8	—	264,5	—	252,9
5	—	67,3	—	71,6	258,3	72,6	236,1	—	245,0	—	224,4
6	—	64,1	—	60,3	216,6	61,7	190,0	—	239,0	—	212,8
7	—	65,7	—	63,6	221,8	63,5	233,0	—	257,7	—	232,6
8	—	61,4	—	61,0	256,3	70,3	246,2	—	256,2	—	234,5
9	—	57,8	—	59,1	246,5	60,7	224,7	—	260,2	—	224,8
10	—	53,1	—	56,4	231,6	58,1	240,0	—	255,8	—	241,7
11	—	49,7	—	47,9	202,4	61,8	184,8	—	216,7	—	203,8
12	—	52,3	—	56,4	200,4	56,9	177,6	—	204,3	—	197,0
13	—	53,3	—	55,7	169,5	54,8	163,2	—	186,6	—	180,0
14	—	55,8	—	57,7	166,8	56,2	163,4	—	180,7	—	178,1
15	—	49,2	—	55,4	146,5	57,5	139,5	—	159,8	—	167,9
16	—	49,1	—	57,4	157,9	57,9	144,4	—	171,8	—	175,4
17	—	45,5	—	54,6	152,6	46,3	149,4	—	175,9	—	167,3
18	—	49,0	—	61,1	145,6	55,5	151,8	—	183,5	—	176,8

Tabela III. Średnie masy ciała i niektórych narządów wewnętrznych szczurów w doświadczeniu chronicznym długookresowym

Masa	Grupa I (kontrolna)	Grupa II karbaryl+ woda	Grupa III karbaryl+NaNO ₃	Grupa IV karbaryl+NaNO ₂	Grupa V pasza+NaNO ₃	Grupa VI pasza+NaNO ₂
Masa ciała	482,86 ± 15,59	495,00 ± 17,39 P = 0,6171	481,67 ± 16,65 P = 1,0000	491,00 ± 42,05 P = 0,8440	474,00 ± 16,33 P = 0,6892	447,50 ± 14,85 P = 0,1096
Mózg	2,21 ± 0,065	2,18 ± 0,1008 P = 0,8414	1,92 ± 0,114 P = 0,0214	1,84 ± 0,2107 P = 0,034	2,126 ± 0,1066 P = 1,0000	2,265 ± 0,0674 P = 0,5485
Serce	1,714 ± 0,06	1,884 ± 0,090 P = 0,1336	1,699 ± 0,16 P = 0,3681	1,576 ± 0,07 P = 0,211	1,555 ± 0,04 P = 0,3173	1,754 ± 0,04 P = 0,5485
Wątroba	19,64 ± 0,78	20,38 ± 0,97 P = 0,4237	20,06 ± 0,97 P = 0,7642	18,73 ± 1,91 P = 0,6171	18,59 ± 0,84 P = 0,2301	19,22 ± 0,64 P = 0,6892
Płuca	3,57 ± 0,1074	3,96 ± 0,2861 P = 0,1936	3,74 ± 0,2319 P = 0,4839	3,58 ± 0,1524 P = 1,0000	4,18 ± 0,1916 P = 0,0069	4,02 ± 0,4947 P = 0,3681
Nerki	3,661 ± 0,14	3,819 ± 0,16 P = 0,3173	3,70 ± 0,16 P = 0,8414	3,596 ± 0,28 P = 0,9203	2,531 ± 0,70 P = 0,0455	3,749 ± 0,13 P = 0,6171
Śledziona	1,47 ± 0,085	1,34 ± 0,076 P = 0,2713	1,39 ± 0,088 P = 0,5485	1,55 ± 0,153 P = 0,623	1,50 ± 0,103 P = 0,8414	1,55 ± 0,065 P = 0,4839
Nadnercza	0,077 ± 0,0029	0,085 ± 0,0050 P = 0,1615	0,065 ± 0,0051 P = 0,0357	0,065 ± 0,0111 P = 0,152	0,083 ± 0,0035 P = 0,1936	0,084 ± 0,051 P = 0,2301
Gonady	3,04 ± 0,1646	3,51 ± 0,19 P = 0,0574	2,09 ± 0,1603 P = 0,8414	3,07 ± 0,2686 P = 0,922	3,43 ± 0,8683 P = 0,2301	3,14 ± 0,095 P = 0,6171
Przysadka	0,0139 ± 0,0012	0,0239 ± 0,0020 P = 0,00001	0,0156 ± 0,0027 P = 0,5485	0,0142 ± 0,0022 P = 0,8414	0,0238 ± 0,0020 P = 0,00001	0,0206 ± 0,0017 P = 0,0014
Tarczyca	0,048 ± 0,0035	0,068 ± 0,0053 P = 0,05774	0,044 ± 0,0087 P = 0,6171	0,028 ± 0,0045 P = 0,006	0,057 ± 0,0052 P = 0,1615	0,048 ± 0,0033 P = 1,0000
Serce/masa ciała	0,0036 ± 0,00007	0,0038 ± 0,00015 P = 0,1936	0,0035 ± 0,00030 P = 0,7642	0,0033 ± 0,00080 P = 0,9000	0,0037 ± 0,00012 P = 0,4237	0,0035 ± 0,00006 P = 3173
Wątroba/m. ciała	0,040 ± 0,00095	0,041 ± 0,0018 P = 0,6171	0,041 ± 0,0014 P = 0,5485	0,038 ± 0,0017 P = 0,331	0,040 ± 0,00077 P = 1,000	0,0042 ± 0,0015 P = 0,2713
Nerki/m. ciała	0,0076 ± 0,0002	0,0078 ± 0,0003 P = 0,6171	0,0076 ± 0,0001 P = 1,000	0,0074 ± 0,0007 P = 0,694	0,0080 ± 0,0002 P = 0,2713	0,0082 ± 0,0003 P = 0,1615

