

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

Zbigniew BORZĘCKI, Anna KORSZEŃ, Alicja WÓJCIK,  
Halina BORZĘCKA

### Interakcja związku ołowiu i haloperidolu w ocenie zachowania się myszy

Интердействие соединений свинца и галоперидола в оценке поведения мышей

Interaction of Lead Compound and Haloperidol in Evaluation of Mice Behaviour

Obecnie rozwój przemysłu i motoryzacji spowodował znaczny wzrost różnego rodzaju zanieczyszczeń w środowisku naturalnym. Przedostające się do atmosfery pyły przemysłowe i spaliny samochodowe zawierają związki biologicznie czynne, łatwo wchłaniane przez organizmy żywe. Wiele spośród tych związków wykazuje właściwości kumulacyjne. Istotna ich część to związki metali ciężkich, takich jak: ołów, rtęć, kadm. Wśród metali ciężkich ołów jest najbardziej rozpowszechnionym metalem w środowisku człowieka i stanowi istotne zagrożenie toksykologiczne (7, 8, 12, 13). Narażenie na działanie nawet małych, ale stałych dawek związków ołowiu, mającego właściwości kumulowania się, może prowadzić do nieodwracalnych zmian patomorfologicznych (3, 8, 9, 11). Ogromne tempo życia niesie ze sobą wzrost sytuacji stresowych, napięć, co sprawia, że człowiek niejednokrotnie sięga po leki uspokajające. W ostatnich latach stwierdza się wzrost chorób psychicznych, a w związku z tym częste przyjmowanie leków psychotropowych. Do najsilniej działających leków neuroleptycznych należą pochodne butyrofenonu, wśród których czołowe miejsce zajmuje haloperidol, wykazujący duże powinowactwo do układu nerwowego, a zwłaszcza ośrodka podkorowego (1, 4). Zagadnienie interakcji różnych czynników chemicznych, między innymi metali ciężkich, zwłaszcza ołowiu i niektórych leków, a szczególnie interakcji w organizmie człowieka i oddziaływania na wewnątrzkomórkowy metabolizm — to istotne problemy zdrowotne nakreślające kierunki badań.

Celem przeprowadzonych badań była ocena zachowania się zwierząt doświadczalnych poddanych ostrej ekspozycji na różne dawki związku ołowiu w połączeniu z określoną dawką haloperidolu.

#### MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na białych myszach szczepu Albino Swiss o m.c. 16–30 g. Zwierzętom podawano łącznie roztwór octanu ołowiu i haloperidolu drogą dootrzewnową (i.p.). Roztwór octanu ołowiu zastosowano w dawkach: 1; 2,5; 5; 10 mg/kg m.c. oraz haloperidol w dawce

2 mg/kg m.c. Zwierzęta grupy kontrolnej otrzymywały iniekcję odpowiedniej objętości rozpuszczalnika (wody redestylowanej).

Uzyskane wyniki przeprowadzonych badań zestawiono w postaci średnich i opracowano statystycznie posługując się testem  $t$  — Studenta dla dwóch średnich z małych prób (10). Wykonano następujące badania, określające wpływ badanych 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 temperaturę.

### WYNIKI

Koordynacja ruchowa myszy obserwowana na pręcie obrotowym w porównaniu z grupą kontrolną uległa istotnemu zaburzeniu. Na skutek zastosowania różnych dawek badanych związków żadna z myszy nie utrzymała się na obracającym się pręcie w czasie 120 sek. Średni czas utrzymywania się zwierząt po zastosowaniu octanu ołowiu w dawkach 1,0 i 2,5 mg/kg m.c. łącznie z haloperidolem w dawce 2 mg/kg m.c. był jednakowy i wynosił 25 sek. Po podaniu dawki 5 mg/kg m.c. octanu ołowiu i haloperidolu w dawce 2 mg/kg m.c., średni czas utrzymania się na pręcie obrotowym wynosił 36,5 sek. Największe zaburzenie koordynacji ruchowej u zwierząt zaobserwowano po iniekcji (i.p.) 10 mg/kg m.c. octanu ołowiu i 2 mg/kg m.c. haloperidolu. Średni czas utrzymania się myszy na obracającym się pręcie wynosił 21,5 sek. (tab. 1).

