

Zakład Higieny Ogólnej. Instytut Medycyny Społecznej. Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: doc. dr hab. Zbigniew Borzęcki

Alicja WÓJCIK, Alicja SKOWROŃSKA, Zbigniew BORZĘCKI,  
Grażyna BUREK

### Ocena zachowania się zwierząt doświadczalnych po łącznym zastosowaniu różnych dawek ołowiu i kadmu

Поведение подопытных животных подвергаемых продолжительной экспозиции кумулятивного применения свинца и кадмия

Behaviour of Experimental Animals Subjected to the Long-term Exposure of Joint Administration of Lead and Cadmium

Metale ciężkie, a szczególnie ołów i kadm, uznawane są powszechnie za największe zagrożenie chemiczne środowiska. Długotrwała ekspozycja na niskie stężenia tych metali, wykazujących właściwości kumulacyjne, prowadzi do różnorodnych zaburzeń ustrojowych na poziomie klinicznym i subklinicznym, często nieodwracalnych, ujawniających się po wielu latach. Ołów i kadm wykazują silne właściwości toksyczne, gdyż działają szkodliwie na wewnątrzkomórkowy metabolizm (4, 6, 7, 10, 13).

W chwili obecnej niebezpieczeństwo przewlekłych zatruc metalami ciężkimi stanowi częstą przyczynę chorób u ludzi (2, 3, 5, 6, 7). Człowiek w otaczającym środowisku jest narażony na wiele szkodliwych czynników jednocześnie. Wynika stąd potrzeba prowadzenia systematycznych badań, mających na celu wykrywanie toksycznych substancji oraz określanie oddziaływania ich na ustrój. Badania eksperymentalne na zwierzętach doświadczalnych dają możliwość obserwacji zachowania danej populacji w aspekcie narażenia jej na różne czynniki toksyczne.

Założeniem pracy była ocena zachowania się zwierząt doświadczalnych poddanych przewlekłemu działaniu związków ołowiu i kadmu podawanych łącznie.

#### MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na myszach samcach szczepu Albino Swiss o m.c. 16–30 g. Każda grupa liczyła 8–10 zwierząt. Badane substancje: octan ołowiu i chlorek kadmu podawano łącznie drogą dootrzewnową (i.p) przez 30 dni. Octan ołowiu w dawkach 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 mg/kg m.c. oraz chlorek kadmu w dawkach: 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 mg/kg m.c. Zwierzętom grupy kontrolnej podawano

w odpowiedniej ilości rozpuszczalnik (wodę redestylowaną). Uzyskane wyniki zestawiono w postaci średnich i poddano analizie statystycznej posługując się testem *t* — Studenta dla dwóch średnich z małych prób (9). Wykonano badania określające wpływ stosowanych związków na ośrodkowy układ nerwowy zwierząt doświadczalnych, a mianowicie:

- 1) na koordynację ruchową;
- 2) na ruchliwość spontaniczną;
- 3) na ruchliwość poznawczą;
- 4) na ruchliwość w teście pręta prostego;
- 5) na ciepłość ciała.

## WYNIKI

Analiza zachowania się zwierząt na obracającym się pręcie wykazała, że wraz ze wzrostem dawek zastosowanych związków następował znaczny spadek ich aktywności ruchowej. Po 3-, 7- i 10-krotnej iniekcji dawek: 1,0 mg/kg m.c. octanu ołowiu i 0,1 mg/kg m.c. chlorku kadmu oraz odpowiednio: 2,5 i 0,25 mg/kg m.c. stwierdzono koordynację ruchową myszy zbliżoną do grupy kontrolnej. Natomiast dawki: 5,0 mg/kg m.c. octanu ołowiu i 0,5 mg/kg m.c. chlorku kadmu oraz odpowiednio 10,0 i 1,0 mg/kg m.c. powodowały znaczne zmniejszenie aktywności ruchowej, najbardziej widoczne po 7- i 10-krotnej iniekcji (tab. 1).

