

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

Zbigniew BORZĘCKI, Alicja WÓJCIK, Grażyna WÓJCICKA,
Grażyna BUREK

Wpływ przewlekłego działania związku kadmu na zachowanie się zwierząt doświadczalnych

Влияние длительного действия соединения кадмия на поведение подопытных животных

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

W dobie obecnego rozwoju przemysłu i rolnictwa szczególnym zagrożeniem jest wzrost zanieczyszczenia środowiska człowieka metalami ciężkimi. Toksyczne działanie metali ciężkich i ich związków zależy od wielu czynników związanych z ich biologiczną transformacją, powinowactwem do poszczególnych narządów, tkanek, układów enzymatycznych. Coraz większą uwagę zwraca się na mutagenne, teratogenne i kancerogenne działanie metali i ich związków. Zanieczyszczenie środowiska metalami ciężkimi, również kadmem, stanowić może poważne zagrożenie dla populacji ludzi i zwierząt. Kadm należy do pierwiastków toksycznych o silnych właściwościach kumulacyjnych, czego konsekwencją jest postępujące odkładanie się wraz z wiekiem tego metalu w organizmie ludzi zdrowych (4, 6, 7, 11). Pierwiastek ten jest pewnego rodzaju osobliwością wśród metali toksycznych, gdyż może być zarówno inhibitorem dla enzymów, jak i aktywatorem pewnych systemów enzymatycznych (4, 11, 13, 15, 16). Istotą toksycznego działania kadmu na organizm jest wiązanie się z układami enzymatycznymi, zawierającymi grupy sulfhydrylowe, prowadzące do dysfunkcji procesów wewnątrzustrojowych (9, 13, 16).

Celem pracy było określenie wpływu różnych dawek związku kadmu na ośrodkowy układ nerwowy zwierząt doświadczalnych poddanych przewlekłej ekspozycji.

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na myszach samcach szczepu Albino Swiss o m. c. 20–30 g. Każda grupa liczyła 8–10 zwierząt. Zastosowano chlorek kadmu, który podawano drogą dootrzewnową (i.p.) w dawkach 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 mg/kg m. c. przez 30 dni. Zwierzęta grupy kontrolnej otrzymywały rozpuszczalnik (wodę redestylowaną) w odpowiednich ilościach. Po skończonym przewlekłym

podawaniu związku kadmu i przeprowadzonych obserwacjach zachowania behawioralnego, myszy dekapitowano i w wypręparowanych mózgach przeprowadzono badania biochemiczne.

Uzyskane wyniki zestawiono w postaci średnich i poddano analizie statystycznej posługując się t — testem Studenta dla dwóch średnich z małych prób. Przyjęto poziom istotności $p \leq 0,05$ (12). W badaniach dotyczących wpływu związku kadmu na ośrodkowy układ nerwowy zastosowano następujące testy:

- 1) na koordynację ruchową,
- 2) na ruchliwość poznawczą,
- 3) na ruchliwość spontaniczną,
- 4) na ciepłotę ciała myszy,
- 5) na zachowanie się myszy na pręcie prostym.

Przeprowadzone badania biochemiczne posłużyły do określenia wpływu tego związku na poziom neuromediatorów (noradrenaliny i dopaminy) w mózgu zwierząt.

WYNIKI

Badania dotyczące działania związku kadmu na ośrodkowy układ nerwowy przyniosły następujące wyniki. Obserwacja zachowania się zwierząt na obracającym się pręcie wykazała znaczny spadek koordynacji ruchowej myszy. Aktywność ruchowa malała wraz ze wzrostem dawek i czasu ekspozycji. Dawki maksymalne (0,5 i 1,0 mg/kg m.c.) zmniejszały aktywność ruchową o ok. 60% w porównaniu z grupą kontrolną (tab. 1). Aktywność poznawcza myszy również ulegała wahaniom, stwierdzono, że dawki maksymalne obniżały ją o ok. 40% w porównaniu z kontrolą (tab. 2). Nieistotne było zwiększenie ruchliwości spontanicznej (tab. 3). Obserwując zwierzęta na pręcie prostym w pionie stwierdzono, że zastosowane dawki związku kadmu nie wpływały na istotną zmianę w zachowaniu się myszy. Jednak najwyższe dawki (0,5 i 1,0 mg/kg m.c.) ruchliwość zwierząt ograniczały. Hipertermiczne działanie związku kadmu było nieznaczące (tab. 4).

