

Zakład Higieny Ogólnej, Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Zbigniew Borzęcki

Alicja WÓJCIK, Zbigniew BORZĘCKI, Urszula TYSZKO,
Grażyna BUREK

Wpływ przewlekłego działania związku ołowiu na zachowanie się zwierząt doświadczalnych

Влияние длительного действия соединения свинца на поведение подопытных животных

The Influence of the Long-lasting Treatment with the Lead Compound on Experimental Animals

Intensywny rozwój przemysłu i motoryzacji oraz chemizacja rolnictwa, a także powstanie wielkich aglomeracji miejsko-przemysłowych — to czynniki powodujące degradację środowiska naturalnego oraz wywołujące poważne i niekorzystne zmiany stanu zdrowia populacji ludzkiej. Bardzo dużą toksyczność wykazują metale ciężkie, jak ołów, kadm, rtęć. Wśród metali ciężkich ołów jest najbardziej rozpowszechnionym metalem w środowisku człowieka, stanowiąc istotne zagrożenie toksykologiczne (6, 8, 9, 12).

Narażenie na działanie małych dawek związku ołowiu, ale przy stałej ekspozycji pochodzącej z otaczającego środowiska, przyczynia się do rozwoju zespołu subklinicznego zatrucia, charakteryzującego się zaburzeniami enzymatycznymi. Toksyczne działanie ołowiu polega na szkodliwym wpływie na układy enzymatyczne, wewnątrzkomórkowy metabolizm (1, 10, 12, 15). Mikrointoksykacja ołowiem prowadzi do uszkodzenia systemu nerwowego: ośrodkowego i obwodowego (4, 6, 7, 11).

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu różnych dawek związku ołowiu na ośrodkowy układ nerwowy zwierząt doświadczalnych w przewlekłym narażeniu.

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na białych myszach samcach szczepu Albino Swiss o m.c. 17–25 g. Zwierzętom podawano dootrzewnowo (i.p.) roztwór octanu ołowiu w dawkach: 1, 5, 10, 15 mg/kg m.c. przez 30 dni. Każda grupa liczyła 8–10 zwierząt. Zwierzęta grupy kontrolnej otrzymywały w odpowiedniej ilości rozpuszczalnik (wodę redestylowaną). Uzyskane wyniki badań zestawiono w postaci średnich i opracowano statystycznie, posługując się testem t — Studenta dla dwóch średnich z małych prób. Przyjęto poziom istotności $p \leq 0,05$ (13). Wykonano następujące badania wpływu związku ołowiu na ośrodkowy układ nerwowy zwierząt:

- 1) na koordynację ruchową myszy,
- 2) na ruchliwość spontaniczną,
- 3) na ruchliwość poznawczą,
- 4) na zachowanie w teście pręta prostego,
- 5) na temperaturę ciała myszy.

W badaniach biochemicznych określono poziom neuroprzekaźników układu adrenergicznego: noradrenaliny (NA) i dopaminy (DA) w mózgu myszy.

WYNIKI

Badania wykazały, że związek łożowiu działa na ośrodkowy układ nerwowy. Koordynacja ruchowa myszy na pręcie obrotowym w miarę wzrostu zastosowanych dawek tego związku i czasu ekspozycji ulegała w porównaniu z grupą kontrolną znacznemu zaburzeniu. Najbardziej nasilone jej zmniejszenie zaobserwowano po zastosowaniu dawki maksymalnej (tab. 1). Na skutek działania tego związku zmniejszała się również ruchliwość spontaniczna zwierząt w porównaniu z grupą kontrolną (tab. 2). Stwierdzono też obniżanie się ruchliwości poznawczej, postępujące wraz ze zwiększaniem podawanej dawki związku łożowiu oraz czasu narażenia (tab. 3). Obserwując zachowanie się myszy na pręcie prostym po podaniu kolejno wszystkich dawek stosowanego związku nie stwierdzono zaburzenia w utrzymywaniu się zwierząt, jednak po wysokich dawkach myszy wykazywały znaczne ograniczenie ruchów pionowych. Nie zauważono istotnego wpływu podawanego związku łożowiu na ciepłotę ciała myszy. Dawka maksymalna nieznacznie działała hipotermicznie (tab. 4).

Z badań biochemicznych wynika, że podawany zwierzętom związek łożowiu nieistotnie obniżał poziom noradrenaliny (NA) i podwyższał poziom dopaminy (DA), proporcjonalnie do wysokości dawki i długości czasu ekspozycji (tab. 5).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Następstwem narastającej dynamicznie emisji związków łożowiu do środowiska jest wzrost liczby przewlekłych zatruc. Ten czynnik patogeniczny może być jednym z dominujących, w związku z tym należy prowadzić odpowiednie działania, mające na celu określenie stopnia narażenia i ewentualnego przewidywania negatywnego wpływu na zdrowie populacji ludzkiej. W celu ustalenia bezpieczeństwa przeprowadzane są różne testy, które pozwolą na doświadczalne określenie bezpiecznej ekspozycji dla człowieka. U podstaw toksyczności łożowiu leży oddziaływanie na systemy enzymatyczne oraz zdolność kumulacji, prowadząca do zmian biochemicznych i ultrastrukturalnych w komórkach wewnętrznych ustroju (5, 6, 9, 10, 12). Związki łożowiu działają toksycznie również na obwodowy i ośrodkowy układ nerwowy. Mechanizm neurotoksycznego działania tego metalu nie jest w pełni poznany (9, 10, 11, 16).

