

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

Alicja WÓJCIK, Jolanta KUBAJKA

Eksperymentalne badania interakcji metali ciężkich u myszy

Experimental Study of Interactions of Heavy Metals in Mice

Zagadnienie ochrony środowiska naturalnego jest przedmiotem szerokiego zainteresowania wielu specjalistów z różnych dziedzin. Szczególne niebezpieczeństwo dla zdrowia populacji ludzi i zwierząt stanowi postępujące zanieczyszczenie powietrza, gleby i wody. Przyczyniają się do tego rozwój przemysłu chemicznego i motoryzacyjnego oraz chemizacja rolnictwa, które stają się źródłem emisji dużej ilości substancji toksycznych. Ogromnie szkodliwe są metale ciężkie, takie jak ołów, kadm i rtęć. Ołów w organizmie człowieka wchodzi w interakcję z wieloma równocześnie wchłoniętymi metalami, powodując zwiększenie siły ich toksycznego działania. Przykładem takiego synergizmu może być interakcja ołowiu i kadmu. Ich toksyczność mogą hamować niektóre metale, między innymi cynk i glin. Znany jest antagonizm między cynkiem a ołowiem i kadmem (1, 2, 3). W celu ustalenia norm bezpieczeństwa dla populacji ludzkiej przeprowadza się różne testy, które mają na celu doświadczalne ustalenie bezpiecznej ekspozycji na toksyczne związki. Badania eksperymentalne na zwierzętach są integralnym modelem, pozwalającym na obserwację wielu procesów ustrojowych zachodzących pod wpływem działania szkodliwych pierwiastków.

Celem pracy była ocena zachowania się zwierząt doświadczalnych poddanych przewlekłemu działaniu zwiększających się dawek związku ołowiu i związku kadmu oraz stałej dawki związku cynku jako antagonisty.

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na białych myszach samcach szczepu Albino Swiss o m.c. 17—25 g. Zwierzętom podawano drogą dootrzewnową przez okres 30 dni octan ołowiu w dawkach: 1; 2,5; 5; 10 mg/kg m.c., chlorek kadmu w dawkach: 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 mg/kg m.c. oraz chlorek cynku w dawce 10 mg/kg m.c. Zwierzęta grupy kontrolnej otrzymywały w tym czasie wodę redestylowaną. Uzyskane wyniki badań zestawiono w postaci średnich i opracowano statystycznie posługując się testem *t*-Studenta (8). Wykonano badania na: 1) ruchliwość spontaniczną; 2) ruchliwość poznawczą; 3) koordynację ruchową; 4) ruchliwość w teście pręta prostego; 5) temperaturę ciała myszy.

WYNIKI

Ruchliwość spontaniczna myszy ulegała zróżnicowanym zmianom w wyniku przewlekłego działania związku ołowiu i związku kadmu, mimo stosowania związku cynku jako antagonisty (tab. 1). Istotne obniżenie ruchliwości spontanicznej obserwowano po 10-krotnym podaniu maksymalnych dawek związku ołowiu i związku kadmu, czego nie zahamowała w dostatecznym stopniu stała dawka związku cynku. Analizując aktywność poznawczą myszy zauważono, że wraz ze wzrostem dawek toksycznych związków, a także okresu ich podawania, następował istotny spadek ruchliwości poznawczej zwierząt w porównaniu do grupy kontrolnej (tab. 2). Po 1-, 3-, 5-, 7-krotnym podaniu związku ołowiu i związku kadmu, a także jako inaktywatora związku cynku w stałej dawce liczba zagładnień myszy do otworów była zbliżona, lecz istotnie niższa niż zwierząt

Tab. 1. Wpływ różnych dawek octanu ołowiu i chlorku kadmu oraz stałej dawki chlorku cynku na ruchliwość spontaniczną myszy
The effect of different doses of lead acetate and cadmium chloride as well as of permanent dose of zinc chloride on spontaneous motility of mice