Badania biochemiczne wykazały, że związek kadmu nie wpływał statystycznie istotnie na poziom noradrenaliny (NA) w mózgu myszy. Poziom tego neuromediatora ulegał nieistotnemu podwyższeniu po zastosowaniu dawki 0,25 mg/kg m.c. Również poziom dopaminy (DA) wraz ze wzrostem stosowanego związku nieistotnie się podwyższał (tab. 5).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Badania doświadczalne na zwierzętach są integralnym modelem, pozwalającym na obserwację licznych procesów (metabolizmu, uszkodzenia komórek, transformacji) i interakcji różnych czynników. Uzyskane dane z badań na zwierzętach stanowią bardzo często podstawę do oceny potencjalnego ryzyka różnych schorzeń u ludzi. Brak jest dotychczas jednej uniwersalnej procedury ekstrapolacji, pozwalającej na przeniesienie danych z doświadczeń na zwierzę-

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

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

Tab. 2. Wpływ związku kadmu na ruchliwość poznawczą myszy
Effect of cadmium compound on cognitive activity of mice

Observacje po podaniu i.p. chlorku kadmu	Grupa kontrolna (K)	Zastosowane dawki chlorku kadmu w mg/kg m.c.			
		0,1	0,25	0,5	1,0
3	16	23,6	17,6	13,0	16,3
7		19,5	16,5	11,0	11,0
10		19,1	16,3	11,0	10,4

Tab. 3. Wpływ związku kadmu na ruchliwość spontaniczną myszy (wartości średnie)
Effect of cadmium compound on spontaneous mobility of mice (mean values)

Observacje po podaniu i.p. chlorku kadmu	Grupa kontrolna (K)	Zastosowane dawki chlorku kadmu w mg/kg m.c.			
		0,1	0,25	0,5	1,0
7	217	272	256	254	254
10	240	250	275	255	240

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

Observacje po podaniu i.p. chlorku kadmu	Grupa kontrolna (K)	Zastosowane dawki chlorku kadmu w mg/kg m.c.			
		0,1	0,25	0,5	1,0
3	36,8	37,5	37,3	37,1	37,1
7		37,0	36,9	36,8	36,9
10		37,2	37,1	37,0	37,1

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

Zastosowane dawki chlorku kadmu w mg/kg m.c.	Zawartość w µg/g świeżej tkanki	
	NA	DA
K	0,6215 ± 0,010	0,9968 ± 0,05
0,1	0,6765 ± 0,010	1,3130 ± 0,07
0,25	0,7810 ± 0,010	2,3580 ± 0,30
0,5	0,6215 ± 0,007	2,2860 ± 0,09
1,0	0,6765 ± 0,010	2,6640 ± 0,30

tach na populację ludzką. Liczne badania na zwierzętach dowodzą, że kumulacja kadmu nie jest obojętna dla wewnątrzkomórkowego metabolizmu, gdyż prowadzi do zmian biochemicznych i ultrastrukturalnych narządów wewnętrznych (1, 4, 5, 13, 16).

W przeprowadzonych badaniach doświadczalnych na zwierzętach podanych przewlekłej ekspozycji na związek kadmu wykazano jego hamujący wpływ na ośrodkowy układ nerwowy. W miarę wzrostu stosowanych dawek tego związku oraz czasu ekspozycji zaobserwowano znaczne zaburzenia koordynacji ruchowej. Mogło to być wynikiem nagromadzenia się w organizmie zwierząt toksycznego związku, mającego właściwości kumulowania się w tkankach, szczególnie ośrodkowego układu nerwowego. Podobną zależność dawką–efekt stwierdzono w odniesieniu do ruchliwości poznawczej. Największą kumulację wykazano po zastosowaniu maksymalnej dawki. Związek kadmu pobudza układ motoryczny zwierząt oraz wykazuje działanie hipertermiczne. Zmiany w zachowaniu się zwierząt w wyniku przewlekłego działania tego związku mogą być wywołane jego nagromadzeniem się. Związek ten wykazuje silne właściwości kumulacyjne, co nie jest obojętne dla organizmu, prowadzi bowiem do dysfunkcji narządów wewnętrznych (2, 3, 7, 13, 16). W doświadczalnym zatrutowaniu szczurów stwierdzono zmiany morfologiczne w mózgowiu, co świadczy o dużej toksyczności kadmu w odniesieniu do tkanki nerwowej (10). Singhall i wsp. (14) w przeprowadzanych badaniach potwierdzili toksyczność związku kadmu w odniesieniu do układu nerwowego. Obok tych zmian wykazali także zaburzenia w metabolizmie i poziomie amin biogennych. Związki kadmu stymulują uwalnianie katecholamin: adrenaliny i noradrenaliny z rdzenia nadnerczy (8, 14). W przeprowadzonych badaniach na myszach związek kadmu nie wpływał istotnie na poziom NA, natomiast wraz ze wzrostem stosowanych dawek poziom DA ulegał podwyższeniu.

Badania z zakresu przemian biochemicznych w ustroju w wyniku toksycznego działania kadmu są fragmentaryczne. Nie ma wątpliwości, że wywołuje on szereg zaburzeń w procesach metabolicznych ustroju. Prowadzenie badań eksperymentalnych pozwoli szerzej wyjaśnić mechanizm toksycznego działania związków kadmu, a także umożliwi wyjaśnić zakres relacji między zaburzeniami w modelu doświadczalnym a zmianami obserwowanymi u ludzi.