Tab. 1. Wpływ związku ołowiu na koordynację ruchową myszy, wyrażoną liczbą zwierząt utrzymujących się na przecie obrotowym
Effect of lead compound on motorial activity of mice, expressed in number of animals keeping hold of revolving rod

Observacje po podaniu i.p. octanu ołowiu	Grupa kontrolna (K)	Zastosowane dawki octanu ołowiu w mg/kg m.c.			
		1	5	10	15
3	9	7	9	6	6
7		8	8	6	5
10		8	8	5	5

Tab. 2. Wpływ związku ołowiu na ruchliwość spontaniczną myszy
Effect of lead compound on spontaneous activity of mice

Observacje po podaniu i.p. octanu ołowiu	Grupa kontrolna (K)	Zastosowane dawki octanu ołowiu w mg/kg m.c.			
		1	5	10	15
7	327,72	252,40	270,00	275,00	229,10
10		254,25	266,47	311,22	199,52

Tab. 3. Wpływ związku ołowiu na ruchliwość poznawczą myszy
Effect of lead compound on cognitive mobility of mice

Observacje po podaniu i.p. octanu ołowiu	Grupa kontrolna (K)	Zastosowane dawki octanu ołowiu w mg/kg m.c.			
		1	5	10	15
3	15,30	13,80	18,63	23,20	16,30
7		16,83	16,90	18,90	12,46
10		14,90	15,76	17,07	12,00

Tab. 4. Wpływ związku ołowiu na temperaturę ciała myszy w °C
Effect of lead compound on body temperature of mice in °C

Observacje po podaniu i.p. octanu ołowiu	Grupa kontrolna (K)	Zastosowane dawki octanu ołowiu w mg/kg m.c.			
		1	5	10	15
3	37,65	37,14	36,73	37,08	36,40
7		37,30	36,95	37,22	36,84
10		37,30	37,08	37,41	36,88

Tab. 5. Wpływ związku ołowiu na poziom noradrenaliny (NA) i dopaminy (DA) w mózgu myszy
Effect of lead compound on level of noradrenalin (NA) and dopamin (DA) in mouse brain

Zastosowane dawki octanu ołowiu w mg/kg m.c.	Zawartość w µg/g świeżej tkanki	
	NA	DA
K	0,580	0,881
1	0,565	0,903
5	0,538	1,139
10	0,426	1,275
15	0,480	1,347

W przeprowadzonych badaniach na myszach poddanych przewlekłej ekspozycji na działanie związku ołowiu wykazano hamujący wpływ na ośrodkowy układ nerwowy. Zaobserwowane znaczne zaburzenie koordynacji ruchowej wraz ze wzrostem zastosowanych dawek oraz czasu ekspozycji może być efektem kumulacji badanego związku w organizmie myszy. Wynikiem tego efektu kumulacyjnego jest również zmniejszenie aktywności spontanicznej oraz poznawczej zwierząt, zwłaszcza po zastosowaniu maksymalnej dawki. Kumulacja ołowiu zaburza czynność wielu mechanizmów biologicznych (8, 16). Stwierdzono wpływ ołowiu na zachowanie się potomstwa zwierząt doświadczalnie narażonych, wyrażające się w powolniejszej eksploracji otoczenia (3). Toksyczne związki ołowiu wywołują zmiany neurochemiczne. Ołów wzmacnia funkcję układu noradrenergicznego, hamuje zaś aktywność układu cholinergicznego (1, 2, 14).

W przeprowadzonych badaniach wraz ze wzrostem stosowanych dawek stwierdzono proporcjonalnie podwyższony poziom dopaminy, natomiast poziom noradrenaliny ulegał obniżeniu. Badania z zakresu biochemii toksykologicznej ołowiu są bardzo fragmentaryczne. Nie wyjaśniono jeszcze w pełni mechanizmu zmian funkcji neurochemicznych mózgu, powstałych pod wpływem działania ołowiu.

Narażenie populacji ludzkiej na toksyczne związki ołowiu jest bardzo duże ze względu na ich wszechobecność w otaczającym środowisku. Należy zmierzać więc do określenia stopnia szkodliwości i intensywności zmian, wykorzystując wyniki modelowych badań doświadczalnych.