P — prawdopodobieństwo wystąpienia przypadkowych wartości w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną (obliczone testem *Studenta*)

Tabela IV. Zmiany mikroskopowe w narządach samców szczurów szczepu Wistar w doświadczeniu przewlekłym długookresowym

Zmiany mikroskopowe w narządach	Grupa I (kontrolna)	Grupa II karbaryl + pasza	Grupa III karbaryl + NaNO ₃	Grupa IV karbaryl + NaNO ₂	Grupa V pasza NaNO ₃ +	Grupa VI pasza + NaNO ₂
Płuca :						
zapalenie płuc śródmiąższowe	0/15	4/14	0/12	0/5	2/14	0/15
zapalenie płuc odoskrzelowe	0/15	0/14	4/12	0/5	0/14	0/15
ropne zapalenie oskrzeli	0/15	2/14	4/12	0/5	2/14	0/15
Nadnercza :						
gruczolak kory nadnercza	0/15	0/14	1/12	0/5	0/14	0/15
Wątroba :						
nieswoiste ziarniaki złożone z komórek siateczki	0/15	0/14	0/12	0/5	1/14	1/15

UWAGA: w kolumnach podano liczby szczurów, u których stwierdzono zmiany na ogólną liczbę badanych

T. Сыроватка, Ё. Баньковска, А. Юрек, Е. Пётровски,
Т. Назаревич

ВЛИЯНИЕ ОДНОВРЕМЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ НИТРАТА И НИТРИТА НАТРИЯ НА ТОКСИЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ КАРБАРИЛА В ХРОНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

Резюме

Исследовали влияние одновременного применения нитрата и нитрита натрия на токсичное действие инсектицида карбарила. Опыт продолжался 18 месяцев, проводился на самцах крыс линии Вистар подразделённых на 6 групп по 25 животных в каждой. Животные получали исследуемые вещества в корме и/или в питьевой воде. Группа I (контрольная) получала корм и воду без добавления веществ, группа II — 1000 мг карбарила/кг корма, группа III — 1000 мг карбарила/кг корма и 1000 мг нитрата натрия/л воды, группа IV — 1000 мг карбарила/кг корма и 1000 мг нитрита натрия/л воды, группа V — 1000 мг нитрата натрия в л воды, группа VI 1000 мг нитрита натрия в л воды.

Во время опыта внешний вид и поведение животных во всех группах не отличались от нормы. Максимальную смертность животных наблюдали в IV группе, в которой также потребление корма и воды было уменьшено.

Гистопатологическое исследование выбранных внутренних органов не показало специфических различий между группами животных получающих исследуемые препараты и контрольной группой.

T. Syrowatka, J. Bańkowska, A. Jurek, J. Piotrowski,
T. Nazarewicz

EFFECT OF SIMULTANEOUS ADMINISTRATION OF SODIUM NITRATE AND NITRITE ON THE TOXICITY OF CARBARYL IN LONG-TERM INVESTIGATIONS

Summary

The effect of simultaneous administration of sodium nitrite and nitrate on the toxicity of carbaryl insecticide was studied. The experiment lasted 18 months and was carried out on male Wistar rats in 6 groups of 25 animals in each. The

rats were given the tested substances with food and/or drinking water in the following way: group 1 (control) received food and water without these substances, group 2 — 1000 mg of carbaryl/kg of food, group 3 — carbaryl 1000 mg/kg of food and sodium nitrate 1000 mg/l of water, group 4 — carbaryl 1000 mg/kg of food and sodium nitrite 1000 mg/l of water, group 5 — sodium nitrate 1000 mg/l of water, group 6 — sodium nitrite 1000 mg/l of water.

During the experiment the appearance and behaviour of the rats in all groups were normal. The highest death rate was in group 4, in which food intake and water drinking were also diminished.

Histological examinations of the internal organs failed to show specific differences between the groups of experimental rats and the control group.

PIŚMIENNICTWO

1. *Ender F., Cech L.*: Conditions and chemical reaction mechanisms by which nitrosamines may be formed in biological products with references to their possible occurrence in food products. *Z. Lebensmittel-Untersuchung und Firsch.* 1971, 145, 133. — 2. *Lijinsky W., Epstein S.*: Nitrosamines as environmental carcinogens. *Nature*, 1970, 225, 21. — 3. *Mirvish S.S.*: Formation of N-nitrosocompounds, chemistry, kinetics and *in vivo* occurrence. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1975, 31, 325. — 4. *Bogovski P., Preussman R., Walker E.A.*: N-nitroso-compounds, analysis and formation. International Agency for Research on Cancer, Scientific Publication 1972, 3. — 5. *Sander J.*: Untersuchungen über die Entstehung cancerogener Nitrosverbindungen in Magen von Versuchstieren und ihre Bedeutung für den Menschen. *Arzneim. Forsch.*, 1971, 21, 3. — 6. *Sen N.P., Smith D.C., Schwinghamer L.*: Formation of Nitrosamines from secondary amines and nitrite in human and animal gastric juice. *Food Cosmet. Toxicol.*, 1969, 7, 301.

Dn. 19.III.1981 r.

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24