Tab. 1. Wpływ stosowanych związków na koordynację ruchową myszy  
Effect of applicable compounds on motorial activity of mice

Observacje po podaniu i.p.	Liczba zwierząt utrzymujących się na pręcie obrotowym po zastosowaniu dawek octanu ołowiu i chlorku kadmu w mg/kg m.c.				
	Grupa kontrolna	1,0 + 0,1	2,5 + 0,25	5,0 + 0,5	10,0 + 1,0
1	n = 10 5	n = 10 6	n = 10 1	n = 10 10	n = 10 10
3	n = 9 6	n = 9 5	n = 10 6	n = 8 3	n = 10 7
7	n = 9 7	n = 9 7	n = 10 9	n = 7 4	n = 9 5
10	n = 9 8	n = 9 7	n = 10 6	n = 6 4	n = 9 6

*n* – liczba zwierząt w badanej grupie.

Ruchliwość spontaniczna po 1-krotnej iniekcji (i.p.) badanych związków uległa nieznacznym zmianom w porównaniu z grupą kontrolną. Dawki 1,0 mg/kg m.c. octanu ołowiu i 0,1 mg/kg m.c. chlorku kadmu oraz odpowiednio 2,5 i 0,25 mg/kg m.c. po 7-krotnej i.p. nieistotnie zmniejszały ruchliwość spontaniczną myszy, podobne zachowanie obserwowano po dawkach: 5,0 mg/kg m.c. octanu ołowiu i 1,0 mg/kg m.c. chlorku kadmu oraz odpowiednio 10,0 i 1,0 mg/kg m.c. Dopiero po 10-krotnej iniekcji obu związków stwierdzono

Tab. 2. Wpływ stosowanych związków na ruchliwość spontaniczną myszy  
(wartości średnie -  $\bar{x} \pm SD$ )  
Effect of applicable compounds on spontaneous activity of mice  
(middle value -  $\bar{x} \pm SD$ )

Observacje po podaniu i.p.	Zastosowane dawki octanu ołowiu i chlorku kadmu w mg/kg m.c.				
	Grupa kontrolna	1,0 + 0,1	2,5 + 0,25	5,0 + 0,5	10,0 + 1,0
1	n = 10 439,0	n = 10 281,5 ± 7,84 t = 1,822	n = 10 546,6 ± 19,01 t = 1,035	n = 10 298,3 ± 13,79 t = 1,491	n = 10 744,0 ± 16,69 t = 0,352
3	n = 9 488,2	n = 9 447,0 ± 27,47 t = 0,297	n = 10 393,3 ± 13,7 t = 0,898	n = 8 394,8 ± 16,53 t = 0,773	n = 10 437,1 ± 14,84 t = 0,475
7	n = 9 384,3	n = 9 410,3 ± 19,13 t = 0,308	n = 10 411,4 ± 15,07 t = 0,379	n = 7 375,6 ± 9,55 t = 0,129	n = 9 380,0 ± 13,04 t = 0,06
10	n = 9 398,1	n = 9 383,2 ± 23,59 t = 0,137	n = 10 396,8 ± 21,09 t = 0,013	n = 6 352,6 ± 11,09 t = 0,479	n = 9 318,4 ± 12,15 t = 0,975

statystycznie nieznamienne obniżenie ruchliwości spontanicznej w porównaniu z grupą kontrolną. Analizując zachowanie się zwierząt w zależności: dawka–czas ekspozycji zaobserwowano największe zmniejszenie aktywności spontanicznej po 10-krotnej iniekcji maksymalnych dawek związków ołowiu i kadmu (tab. 2).