Obserwacje po podaniu i.p.	Grupa kontrolna	Grupy doświadczalne			
		I	II	III	IV
1	268,7 ± 186,1	262,9 ± 136,0 <i>t</i> =0,07	289,8 ± 262,6 <i>t</i> =0,17	348,4 ± 188,6 <i>t</i> =0,91	234,0 ± 156,1 <i>t</i> =0,42
3	266,3 ± 124,7	218,5 ± 155,1 <i>t</i> =0,34	260,3 ± 207,0 <i>t</i> =0,04	251,3 ± 66,49 <i>t</i> =0,11	290,8 ± 217,2 <i>t</i> =0,02
5	269,1 ± 135,9	202,3 ± 123,4 <i>t</i> =1,09	280,2 ± 229,5 <i>t</i> =0,12	236,2 ± 123,1 <i>t</i> =0,54	251,5 ± 142,9 <i>t</i> =0,27
7	244,4 ± 144,1	278,6 ± 163,9 <i>t</i> =0,47	200,9 ± 157,7 <i>t</i> =0,61	182,1 ± 98,21 <i>t</i> =1,07	294,5 ± 188,5 <i>t</i> =0,63
10	308,6 ± 191,1	233,6 ± 105,8 <i>t</i> =1,03	223,4 ± 230,9 <i>t</i> =0,85	62,9 ± 69,3* <i>t</i> =3,63	21,4 ± 26,6* <i>t</i> =4,47

Objaśnienia: I — 1 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 0,1 mg/kg m.c. chlorku kadmu + 10 mg/kg m.c. chlorku cynku; II — 2,5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 0,25 mg/kg m.c. chlorku kadmu + 10 mg/kg m.c. chlorku cynku; III — 5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 0,5 mg/kg m.c. chlorku kadmu + 10 mg/kg m.c. chlorku cynku; IV — 10 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 1 mg/kg m.c. chlorku kadmu + 10 mg/kg m.c. chlorku cynku.

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

Explanation: I — 1 mg/kg body mass of lead acetate + 0.1 mg/kg body mass of cadmium chloride + 10 mg/kg body mass of zinc chloride; II — 2.5 mg/kg body mass of lead acetate + 0.25 mg/kg body mass of cadmium chloride + 10 mg/kg body mass of zinc chloride; III — 5 mg/kg body mass of lead acetate + 0.5 mg/kg body mass of cadmium chloride + 10 mg/kg body mass of zinc chloride; IV — 10 mg/kg body mass of lead acetate + 1 mg/kg body mass of cadmium chloride + 10 mg/kg body mass of zinc chloride.

* Statistic significance — $p \leq 0.05$.

Tab. 2. Wpływ różnych dawek octanu ołowu i chlorku kadmu oraz stałej dawki chlorku cynku na ruchliwość poznawczą myszy
The effect of different doses of lead acetate and cadmium chloride as well as of permanent dose of zinc chloride on cognitive motility of mice

Obserwacje po podaniu i.p.	Grupa kontrolna	Grupy doświadczalne			
		I	II	III	IV
1	31,2 ± 3,4	17,6 ± 6,3* <i>t</i> = 5,72	14,1 ± 6,8* <i>t</i> = 6,78	19,5 ± 2,4* <i>t</i> = 8,40	17,1 ± 7,9* <i>t</i> = 4,93
3	32,9 ± 5,9	24,6 ± 3,6* <i>t</i> = 3,63	18,2 ± 7,1* <i>t</i> = 4,76	18,2 ± 3,8* <i>t</i> = 6,26	17,8 ± 3,8* <i>t</i> = 3,96
5	37,2 ± 22,1	14,6 ± 4,2* <i>t</i> = 6,05	15,7 ± 8,8* <i>t</i> = 2,71	17,9 ± 4,8* <i>t</i> = 2,56	19,8 ± 3,8 <i>t</i> = 2,33
7	21,3 ± 3,2	11,1 ± 3,9* <i>t</i> = 6,03	16,4 ± 4,0* <i>t</i> = 2,87	16,1 ± 5,8* <i>t</i> = 2,35	14,9 ± 5,7* <i>t</i> = 2,9
10	21,8 ± 5,9	9,6 ± 4,2* <i>t</i> = 5,09	10,9 ± 3,9* <i>t</i> = 4,63	12,0 ± 4,3* <i>t</i> = 4,05	6,3 ± 2,3* <i>t</i> = 7,36

Objaśnienia patrz tab. 1.