Tab. 1. Wpływ łącznego podania octanu ołowiu i haloperidolu na koordynację ruchową myszy  
Effect of joint application of acetate lead and haloperidol on motorial activity of mice

Zastosowane dawki	Liczba zwierząt w badanej grupie (n)	Średni czas utrzymywania się zwierząt na pręcie obrotowym $\bar{x} \pm SD$	Istotność statystyczna
Grupa kontrolna	10	84 $\pm$ 3,23	$p \leq 0,001$
1 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	25 $\pm$ 1,02	
Grupa kontrolna	10	96 $\pm$ 2,94	$p \leq 0,001$
2,5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	25 $\pm$ 1,41	
Grupa kontrolna	10	109,5 $\pm$ 1,13	$p \leq 0,001$
5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	36,5 $\pm$ 2,41	
Grupa kontrolna	8	98,2 $\pm$ 4,03	$p \leq 0,001$
10 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	21,5 $\pm$ 2,05	

Ruchliwość spontaniczna znacznie się zmniejszyła po zastosowaniu i.p. toksycznych związków. Różnice były statystycznie istotne. Największy spadek aktywności motorycznej zwierząt w porównaniu z grupą kontrolną zaobser-

Tab. 2. Wpływ łącznego podania octanu ołowiu i haloperidolu na ruchliwość spontaniczną myszy  
Effect of joint application of acetate lead and haloperidol on spontaneous activity of mice

Zastosowane dawki	Liczba zwierząt w badanej grupie (n)	Średnia ruchliwość spontaniczna zwierząt $\bar{x} \pm SD$	Istotność statystyczna
Grupa kontrolna	10	320,1 $\pm$ 13,29	$p \leq 0,001$
1 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	20,2 $\pm$ 2,89	
Grupa kontrolna	10	273,4 $\pm$ 17,33	$p \leq 0,002$
2,5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	20,0 $\pm$ 1,67	
Grupa kontrolna	10	454,4 $\pm$ 16,61	$p \leq 0,001$
5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	19,5 $\pm$ 1,41	
Grupa kontrolna	8	332,5 $\pm$ 16,84	$p \leq 0,001$
10 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	7,5 $\pm$ 0,43	

Tab. 3. Wpływ łącznego podania octanu ołowiu i haloperidolu na ruchliwość poznawczą myszy  
Effect of joint application of acetate lead and haloperidol on cognitive mobility of mice

Zastosowane dawki	Liczba zwierząt w badanej grupie (n)	Średnia aktywność poznawcza zwierząt $\bar{x} \pm SD$	Istotność statystyczna
Grupa kontrolna	10	34,7 $\pm$ 1,02	$p \leq 0,001$
1 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	2,3 $\pm$ 0,16	
Grupa kontrolna	10	28 $\pm$ 0,70	$p \leq 0,001$
2,5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	3,1 $\pm$ 0,29	
Grupa kontrolna	10	28,9 $\pm$ 0,67	$p \leq 0,001$
5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	2,3 $\pm$ 0,17	
Grupa kontrolna	8	37,3 $\pm$ 1,66	$p \leq 0,001$
10 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	1,1 $\pm$ 0,10	

Tab. 4. Wpływ łącznego podania octanu ołowiu i haloperidolu na ruchliwość myszy w teście przęta prostego

Effect of joint application of acetate lead and haloperidol on body temperature of mice

Zwierzęta utrzymujące się na przęcie (%)				
Grupa kontrolna /	1 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	2,5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu
100	100	—	—	—
100	—	80	—	—
100	—	—	100	—
100	—	—	—	100

Tab. 5. Wpływ łącznego podania octanu ołowiu i haloperidolu na ciepłotę ciała myszy

Effect joint application of acetate lead and haloperidol on body temperature of mice

Zastosowane dawki	Liczba zwierząt w badanej grupie (n)	Średnia temperatura zwierząt normotermicznych $\bar{x} \pm SD$	Istotność statystyczna
Grupa kontrolna	10	37,2 $\pm$ 0,55	$p \leq 0,02$
1 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	36,2 $\pm$ 0,32	
Grupa kontrolna	10	38,2 $\pm$ 0,75	$p \leq 0,001$
2,5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	35,8 $\pm$ 0,96	
Grupa kontrolna	10	38,5 $\pm$ 0,5	$p \leq 0,001$
5 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	36,2 $\pm$ 0,79	
Grupa kontrolna	8	38,3 $\pm$ 1,14	$p \leq 0,001$
10 mg/kg m.c. octanu ołowiu + 2 mg/kg m.c. haloperidolu	10	36,3 $\pm$ 1,22	

wowano po podaniu dawki 10 mg/kg m.c. octanu ołowiu i 2 mg/kg m.c. haloperidolu. Średnia ruchliwość spontaniczna zwierząt po podaniu tej dawki wynosiła 7,5 zarejestrowanych impulsów w aktometrach fotoopornikowych (tab. 2).