Aktywność poznawcza myszy po 1- i 3-krotnej iniekcji łącznie związków ołowiu i kadmu wzrosła w porównaniu z grupą kontrolną. Dawki octanu ołowiu 2,5 mg/kg m.c. i chlorku kadmu 0,25 mg/kg m.c. oraz odpowiednio 10,0 i 1,0 mg/kg m.c. po 1-krotnej i.p. powodowały statystycznie istotnie większą liczbę zagładnięć myszy w teście aktywności poznawczej niż w grupie kontrolnej. Natomiast obserwacje po 7- i 10-krotnej i.p. dawek octanu ołowiu 5,0 mg/kg m.c. i chlorku kadmu 0,5 mg/kg m.c. oraz odpowiednio 10,0 i 1,0 mg/kg m.c. wykazały obniżoną ruchliwość poznawczą myszy. Dawki octanu ołowiu 1,0 mg/kg m.c. i chlorku kadmu 0,1 mg/kg m.c. oraz odpowiednio 2,5 i 0,25 mg/kg m.c. nieistotnie zwiększyły liczbę zagładnięć zwierząt do otworów w porównaniu z grupą kontrolną. Analiza aktywności poznawczej myszy, uwzględniająca czas ekspozycji i dawki, wykazała znaczne obniżenie się aktywności poznawczej wraz ze wzrostem stosowanych dawek i zwiększaniem czasu narażenia. Po 10-krotnej iniekcji dootrzewnowej dawek maksymalnych najbardziej obniżała się aktywność poznawcza zwierząt (tab. 3).

Obserwacje myszy na przecie prostym w pionie wykazały, że zastosowane dawki octanu ołowiu i chlorku kadmu nie wpływały istotnie na zmianę w zachowaniu się tych zwierząt. Jednak ruchliwość myszy w pionie na przecie prostym po zastosowaniu dawek najwyższych była ograniczona.

Tab. 3. Wpływ stosowanych związków na ruchliwość poznawczą myszy  
(wartości średnie -  $\bar{x} \pm SD$ )  
Effect of applicable compounds on cognitive mobility of mice  
(middle value -  $\bar{x} \pm SD$ )

Observacje po podaniu i.p.	Zastosowane dawki octanu ołowiu i chlorku kadmu w mg/kg m.c.				
	Grupa kontrolna	1,0 + 0,1	2,5 + 0,25	5,0 + 0,5	10,0 + 1,0
1	n = 10 24,6	n = 10 26,4 $\pm$ 1,13 t = 0,378	n = 10 39,9 $\pm$ 0,76* t = 3,963	n = 10 34,3 $\pm$ 1,41 t = 1,773	n = 10 35,0 $\pm$ 0,89* t = 2,502
3	n = 9 22,8	n = 9 22,3 $\pm$ 0,94 t = 0,069	n = 10 34,7 $\pm$ 2,45 t = 1,129	n = 8 23,6 $\pm$ 1,2 t = 0,1	n = 10 33,1 $\pm$ 1,34 t = 1,346
7	n = 9 21,6	n = 9 23,2 $\pm$ 1,17 t = 0,274	n = 10 24,0 $\pm$ 1,43 t = 0,376	n = 7 17,1 $\pm$ 0,62 t = 0,864	n = 9 15,7 $\pm$ 0,98 t = 1,097
10	n = 9 12,7	n = 9 13,2 $\pm$ 1,08 t = 0,108	n = 10 16,1 $\pm$ 1,19 t = 0,7	n = 6 8,3 $\pm$ 0,28 t = 1,283	n = 9 11,8 $\pm$ 0,92 t = 0,214

\* Istotność statystyczna -  $p \leq 0,05$ .

Tab. 4. Wpływ stosowanych związków na temperaturę ciała myszy w °C  
(wartości średnie -  $\bar{x} \pm SD$ )  
Effect of applicable compounds on body temperature of mice in °C  
(middle value -  $\bar{x} \pm SD$ )