For explanation see Table 1.

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

* Statistic significance — $p \leq 0,05$.

z grupy kontrolnej. Największe, statystycznie znamienne, zmniejszenie ruchliwości spontanicznej myszy obserwowano po maksymalnej ekspozycji na toksyczne związki. Podobny efekt zauważono analizując zachowanie się zwierząt w teście koordynacji ruchowej (tab. 3). Największy spadek ruchliwości myszy nastąpił po 10-krotnym podaniu maksymalnych dawek tych związków. Obserwując za-

Tab. 3. Liczba zwierząt utrzymujących się na pręcie obrotowym po zastosowaniu różnych dawek octanu ołowu i chlorku kadmu oraz stałej dawki chlorku cynku w teście koordynacji ruchowej myszy
Number of animals on rotatory rod after application of different doses of lead acetate and cadmium chloride as well as permanent dose of zinc chloride in motorial activity of mice

Obserwacje po podaniu i.p.	Grupa kontrolna	Grupy doświadczalne			
		I	II	III	IV
1	6	5	5	5	3
3	6	4	3	2	0
5	5	2	6	4	1
7	7	4	3	3	2
10	8	4	2	5	0

Objaśnienia patrz tab. 1.

For explanation see Table 1.

chowanie się zwierząt na pręcie prostym nie spostrzeżono istotnego zaburzenia w ich utrzymywaniu się w pionie, jednak wraz ze wzrostem dawek toksycznych związków i okresu ich podawania zauważono zaburzenia w ruchliwości myszy przy schodzeniu z pręta. Analizując wpływ łącznego stosowania związku ołowiu i związku kadmu, a także jako antagonisty związku cynku na temperaturę ciała myszy normotermicznych stwierdzono nieistotny spadek temperatury w miarę zwiększania okresu podawania wszystkich stosowanych dawek szkodliwych związków (tab. 4). W porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej temperatura ciała myszy doświadczalnych nieistotnie podwyższała się wraz ze wzrostem podawanych im dawek ołowiu i kadmu, a także stałej dawki związku cynku w roli antagonisty.

Tab. 4. Wpływ różnych dawek octanu ołowiu i chlorku kadmu oraz stałej dawki chlorku cynku na temperaturę ciała myszy

The effect of different doses of lead acetate and cadmium chloride and permanent dose of zinc chloride on body temperature of mice

Obserwacje po podaniu i.p.	Grupa kontrolna	Grupy doświadczalne			
		I	II	III	IV
1	37,6 ± 0,3	37,9 ± 0,3 <i>t</i> = 1,94	38,0 ± 0,4 <i>t</i> = 2,45	38,3 ± 0,3 <i>t</i> = 4,71	37,8 ± 0,4 <i>t</i> = 1,10
3	37,6 ± 0,3	37,9 ± 0,3 <i>t</i> = 1,94	37,9 ± 0,4 <i>t</i> = 1,01	38,0 ± 0,5 <i>t</i> = 1,26	37,9 ± 0,4 <i>t</i> = 1,01
5	37,7 ± 0,5	37,9 ± 0,4 <i>t</i> = 1,01	37,9 ± 0,4 <i>t</i> = 0,11	37,9 ± 0,4 <i>t</i> = 1,01	38,0 ± 0,5 <i>t</i> = 1,26
7	37,5 ± 0,3	37,9 ± 0,5 <i>t</i> = 2,16	37,5 ± 0,4 <i>t</i> = 0	37,7 ± 0,5 <i>t</i> = 1,08	37,7 ± 0,4 <i>t</i> = 0,89
10	37,2 ± 0,4	37,5 ± 0,4 <i>t</i> = 1,25	37,5 ± 0,4 <i>t</i> = 1,25	37,3 ± 0,3 <i>t</i> = 0,59	37,3 ± 0,3 <i>t</i> = 0,59

Objaśnienia patrz tab. 1.

