

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

Alicja WÓJCIK, Grażyna BUREK, Małgorzata DUDEK

Behawioralne efekty u myszy poddanych przewlekłej ekspozycji na związek kadmu i związek cynku

Бихевиористические эффекты у мышей подвергнутых продолжительной экспозиции при помощи соединения кадмия и соединения цинка

The Behavioural Effects in Mice Exposed to the Prolonged Action of Cadmium Compound and Zinc Compound

Trwające od dłuższego czasu uprzemysławianie gospodarki, oparte na zdobyczach techniki, negatywnie wpływa na środowisko naturalne człowieka. Przedostające się do otoczenia pyły przemysłowe, spaliny samochodowe zawierają związki biologicznie czynne dobrze wchłaniające się. Wśród nich istotne znaczenie mają związki metali ciężkich, między innymi ołowiu, kadmu, rtęci. Obok ołowiu obecność kadmu w środowisku stanowi poważne zagrożenie dla ludzi i zwierząt. Kadm należy do pierwiastków o dużych właściwościach kumulacyjnych, dlatego obserwuje się odkładanie się tego metalu u ludzi zdrowych, postępujące wraz z wiekiem (2, 3, 4). Toksyczne działanie kadmu nie jest jeszcze w pełni poznane. Pierwiastek ten budzi zainteresowanie nie tylko ze względu na swoje właściwości toksyczne, lecz także dlatego, że może pełnić pewne funkcje fizjologiczne, między innymi reguluje poziom cukru we krwi, może również przyczynić się do podniesienia ciśnienia krwi (6, 10). W badaniach eksperymentalnych wykazano istotną rolę cynku w zmniejszeniu toksycznego działania kadmu (7, 9).

Celem pracy była ocena zachowania się zwierząt doświadczalnych poddanych przewlekłej ekspozycji na różne dawki związku kadmu i stałą dawkę związku cynku.

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na myszach samcach szczepu Albino Swiss o m.c. 20—30 g. Zwierzęta w okresie 30 dni poddawano przewlekłej ekspozycji na chlorek kadmu w dawkach 0,1; 0,25; 0,5 i 1,0 mg/kg m.c. oraz chlorek cynku w stałej dawce 10 mg/kg m.c. Zwierzętom grupy kontrolnej podawano odpowiednio rozpuszczalnik (wodę redestylowaną). Grupy doświadczalne liczyły 8—10 zwierząt. Obserwacje przeprowadzono po 1-, 3-, 5-, 7- i 10-krotnym zastosowaniu badanych związków. Uzyskane wyniki zestawiono w postaci średnich i poddano analizie statystycznej

posługując się testem *t*-Studenta dla dwóch średnich z małych prób przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Wykonano następujące badania dotyczące wpływu podawanych zwierzętom związków:

1) na koordynację ruchową — myszy umieszczano na obracającym się przęcie obrotowym w czasie 2 min. i notowano liczbę zwierząt utrzymujących się na przęcie;

2) na ruchliwość poznawczą — na płaszczyźnie z 16 okrągłymi otworami rejestrowano w czasie 5 min. liczbę zagładnięć;

3) na ruchliwość spontaniczną — myszy umieszczano pojedynczo w aktometrach fotoopornikowych, pomiaru dokonując po 30 min.;

4) na ruchliwość na przęcie prostym — myszy umieszczano pojedynczo, dokonując pomiaru w czasie 1 min.;

5) na temperaturę ciała — mierzono ją w odbyticy termometrem termistorowym w pomieszczeniu o stałej temperaturze ok. 22°C.

WYNIKI

Po zastosowaniu wymienionych wyżej dawek chlorku kadmu i stałej dawki chlorku cynku zachowanie się myszy na obracającym się przęcie świadczyło o spadku koordynacji ruchowej zwierząt (tab. 1). Zaobserwowano wahania

Tab. 1. Wpływ chlorku kadmu i chlorku cynku* na koordynację ruchową myszy wyrażoną liczbą zwierząt utrzymujących się na przęcie obrotowym

Effect of cadmium chloride and zinc chloride* on the coordination of movements of the mice

Obserwacje po podaniu i.p.	Grupa kontrolna	Zastosowane dawki chlorku kadmu w mg/kg m.c.			
		0,1	0,25	0,5	1,0
1	8	7	8	8	6
3	7	8	9	6	6
5	8	6	7	5	3
7	8	9	7	8	3
10	8	8	7	5	3

* Chlorek cynku stosowano w stałej dawce 10 mg/kg m.c.