Wnioski

1. Związek kadmu powoduje zaburzenie koordynacji ruchowej oraz aktywności poznawczej myszy w zależności od dawki i czasu ekspozycji.
2. Związek kadmu nieznacznie zwiększa ruchliwość spontaniczną oraz wykazuje nieznaczne działanie hipertermiczne.
3. Po zastosowaniu wzrastających dawek związku kadmu poziom nor-

adrenalinę w mózgu myszy nie zmienia się, natomiast poziom dopaminy ulega podwyższeniu.

4. Po zastosowaniu związku kadmu zmiany behawioralne i neurochemiczne sugerują hamujące działanie w przewodnictwie obwodowym i ośrodkowym układzie nerwowym.

PIŚMIENNICTWO

1. Axelsson B., Piscator M.: Renal Damage after Prolonged Exposure to Cadmium. An Experimental Study. *Arch. Environ. Health* **12**, 360, 1966.
2. Axelsson B., Piscator M.: Serum Proteins in Cadmium Poisoned Rabbits. *Arch. Environ. Health* **12**, 374, 1966.
3. Axelsson B. i wsp.: Renal Lesions in the Rabbit after Long-term Exposure to Cadmium. *Arch. Environ. Health* **17**, 24, 1968.
4. Dutkiewicz T.: Chemia toksykologiczna. PZWL, Warszawa 1974.
5. Feader B. J. i wsp.: Biochemical and Ultrastructural Changes in Livers of Cadmium-treated Rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **39**, 473, 1977.
6. Gaździk T.: Morfologiczne i cytochemiczne różnicowanie gonady męskiej szczura w warunkach fizjologicznych i po podaniu toksycznej dawki kadmu. *Med. Pr.* **3**, 169, 1984.
7. Głowiak B. i wsp.: Podstawy ochrony środowiska. PWN, Warszawa 1985.
8. Hart D. T., Borowitz J. L.: Adrenal Catecholamine Release by Divalent Mercury and Cadmium. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **209**, 94, 1974.
9. Kossakowski S.: Badania kliniczne i hematologiczne królików w ostrym zatruciu kadmem. *Med. Wet.* **3**, 145, 1983.
10. Madej J. A. i wsp.: Wpływ niedoborów wapniowych na zmiany histopatologiczne oraz kumulację metali w mózgu szczurów w kompleksowym zatruciu ołowiem, kadmem i rtęcią. *Bromat. Chem. Toksykol.* **3**, 173, 1983.
11. Marek M.: Kliniczna patologia zawodowa. PZWL, Warszawa 1982.
12. Oktaba W.: Elementy statystyki matematycznej i metodyka doświadczalna. PWN, Warszawa 1976.
13. Rusiecki W., Kubikowski T.: Toksykologia współczesna. PZWL, Warszawa 1976.
14. Singhal R. L. i wsp.: Aspects of the Biochemical Toxicology of Cadmium. *Ped. Prog.* **35**, 75, 1976.
15. Valle B. L., Umer D. D.: Biochemical Effects of Mercury, Cadmium and Lead. *Ann. Rev. Biochem.* **41**, 91, 1972.
16. Żak J., Steibert E.: Biochemiczne aspekty toksykologii kadmu. *Post. Hig. Med. Dośw.* **3**, 251, 1980.

РЕЗЮМЕ

Предпосылкой работы являлось определение влияния соединения кадмия на центральную нервную систему подопытных животных в длительной экспозиции. Проведены наблюдения поведения мышей в испытаниях на координацию движений, познавательную активность, произвольную подвижность, подвижность в испытании прямого прута, а также исследована температура тела животных. В биохимических исследованиях определен уровень норадреналина и допамина. Обнаружено тормозящее действие соединения кадмия на центральную нервную систему. Исследуемое соединение кадмия действовало гипертонически. Уровень норадреналина в мозгу не изменялся, однако уровень допамина повышался. Обнаруженные изменения в поведении подопытных животных могут быть результатом кумуляции соединения кадмия в организме.

SUMMARY

The aim of the studies was to estimate the influence of cadmium compound on the central nervous system of experimental animals during the long-lasting exposition. Behaviour of mice was observed in the tests on: motorial coordination, cognitive activity, spontaneous mobility, mobility in the rod test, and the body temperature of mice was also checked. In biochemical studies the level of noradrenalin and dopamin was examined. The studies revealed the inhibitory effect of cadmium compound on the central nervous system. The examined compound had a slight hipertonic effect. The level of noradrenalin in brain was not changed but the level of dopamin was increased. The observed disturbances in the behaviour of experimental animals may be caused by cumulation of cadmium compound in an organism.