Aktywność poznawcza myszy również uległa istotnemu zaburzeniu. Ilość zaglądnęć do otworów na płycie w czasie 5 min. obserwacji bardzo wyraźnie malała wraz ze wzrostem stosowanych dawek toksycznych związków. Wysoce znamienne obniżenie ruchliwości poznawczej zaobserwowano po zastosowaniu największej dawki — 10 mg/kg m.c. octanu ołowiu i 2 mg/kg m.c. haloperidolu (tab. 3).

Nie stwierdzono zaburzenia w utrzymywaniu się zwierząt na pręcie prostym. Dawka 2,5 mg/kg m.c. octanu ołowiu i 2 mg/kg m.c. haloperidolu u 80% badanych zwierząt zachowywała zdolność utrzymywania się na pręcie prostym. Natomiast po podaniu pozostałych dawek związków 100% badanych zwierząt utrzymywało się na pręcie prostym, jednak obserwowano znaczne ograniczenie ruchów pionowych na pręcie. Pod wpływem działania wyższych dawek badane zwierzęta przybierały na pręcie pozycję nieruchomą, przy czym zaobserwowano widoczne drżenie mięśni (tab. 4).

Działanie octanu ołowiu i haloperidolu na ciepłotę ciała myszy normotermicznych było hipotermiczne. Wszystkie zastosowane dawki obniżały temperaturę ciała badanych myszy w porównaniu z grupą kontrolną. Różnice były statystycznie istotne. Obniżenie temperatury ciała myszy nastąpiło średnio o 2°C (tab. 5).

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Prowadzenie długotrwałych badań doświadczalnych nad działaniem związków ołowiu i interakcją tego czynnika patogenicznego z innymi substancjami chemicznymi może przyczynić się do określenia stopnia narażenia i ewentualnego przewidywania negatywnego wpływu na zdrowie populacji ludzkiej. Ze względu na powszechne występowanie oraz brak barier biologicznych, regulujących jego wchłanianie, ołów stanowi poważne zagrożenie cywilizacyjne (5, 7, 8). Ogromnie niebezpieczna jest również interakcja metali ciężkich z lekami, gdyż w konsekwencji może prowadzić do niekorzystnych zmian wewnątrzustrojowych oraz zmian w zachowaniu się i reakcjach człowieka. W celu oceny wpływu łącznego zastosowania związku ołowiu i leku neuroleptycznego na zachowanie się zwierząt doświadczalnych przeprowadzono testy behawioralne. W badaniach na myszach poddanych łącznej ekspozycji na octan ołowiu i haloperidol wykazano hamujący wpływ tych związków na ośrodkowy układ nerwowy. W teście koordynacji ruchowej stwierdzono istotne zaburzenia, objawiające się spadaniem zwierząt z pręta obrotowego, wzrastające w miarę zwiększania dawki i czasu ekspozycji. Podobny efekt i zależność wykazano w teście ruchliwości spontanicznej. W badaniach nad wpływem samego związku ołowiu na zachowanie się zwierząt doświadczalnych uzyskano zbliżone wyniki, co jest prawdopodobnie efektem jego kumulowania się w organizmie (14). Znamienne statystycznie obniżenie aktywności spontanicznej i poznawczej pod wpływem stosowania łącznie octanu ołowiu i haloperidolu (w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzenie różnic statystycznie istotnych) nie było analogiczne jak w doświadczeniach z samym związkiem ołowiu, gdyż nie wykazano w nich różnic istotnych w porównaniu z grupą kontrolną, a tylko stwierdzono znaczne ograniczenie ruchów, bez zaburzeń w utrzymywaniu się na pręcie prostym,

obserwując tylko drżenie mięśni (14). Interakcja octanu ołowiu i haloperidolu wywołała statystycznie znamienne działanie hipotermiczne, natomiast sam związek ołowiu nie powodował początkowo obniżenia temperatury ciała zwierząt normotermicznych, dopiero spowodowała to dawka maksymalna (14).

Zaburzenia behawioralne u zwierząt w wyniku narażenia na działanie toksycznego związku ołowiu znalazły potwierdzenie w pracach innych badaczy. Wysokie dawki związku ołowiu w eksperymentalnych badaniach na zwierzętach powodowały występowanie encefalopatii (2, 11, 12). Zmniejszenie szybkości przewodnictwa nerwowego, obserwowane u ludzi, zostało również potwierdzone na drodze badań doświadczalnych u świnek morskich (6).