* Zinc chloride was applied in permanent dose 10 mg/kg b.m.

w ruchliwości poznawczej, która malała wraz ze wzrostem dawek i wydłużania się czasu narażenia. Obniżenie było statystycznie istotne po 5- i 10-krotnej iniekcji chlorku kadmu w dawkach 0,25 i 0,5 mg/kg m.c. oraz iniekcji chlorku cynku w dawce 10 mg/kg m.c. Dawka maksymalna (1 mg/kg m.c.) 10-krotnie zastosowana nieistotnie obniżała ruchliwość poznawczą myszy w porównaniu z kontrolą (tab. 2). Statystycznie istotne obniżenie ruchliwości spontanicznej nastąpiło po 5-krotnym podaniu chlorku kadmu w dawce 0,5 mg/kg m.c. i stałej dawki chlorku cynku (10 mg/kg m.c). Po 10-krotnej iniekcji stwierdzono nieznamiennie statystycznie zwiększenie ruchliwości spontanicznej zwierząt w porównaniu z kontrolą (tab. 3). Ruchliwość zwierząt na przęcie prostym

Tab. 2. Wpływ chlorku kadmu i chlorku cynku* na ruchliwość poznawczą myszy w teście „płyty z otworami”

Effect of cadmium chloride and zinc chloride* on the behaviour of the mice in the test of "a plate with holes"

Obserwacje po podaniu i.p.	Grupa kontrolna	Zastosowane dawki chlorku kadmu w mg/kg m.c.			
		0,1	0,25	0,5	1,0
1	34,8 ± 6,326	32,4 ± 8,015 <i>t</i> = 0,434	26,2 ± 13,548 <i>t</i> = 1,317	20,5 ± 7,902** <i>t</i> = 3,847	31,0 ± 20,30 <i>t</i> = 0,378
2	22,6 ± 10,1	11,4 ± 3,8** <i>t</i> = 3,061	23,3 ± 14,4 <i>t</i> = 0,106	18,9 ± 12,0 <i>t</i> = 0,680	14,2 ± 7,0 <i>t</i> = 1,961
5	26,7 ± 5,826	11,3 ± 7,803** <i>t</i> = 4,292	18,9 ± 5,856** <i>t</i> = 2,671	16,3 ± 2,981** <i>t</i> = 4,428	15,6 ± 5,518** <i>t</i> = 3,953
7	23,6 ± 11,346	17,7 ± 6,700 <i>t</i> = 1,254	14,5 ± 6,700 <i>t</i> = 1,997	14,9 ± 5,705 <i>t</i> = 1,914	11,6 ± 6,264** <i>t</i> = 2,689
10	23,4 ± 11,434	14,9 ± 10,104 <i>t</i> = 1,572	11,1 ± 4,346 <i>t</i> = 2,946	12,1 ± 6,836** <i>t</i> = 2,187	14,7 ± 8,787 <i>t</i> = 1,621

* Patrz tab. 1 — See Table 1. ** $p \leq 0,05$.Tab. 3. Wpływ różnych dawek chlorku kadmu i chlorku cynku* na ruchliwość spontaniczną u myszy
Effect of different doses of cadmium chloride and zinc chloride* on the spontaneous motility of the mice

Obserwacje po podaniu i.p.	Grupa kontrolna	Zastosowane dawki chlorku kadmu w mg/kg m.c.			
		0,1	0,25	0,5	1,0
1	332,0 ± 111,257	442,0 ± 151,781 <i>t</i> = 1,508	318,0 ± 211,903 <i>t</i> = 2,011	374,0 ± 187,992 <i>t</i> = 0,513	313,0 ± 130,887 <i>t</i> = 0,291
2	342,1 ± 119,634	278,2 ± 82,952 <i>t</i> = 1,215	360,0 ± 225,058 <i>t</i> = 1,154	309,9 ± 50,470 <i>t</i> = 0,154	310,8 ± 41,087 <i>t</i> = 0,381
5	313,5 ± 105,541	282,8 ± 129,974 <i>t</i> = 0,499	282,2 ± 4,123 <i>t</i> = 1,026	171,2 ± 54,068** <i>t</i> = 3,343	367,5 ± 177,0 <i>t</i> = 0,716
7	388,1 ± 148,252	311,4 ± 152,59 <i>t</i> = 1,113	363,7 ± 173,733 <i>t</i> = 0,298	265,3 ± 143,358 <i>t</i> = 1,594	255,4 ± 51,438** <i>t</i> = 2,489
10	388,1 ± 123,879	368,6 ± 149,897 <i>t</i> = 0,679	421,3 ± 64,557 <i>t</i> = 1,353	379,5 ± 121,559 <i>t</i> = 0,898	371,8 ± 158,661 <i>t</i> = 0,705

* Patrz tab. 1 — See Table 1. ** $p \leq 0,05$.

w pionie nie ulegała zmianom pod wpływem zastosowanych dawek. Nie zaobserwowano też ograniczenia ruchów zwierząt w porównaniu z kontrolą. Analiza ciepłoty ciała myszy wykazała, że działanie podawanych związków było hipertermiczne. Po 1-, 3- i 5-krotnej iniekcji stosowanych dawek chlorku kadmu i stałej dawki chlorku cynku temperatura ciała zwierząt podwyższała się, natomiast po 7- i 10-krotnej iniekcji utrzymywała się na poziomie grupy kontrolnej, z wyjątkiem dawki 1 mg/kg m.c., która podwyższała ciepłotę ciała myszy (tab. 4).