Wnioski

1. W zależności od dawki i czasu ekspozycji związki ołowiu zaburzają koordynację ruchową oraz obniżają aktywność spontaniczną i poznawczą myszy.

2. Po zastosowaniu związku ołowiu poziom dopaminy w mózgu myszy proporcjonalnie wzrasta, natomiast poziom noradrenaliny w podobny sposób ulega obniżeniu.

3. Po podaniu związku ołowiu zmiany w zachowaniu się zwierząt oraz zmiany neurochemiczne mogą być wynikiem zaburzenia w przewodnictwie nerwowym obwodowym i ośrodkowego układu nerwowego.

PIŚMIENNICTWO

1. Blainstein M. P., O'born G. J.: The Influence of Sodium on Calcium Fluxes in Pinched-off Nerve Terminals *in vitro*. *J. Physiol. (London)* **245**, 657, 1975.
2. Carrol P. T. i wsp.: Alteration of Central Cholinergic Function by Chronic Lead Acetate Exposure. *Biochem. Pharmacol.* **26**, 397, 1977.
3. Cremer J. E., Callaway S.: Further Studies on the Toxicity of Some Tetra — and Trialkyl Lead Compounds. *Briz. J. Ind. Med.* **18**, 277, 1961.

4. Christophers A. J.: Environmetal Lead Question. *Med. J. Aust.* **2**, 296, 1980.
5. Dutkiewicz T.: *Chemia toksykologiczna*. PZWL, Warszawa 1974.
6. Farbiszewski R., Gabryel H.: *Kancerogeneza wywołana przez metale*. *Bromat. Chem. Toksykol.* **2**, 189, 1981.
7. Galzinga L. i wsp.: *Excretion of 5-hydroxyindole Acetic Acid in Experimentale Tetraethyllead Poisoning*. *Med. Lavoro.* **55**, 102, 1964.
8. Głowiak G. i wsp.: *Podstawy ochrony środowiska*. PWN, Warszawa 1985.
9. Kittel M.: *Toksykodynamika przewlekłych zatruc małymi dawkami ołowiu*. *Post. Hig. Dośw.* **37**, 325, 1983.
10. Marek M.: *Kliniczna patologia zawodowa*. PZWL, Warszawa 1982.
11. Niezbrzycka-Andrzejewska K. i wsp.: *Stężenie miedzi i ołowiu oraz aktywność cholinesterazy we krwi i dehydratazy kwasu aminolewulinowego w krwinkach czerwonych u dzieci zamieszkałych w pobliżu huty miedzi*. *Pol. Tyg. Lek.* **16**, 663, 1976.
12. Nikonorow M.: *Zanieczyszczenia chemiczne i biologiczne żywności*, WNT, Warszawa 1980.
13. Okta W.: *Elementy statystyki matematycznej i metodyka doświadczalna*. PWN, Warszawa 1976.
14. Silbergeld R. K., Goldberg A. M.: *Pharmacological and Neurochemical Investigations of Lead-induced Hyperactivity*. *Neuropharmacol* **14**, 431, 1975.
15. Shih Tsung-Ming, Hanin J.: *Chronic Lead in Immature Animals Neurochemical Correlates*. *Life Sci.* **23**, 877, 1978.
16. Stowe H. D. i wsp.: *Experimental Oral Lead Toxicity in Young Dogs*. *Arch. Pathol.* **95**, 106, 1973.

Otrzymano 23 XII 1986.

РЕЗЮМЕ

Целью проведенных исследований было определение влияния соединения свинца на поведение подопытных животных в длительной экспозиции. Животные были подвергнуты испытанию определяющее влияние на координацию движений, произвольную подвижность, познавательный процесс, на поведение в испытании прямого прута, а также на температуру тела мышей. Проведено биохимические исследования, определяющие уровень норадреналина и допамина в мозгу мышей. В результате длительной экспозиции на действие соединения свинца обнаружено тормозящее влияние на центральную нервную систему мышей. Исследуемое соединение не влияло на температуру тела животных. Уровень допамина в мозгу повышается пропорционально с применяемой дозой, зато уровень норадреналина подвергается снижению. Биехвиоральные и неврохимические изменения наблюдаемые у подопытных животных могут быть результатом кумулятивного эффекта соединения свинца.

SUMMARY

The aim of the carried out studies was to estimate the influence of the lead compound on the behaviour of the experimental animals during the long-lasting exposition. The animals were tested to estimate the influence of the lead compound on the motorial coordination, spontaneous mobility, cognitive activity, behaviour in the rod test; the body temperature of mice was also checked. The performed biochemical studies were to estimate the level of noradrenalin and dopamin in mice's brain.

As the result of the long-lasting exposition to the treatment with lead compound the inhibitory effect on the central nervous system of mice was revealed. The examined compound had no effect on the body temperature of animals. The level of dopamin in brain increased proportionally to the employed dose and the level of noradrenalin was diminished. The behavioral and neurochemical changes may be caused by cumulative effect of the lead compound.