For explanation see Table 1.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

We współczesnej medycynie problem toksyczności metali ciężkich, między innymi ołowiu i kadmu, staje się coraz bardziej palący, ponieważ degradacja otaczającego środowiska stale wzrasta. Nasilająca się emisja związków metali ciężkich, jak ołów i kadm, powoduje wzrost liczby przewlekłych zatruc (4, 6). W związku z tym prowadzone są obecnie badania doświadczalne nad szkodliwością zanieczyszczeń chemicznych. Pozwalają one na porównanie zmian obserwowanych u zwierząt w modelu doświadczalnym z zaburzeniami występującymi u ludzi, a to umożliwi określenie dopuszczalnego stężenia substan-

cji toksycznych w środowisku. Przeprowadzone badania eksperymentalne na zwierzętach wykazały, że stosowane związki toksyczne w dawkach maksymalnych wpływały hamująco na ośrodkowy i obwodowy układ nerwowy, mimo podawania stałej dawki związku cynku jako antagonisty. Natomiast przy dawkach minimalnych oraz krótkim czasie ich podawania stała dawka związku cynku osłabiała działanie związku ołowiu i związku kadmu. Objawiało się to brakiem istotnych zaburzeń w zachowaniu się zwierząt doświadczalnych. Związek ołowiu i związek kadmu wykazują właściwości kumulacyjne, dlatego poddanie zwierząt długotrwałemu działaniu tych substancji powoduje zaburzenia behawioralne, które mogą być wynikiem wewnątrzkomórkowych przemian, a także skutkiem przewlekłego działania związków toksycznych na układ nerwowy. Tego nie mogło zahamować jednoczesne podawanie stałej dawki związku cynku o właściwościach antagonistycznych.

W badaniach na zwierzętach wykazano, że metale ciężkie wywołują zmiany morfologiczne i fenotypowe oraz indukują zmiany patologiczne różnych narządów (4, 5, 6, 10). Badania przeprowadzone przez Stowego i wsp. pozwoliły na określenie rozmieszczenia ołowiu w różnych częściach mózgu zatrutowanych psów. Wykazały one istotne zależności pomiędzy przestrzeniami mózgu, w których stwierdzono największe zmiany histopatologiczne, a wysokim stężeniem ołowiu (9). W doświadczalnym narażaniu zwierząt na związki metali ciężkich, jak kadm i ołów, dochodzi do zmian morfologicznych w mózgowiu, co świadczy o dużej toksyczności tych metali w odniesieniu do tkanki nerwowej (7, 11).

Wykorzystując wyniki modelowych badań doświadczalnych w odniesieniu do populacji ludzkiej, należy uwzględnić wiele dodatkowych czynników, na które człowiek jest narażony w otaczającym środowisku. Wśród substancji toksycznych dochodzi do interakcji, co wzmacnia ich szkodliwy wpływ na organizm człowieka. W badaniach eksperymentalnych należy zwracać szczególną uwagę na synergizm ołowiu i kadmu oraz wpływ innych czynników, a zwłaszcza związków antagonistycznych, jak związek cynku, który jest niezbędnym pierwiastkiem śladowym, koniecznym do prawidłowego wzrostu i rozwoju organizmów żywych. Zapobiega on zmianom histopatologicznym wywołanym przez ołów i kadm. Pierwiastek ten prawdopodobnie konkuruje kompetycyjnie o miejsce wiązań w komórkach i organellach. Poznanie mechanizmów działania substancji toksycznych na podstawie modeli doświadczalnych może przyczynić się do ochrony zdrowia ludzi, może również zapobiec nieprawidłowym skutkom zmian neurologicznych i zaburzeń rozwojowych.