Tab. 4. Wpływ chlorku kadmu i chlorku cynku* na temperaturę ciała myszy normotermicznych w °C
 Effect of cadmium chloride and zinc chloride* on the body temperature of the normothermal mice
 in °C

Obserwacje po podaniu i.p.	Grupa kontrolna	Zastosowane dawki chlorku kadmu w mg/kg m.c.			
		0,1	0,25	0,5	1,0
1	36,7 ± 1,116	38,2 ± 0,872** t = 3,043	39,0 ± 0,632** t = 5,218	39,1 ± 0,350** t = 5,955	38,6 ± 0,472** t = 4,498
2	37,4 ± 0,217	37,6 ± 0,165 t = 1,821	37,8 ± 0,335** t = 2,582	37,9 ± 0,245** t = 2,776	38,4 ± 0,583** t = 4,449
5	37,9 ± 0,300	38,1 ± 0,437 t = 0,046	38,4 ± 0,374** t = 2,679	38,2 ± 0,248 t = 2,010	38,7 ± 0,458** t = 3,829
7	37,6 ± 0,300	37,6 ± 0,283 t = 0,046	37,7 ± 0,320 t = 0,559	37,9 ± 0,438 t = 1,949	37,9 ± 0,502 t = 1,346
10	37,6 ± 0,300	37,1 ± 0,550 t = 1,641	37,6 ± 0,300 t = 1,077	37,4 ± 0,415 t = 0,323	38,1 ± 0,200** t = 5,281

* Patrz tab. 1 — See Table 1. ** $p \leq 0,05$.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Skażenie środowiska naturalnego metalami ciężkimi prowadzi do niekorzystnych zmian otoczenia i warunków bytowych człowieka. W chwili obecnej niebezpieczeństwo przewlekłych zatruc metalami ciężkimi stanowi istotne zagrożenie (3, 6, 8) i przyczynia się do wielu chorób. Człowiek w otaczającym środowisku jest narażony na wiele szkodliwych czynników jednocześnie, stąd zjawisko synergizmu lub antagonizmu działania pierwiastków i związków chemicznych wnikających do organizmu. Znanych jest wiele interakcji m. in. między cynkiem, miedzią i żelazem oraz kadmem i ołowiem. Kadm wykazuje właściwości kumulacyjne, które nie są obojętne dla wewnątrzkomórkowego metabolizmu (3, 11). Szkodliwe działanie kadmu osłabia podanie cynku, który jest niezbędnym pierwiastkiem śladowym, koniecznym do prawidłowego wzrostu i rozwoju organizmów żywych (8).

W przeprowadzonych badaniach eksperymentalnych wykazano, że długotrwałe podawanie badanych związków wpływa hamująco na układ nerwowy zwierząt. Dawki minimalne toksycznych związków kadmu i krótki czas narażenia jest niwelowany przez działanie związku cynku podanego w dawce stałej (10 mg/kg m.c.). W miarę wzrostu dawek związku kadmu i zwiększenia czasu ekspozycji podawany związek cynku nie spełnia takiej roli, stwierdzono bowiem zaburzenia w zachowaniu się zwierząt objawiające się obniżeniem aktywności ruchowej i poznawczej. W doświadczalnych pracach dotyczących zachowania się zwierząt poddanych działaniu tylko związku kadmu uzyskano podobne wyniki (1). W organizmie zwierząt dochodzi do nagromadzenia się toksycznego metalu, wykazującego właściwości kumulowania się w tkankach, a szczególnie

w tkankach układu nerwowego. Oceniając ruchliwość spontaniczną zwierząt wykazano statystycznie nieznamienne pobudzenie układu motorycznego myszy w wyniku przewlekłej ekspozycji. W doświadczalnym zatrucaniu zwierząt związkami metali ciężkich, między innymi kadmem, dochodzi do zmian morfologicznych w mózgowiu, co świadczy o dużej toksyczności tego metalu w odniesieniu do tkanki nerwowej (5, 12).