Observacje po podaniu i.p.	Zastosowane dawki octanu ołowiu i chlorku kadmu w mg/kg m.c.				
	Grupa kontrolna	1,0 + 0,1	2,5 + 0,25	5,0 + 0,5	10,0 + 1,0
1	n = 10 38,6	n = 10 38,5 $\pm$ 0,05 t = 0,568	n = 10 39,8 $\pm$ 0,07* t = 4,285	n = 10 39,7 $\pm$ 0,08* t = 3,778	n = 8 40,9 $\pm$ 0,03* t = 13,958
3	n = 9 37,4	n = 9 37,7 $\pm$ 0,08 t = 1,193	n = 10 37,3 $\pm$ 0,08 t = 0,281	n = 8 36,7 $\pm$ 0,08 t = 1,587	n = 10 37,6 $\pm$ 0,04 t = 0,746
7	n = 9 37,2	n = 9 37,6 $\pm$ 0,04 t = 1,193	n = 10 37,5 $\pm$ 0,05 t = 0,969	n = 7 36,5 $\pm$ 0,09 t = 1,587	n = 9 36,8 $\pm$ 0,09 t = 0,883
10	n = 9 38,5	n = 9 38,0 $\pm$ 0,05 t = 2,002	n = 10 37,7 $\pm$ 0,08 t = 2,279	n = 6 37,3 $\pm$ 0,08 t = 2,945	n = 9 38,2 $\pm$ 0,08 t = 0,829

\* Istotność statystyczna -  $p \leq 0,05$ .

Badając wpływ łącznego zastosowania octanu ołowiu i chlorku kadmu na temperaturę ciała zwierząt stwierdzono istotne jej podwyższenie po 1-krotnej iniekcji (i.p.) dawek: 2,5 mg/kg m.c. octanu ołowiu i 0,25 mg/kg m.c. chlorku

kadmu oraz odpowiednio 5,0 i 10,0 mg/kg m.c. Natomiast po 3-, 7-, 10-krotnym zastosowaniu i.p. toksycznych związków temperatura ciała myszy była zbliżona lub nieco obniżona w każdej badanej grupie w porównaniu z grupą kontrolną. Statystycznie istotne obniżenie temperatury ciała zwierząt obserwowano dopiero po 10-krotnym zastosowaniu łącznych dawek: octanu ołowiu 2,5 mg/kg m.c. i chlorku kadmu 0,25 mg/kg m.c. oraz odpowiednio 5,0 i 0,5 mg/kg m.c. (tab. 4).

### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Postępująca urbanizacja, chemizacja rolnictwa, a zwłaszcza rozwijający się przemysł i motoryzacja, emitując do otaczającego środowiska toksyczne substancje chemiczne, stwarzają realne niebezpieczeństwo przewlekłych zatruc, których skutki biologiczne mogą obciążać przyszłe pokolenia. Wśród substancji toksycznych największe zagrożenie stanowią związki metali ciężkich, a szczególnie ołowiu i kadmu (2, 3, 10, 13). Metale te i ich związki z uwagi na powszechne występowanie w otaczającym środowisku i niekorzystne oddziaływanie na organizmy żywe są przedmiotem licznych badań (3, 5, 7). Długotrwałe badania eksperymentalne na zwierzętach doświadczalnych mogą przyczynić się do poznania oddziaływania tych substancji toksycznych na zachowanie się populacji żywej oraz poznania ich wewnątrzustrojowej interakcji.