Wnioski

1. Dawki minimalne związku ołowiu i związku kadmu przy łącznym podaniu stałej dawki związku cynku w mniejszym stopniu zaburzają przewodnictwo nerwowe w układzie nerwowym niż dawki maksymalne tych związków.

2. Ruchliwość poznawcza oraz koordynacja ruchowa zwierząt ulegała znamienemu obniżeniu wraz ze wzrostem dawek i zwiększaniem się okresu narażenia, natomiast aktywność spontaniczna nie uległa istotnym zmianom, z wyjątkiem podania maksymalnych dawek i maksymalnego okresu ich stosowania.

3. Stała dawka związku cynku, działającego antagonistycznie, okazała się skuteczna tylko w przypadku podania minimalnych dawek związku ołowiu i związku kadmu oraz krótkiego okresu ich stosowania.

PIŚMIENNICTWO

1. Abdulla M., Hoeger-Aronsen B., Svenson S.: Antagonistic Effects of Zinc and Aluminium on Lead Inhibition of γ -Aminolevulinic Acid Dehydratase. Arch. Environ. Hlth. **34**, 464, 1979.
2. Brenner J.: The Toxicity of Cadmium, Zinc and Molybdenum and Their Effects on Copper Metabolism. Proc. Nutr. Cos. **38**, 235, 1979.
3. Cerklewski F. L., Forbes R. M.: Influence of Dietary Zinc on Lead Toxicity in the Rat. J. Nutr. **106**, 689, 1976.
4. Farbiszewski R., Gabryel H.: Kancerogeneza wywołana przez metale. Bromat. Chem. Toksykol. **2**, 189, 1981.
5. Gaździk T.: Morfologiczne i cytochemiczne zróżnicowanie gonady męskiej szczurów w warunkach fizjologicznych i po podaniu toksycznej dawki kadmu. Med. Pracy **3**, 169, 1984.
6. Kittel M.: Toksykodynamika przewlekłych zatruc małymi dawkami ołowiu. Post. Hig. Med. Dośw. **37**, 325, 1983.
7. Madej J. A., Żechałko A., Szymczak J., Biernat K.: Wpływ niedoborów wapniowych na zmiany histopatologiczne oraz kumulację metali w mózgu szczurów w kompleksowym zatruciu ołowiem, kadmem, rtęcią. Bromat. Chem. Toksykol. **3**, 173, 1983.
8. Miller T., Orzeszyna S.: Elementy statystyki medycznej. PZWL, Warszawa 1982.
9. Stowe H. D., Vanderwelde M.: Lead-induced Encephalopathy in Dogs Fed High Fat, Low Calcium Diets. J. Neuropathol. Exp. Neurol. **38**, 463, 1979.
10. Żak I., Steibert E.: Biochemiczne aspekty toksykologii kadmu. Post. Hig. Med. Dośw. **34**, 249, 1980.
11. Żechałko A., Biernat I., Szymczak J.: 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 1990.06.18.

SUMMARY

The aim of the study was the evaluation of behaviour of mice after long exposure to compounds of lead, cadmium and zinc. Behaviour of animals in the following tests was observed: motorial coordination, cognitive activity, spontaneous motility, motility in a straight rod test. Influence of the investigated compounds on the body temperature of experimental animals was determined.

By analyzing dependence dose-effect and the time of exposure disorders on motorial coordination and cognitive activity were observed. Cumulative administration of compounds of lead, cadmium and zinc did not cause important disorders in spontaneous motility and body temperature in mice. Transmitional disorders in the nervous system following administration of maximal doses of lead and cadmium may be the result of cumulative action of these compounds in the body. However, the absence of this effect in minimal doses is probably the result of antagonistic action of zinc.