Zaburzenia w zachowaniu się zwierząt doświadczalnych poddanych przewlekłemu działaniu związku kadmu, wykazującego właściwości kumulacyjne, oraz związku cynku, będącego jego antagonistą, mogą być wynikiem wewnątrzkomórkowych przemian. Oba te pierwiastki prawdopodobnie konkurują kompetycyjnie o miejsca w komórkach i organellach. Badania z zakresu przemian biochemicznych w ustroju, zachodzących pod wpływem kadmu i cynku, są fragmentaryczne, natomiast badania eksperymentalne należy traktować jako modelowe, przyczyniające się do wyjaśnienia mechanizmu interakcji między innymi metali ciężkich. Ma to dość duże znaczenie dla ochrony zdrowia populacji ludzi i zwierząt. Określenie bowiem stopnia szkodliwości i intensywności działania toksycznych substancji skłoni do poszukiwania środków zmierzających do zahamowania narastającej degradacji otaczającego środowiska.

Wnioski

1. Stwierdzono zaburzenia w koordynacji ruchowej oraz obniżanie się ruchliwości poznawczej i spontanicznej u myszy poddawanych iniekcjom związku kadmu we wzrastających dawkach przez dłuższy czas przy jednoczesnym podawaniu zwierzętom antagonisty — związku cynku w stałej dawce.

2. Działanie stosowanych związków było hipertermiczne.

3. Zaobserwowano, że antagonistyczne działanie związku cynku zmniejszało się wraz ze wzrostem dawek i czasu podawania związku kadmu.

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. Bremner I.: The Toxicity of Cadmium. Zinc and Molybdenum and Their Effects on Copper Metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* **38**, 235, 1979.
3. Farbiszewski R. i wsp.: Kancerogeneza wywołana przez metale. *Bromat. Chem. Toksykol.* **2**, 189, 1981.
4. Harper H. A., Rodweel V. W.: *Zarys chemii fizjologicznej*. PZWL, Warszawa 1983.
5. Madej J. A. i wsp.: Wpływ niedoborów wapniowych na zmiany histopatologiczne oraz kumulacja metali w mózgu szczurów w kompleksowym zatruciu ołowiem, kadmem i rtęcią. *Bromat. Chem. Toksykol.* **3**, 173, 1985.
6. Mowszowicz J.: Samozatrucie się ludzkości. *Problemy* **10**, 13, 1981.

7. Narbaitz R. i wsp.: Induction of Teather Malformations in Chick Embryos by Cadmium Protection of Zinc. *Teratology* 27, 207, 1983.
8. Nikonorow H.: Zanieczyszczenia chemiczne i biologiczne żywności. WNT, Warszawa 1980.
9. Parizek J.: The Destructive Effect of Cadmium on Testiculation by Zinc. *J. Endocrin.* 15, 56, 1957.
10. Samarawickrama C. D.: Biological Effects of Cadmium in Mammals. [w:] *The Chemistry, Biochemistry and Biology of Cadmium*. Amsterdam 1979.
11. Żak J. i wsp.: Biochemiczne aspekty toksykologii kadmu. *Post. Hig. Med. Dośw.* 3, 249, 1980.
12. Zechałko A. i wsp.: Wpływ niedoborów wapnia na wskaźniki hematologiczne oraz aktywność enzymatyczną osocza i wątroby szczurów zatrutowanych Pb, Cd, Hg oraz Pb + Cd + Hg. *Bromat. Chem. Toksykol.* 3, 165, 1985.

Otrzymano 1989. 05. 09.

РЕЗЮМЕ

Целью работы было определение влияния соединений кадмия и цинка на периферическую нервную систему подопытных животных. Животным подавали на продолжительном промежутке в период 30 дней путем введения в брюшину растворов хлористого кадмия и цинка. Проводилось наблюдение поведения мышей по тестам: на тему моторной координации, познавательной активности, спонтанной подвижности, и подвижности по тесту прямого стержня, а также было определено влияние исследуемых соединений на температуру тела животных. По мере роста доз и времени экспозиции установлено кумулятивное действие соединений кадмия, выражающееся тормозящим влиянием на периферическую нервную систему. Конкурентное действие цинка в отношении токсического действия соединений кадмия установлено после применения минимальных доз.

SUMMARY

The aim of the present paper was to determine the effect of cadmium and zinc on the central nervous system in the experimental animals. The animals were given intraperitoneally the solution of cadmium and zinc chloride for 30 days. The behaviour of the mice was being observed in the test of the coordination of movements, the cognitive activity, the spontaneous motility, the motility in the straight rod test and the effect of the examined compounds on the temperature of the animal body was examined. Together with the dose and exposure time increase the cumulative action of cadmium compound was showed, resulting in the inhibiting effect on the central nervous system. The competitive action of zinc compound in relation to the toxic action of cadmium compound was revealed after the administration of the minimal doses.