W przeprowadzonych badaniach eksperymentalnych na zwierzętach doświadczalnych wykazano hamujący wpływ toksycznych związków ołowiu i kadmu na ośrodkowy układ nerwowy. Aktywność ruchowa myszy w teście koordynacji ruchowej uległa znacznemu obniżeniu w miarę wzrostu stosowanych dawek i zwiększania czasu ekspozycji. Stwierdzone zaburzenia w zachowaniu się zwierząt na obracającym się pręcie mogą być wynikiem kumulowania się toksycznych związków w ich tkankach. Analizując aktywność spontaniczną nie stwierdzono różnic w zachowaniu się zwierząt, jednak wraz ze wzrostem stosowanych dawek i zwiększaniem czasu ekspozycji ruchliwość spontaniczna ulegała obniżaniu. Może to być wynikiem odkładania się związków ołowiu i kadmu w organizmie. Największy efekt kumulacyjny obserwowano po zastosowaniu maksymalnych dawek. W teście ruchliwości poznawczej przy krótkiej ekspozycji nastąpił wzrost aktywności ruchowej, ale wraz ze wzrostem dawek i zwiększaniem czasu ekspozycji obserwowano obniżenie aktywności poznawczej. Podobny efekt uzyskano w doświadczeniach dotyczących działania związków ołowiu i kadmu stosowanych oddzielnie (1, 12). Efekt ten może być wynikiem nagromadzenia się w organizmie badanych zwierząt toksycznych metali ciężkich, a szczególnie w tkankach ich układu nerwowego. Ciężota ciała myszy normotermicznych po 1-krotnej iniekcji toksycznych związków uległa podwyższeniu. Na skutek zwiększania stosowanych dawek i czasu narażenia następowało obniżanie się temperatury ciała zwierząt, początkowo nieznaczne, a po 10-krotnej iniekcji (i.p.) statystycznie istotne.

Zaburzenia w zachowaniu się zwierząt doświadczalnych poddanych łącznej ekspozycji na związki ołowiu i kadmu mogą być wywołane nagromadzeniem się w ustroju tych związków, wykazują one bowiem silne właściwości kumulacyjne. Obserwacje zachowania się zwierząt w odpowiednich testach behawioralnych potwierdziły zmiany w zależności dawka–efekt. Prawdopodobnie efekty kumulacyjne spotęgowane były łącznym zastosowaniem związków metali ciężkich. Kumulacja tych metali nie jest obojętna dla metabolizmu wewnątrzkomórkowego, może prowadzić do zmian biochemicznych i ultrastrukturalnych (4, 6, 13). W badaniach eksperymentalnych na zwierzętach wykazano, że związki metali ciężkich wywołują trwałe zmiany morfologiczne i fenotypowe oraz indukują zmiany patologiczne w różnych narządach (5, 6). W doświadczalnym zatrutowaniu zwierząt związkami ołowiu i kadmu dochodzi do zmian morfologicznych w mózgowiu, co świadczy o dużej toksyczności tych metali w odniesieniu do tkanki nerwowej (8, 11, 14). Nie jest jeszcze w pełni poznany udział ołowiu i kadmu w przemianach biochemicznych, mechanizm zmian funkcji neurochemicznych mózgu pod wpływem działania tych metali, a także indywidualna wrażliwość ustroju na ich szkodliwość. Ołów i kadm stanowią bardzo poważne zagrożenie toksykologiczne. Mikrointoksykacja tych metali, przed którą nie chronią mechanizmy regulacyjne, przedstawia duże niebezpieczeństwo. Ogromne znaczenie społeczne mają więc badania wielokierunkowe i wieloletnie dotyczące ochrony zdrowia przed zagrożeniami środowiskowymi wywołanymi przez czynniki chemiczne, takie jak metale ciężkie, zwłaszcza ołów i kadm. Prowadzone badania doświadczalne pozwolą szerzej wyjaśnić mechanizm interakcji czynników toksycznych, w tym również metali ciężkich, stanowiących duże zagrożenie dla zdrowia populacji ludzkiej.

### Wnioski

1. Łączne podanie (i.p.) związków ołowiu i kadmu spowodowało zaburzenie koordynacji ruchowej myszy.
2. Ruchliwość spontaniczna zwierząt nie uległa istotnej zmianie.
3. Aktywność poznawcza myszy obniżała się w miarę zwiększania się dawek i czasu ekspozycji.
4. Obserwowano działanie hipotermiczne stosowanych związków u myszy normotermicznych.
5. Zmiany zachowania się zwierząt sugerują fakt powstania zahamowań w przewodnictwie ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego.

## PIŚMIENNICTWO

1. Borzęcki Z. i wsp.: Wpływ przewlekłego działania związku kadmu na zachowanie się zwierząt doświadczalnych. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* **42**, 23, 1987.
2. Brown D. R.: Neonatal Lead Exposure in the Rat: Decreased Learning as a Function of Age and Blood Lead Concentrations. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **32**, 628, 1975.
3. Christophers A. J.: Environmental Lead Question. *Med. J. Aust.* **2**, 296, 1980.
4. Farbiszewski R., Gabryel H.: Kancerogenoza wywołana przez metale. *Bromat. Chem. Toksykol.* **2**, 189, 1981.
5. Głowiak B., Kempa E., Winnicki T.: Podstawy ochrony środowiska. PWN, Warszawa 1985.
6. Kittel M.: Toksykodynamika przewlekłych zatruc małymi dawkami łożowiu. *Podst. Hig. Med. Dośw.* **37**, 325, 1983.
7. Lisiewicz J., Moszczyński P.: Wpływ łożowiu na układ krwiotwórczy z uwzględnieniem roli ekspozycji środowiskowej i zawodowej. *Post. Hig. Med. Dośw.* **40**, 45, 1986.
8. Madej J. A. i wsp.: Wpływ niedoborów wapniowych na zmiany histopatologiczne oraz kumulację metali w mózgu szczurów w kompleksowym zatruciu łożowiem, kadmem i rtęcią. *Bromat. Chem. Toksykol.* **3**, 173, 1985.
9. Okta b a W.: Elementy statystyki matematycznej i metodyka doświadczalna. PWN, Warszawa 1976.
10. Rydziński Z.: Następstwa uszkodzeń mózgu we wczesnym dzieciństwie. *Psychiatria wieku rozwojowego*. PZWL, Warszawa 1981.
11. Singhal R. L. i wsp.: Aspects of the Biochemical Toxicology of Cadmium. *Fed. Proc.* **35**, 75, 1976.
12. Wójcik A. i wsp.: Wpływ przewlekłego działania związku łożowiu na zachowanie zwierząt doświadczalnych. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* **42**, 1987.
13. Żak J., Steibert E.: Biochemiczne aspekty toksykologii kadmu. *Post. Hig. Med. Dośw.* **3**, 251, 1980.
14. Żechałko A. i wsp.: Wpływ niedoborów wapnia na wskaźniki hematologiczne oraz aktywność enzymatyczną osocza i wątroby szczurów zatrutowanych Pb, Cd, Mg oraz Pb + Cd + Hg. *Bromat. Chem. Toksykol.* **3**, 165, 1985.

Otrzymano 1987.11.23.

## РЕЗЮМЕ

Целью работы является определение влияния соединений свинца и кадмия, применяемых одновременно на центральную нервную систему. Были проведены наблюдения над поведением мышей в области: координации движений, спонтанной подвижности, познавательной активности, подвижности на тест прямого прута, а также было определено влияние исследуемых соединений на температуру животных.

Проведённые исследования показали, что соединения свинца и кадмия при продолжительной экспозиции оказывают тормозящее влияние на центральную нервную систему. Анализируя отношение доза-эффект установлено появление расстройства координации движений познавательной активности, а также несущественные снижения спонтанной активности. Вместе с ростом применяемых доз и продолжительностью их применения наблюдалось гипотермическое действие. Расстройство проводимости нервного импульса в периферической и центральной системе могут быть исходом кумулятивного действия соединений свинца и кадмия.

## SUMMARY

The purpose of the work was to define the influence of joint administration of lead compounds and cadmium compounds on the central nervous system. The observation of mice behaviour was carried out in the following tests: motor coordination, spontaneous activity, cognitive activity, activity in the straight rod test as well as the influence of tested compounds on the body temperature of animals.

The carried out experiments proved that lead compounds in long-term exposure together with cadmium compounds have inhibitive effect on the central nervous system. The analysis of the dose-effect relation showed the disturbance of motor coordination, cognitive activity and non-distinctively lowered spontaneous activity. It was also observed that the increased doses and the increased time of exposure have hypothermal effect. The disturbance of nervous transmission in the peripheral and central nervous systems may have been the result of the cumulative effect of lead and cadmium compounds.