Toksyczne związki ołowiu obok zaburzeń behawioralnych wywołują zmiany neurochemiczne. Ołów wzmacnia funkcję układu adrenergicznego, natomiast hamuje aktywność układu cholinergicznego. Biochemiczne i farmakologiczne doświadczenia z haloperidolem wykazały jego blokujące działanie na receptory dopaminowe. Zauważono, że małe dawki haloperidolu powodowały u zwierząt doświadczalnych działanie pobudzające, natomiast dawki duże działały zdecydowanie neuroleptycznie (1, 4). Nie wyjaśniono jeszcze w pełni mechanizmu zmian funkcji neurochemicznych mózgu pod wpływem działania toksycznego związku ołowiu i leku neuroleptycznego, wykazującego duże powinowactwo do układu nerwowego. Zmiany, jakie związek chemiczny może powodować w organizmie, zależą od wielkości dawki i długości czasu ekspozycji. Szybkość, z jaką substancja ulega przemianom i wydalaniu, jest zatem istotna w ocenie efektów biologicznych. Zagadnienie to zyskało duże znaczenie przy ustalaniu sposobu dawkowania leków i jest przede wszystkim ważne przy określaniu stopnia zagrożenia zdrowia substancjami toksycznymi wchłanianymi przez organizm człowieka.

Warunki życia w środowisku zmienionym przez człowieka w procesie urbanizacji, a szczególnie uprzemysłowienia i chemizacji stwarzają możliwość kumulowania się wielu szkodliwych czynników. W wyniku tego zagrożenia może dochodzić do interakcji substancji toksycznych. Prowadzenie badań eksperymentalnych na zwierzętach może przyczynić się do poznania mechanizmu działania substancji toksycznych i między innymi niektórych leków. Wyniki modelowych testów ekspozycyjnych przeprowadzonych na zwierzętach doświadczalnych mogą posłużyć do oceny reakcji farmakologicznej organizmu poddanego mieszanej ekspozycji na niekorzystne czynniki środowiskowe. Poznanie tych czynników oraz interakcji wewnątrzustrojowych pozwolić może na prowadzenie coraz skuteczniejszych akcji profilaktycznych i na stworzenie odpowiedniej ochrony zdrowia populacji ludzkiej.

## Wnioski

1. Łączne zastosowanie różnych dawek związku ołowiu z jedną dawką haloperidolu wywołało proporcjonalne do dawki zmiany w zachowaniu się zwierząt. Zmiany te mogą sugerować zaburzenia przewodnictwa nerwowego w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym.
2. Stwierdzono zaburzenie koordynacji ruchowej myszy.
3. Aktywność spontaniczna ulegała obniżaniu w miarę wzrostu stosowanych dawek.
4. Maksymalne dawki wysoce znamienne obniżały aktywność poznawczą myszy.
5. Stwierdzono silne działanie hipotermiczne, obniżające średnio o 2°C ciepłotę ciała myszy normotermicznych.

## PIŚMIENNICTWO

1. Borzęcki Z., Kleinrok Z.: Wpływ haloperidolu na poziom 5-hydroksytryptaminy oraz kwasu 5-hydroksyindolooctowego w mózgu szczurów poddanych działaniu *p*-chlorofenylalaniny. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* **27**, 303, 1972.
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. Christopheres A. J.: Environmental Lead Question. *Med. J. Aust.* **2**, 296, 1980.
4. Cwynar S., Bukowczyk A.: Zastosowanie haloperidolu w leczeniu chorych psychicznie. *Neur. Psych. Pol.* **3**, 421, 1962.
5. Farbiszewski R., Gabryel H.: Kancerogeneza wywołana przez metale. *Bromat. Chem. Toksykol.* **2**, 189, 1981.
6. Fullerton P. M.: Chronic Peripheral Neuropathy Produced by Lead Poisoning in Guinea Pigs. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **25**, 214, 1966.
7. Głowiak G., Kempa E., Winnicki T.: Podstawy ochrony środowiska. PWN, Warszawa 1985.
8. Kittel M.: Toksykodynamika przewlekłych zatruc małymi dawkami ołowiu. *Post. Hig. Med. Dośw.* **37**, 325, 1983.
9. Marek M.: Kliniczna patologia zawodowa. PZWL, Warszawa 1982.
10. Okta ba W.: Elementy statystyki matematycznej i metodyka doświadczalna. PWN, Warszawa 1976.
11. Stowe H. D. i wsp.: Experimental Oral Lead Toxicity in Young Dogs. *Arch. Pathol.* **95**, 106, 1973.
12. Strusiński A.: Zanieczyszczenie środowiska ołowiem pochodzącym z gazów spalinowych samochodów. *Roczn. PZH* **4**, 411, 1978.
13. Weber M.: Zatrucia zawodowe substancjami nieorganicznymi. PZWL, Warszawa 1972.
14. Wójcik A. i wsp.: Wpływ przewlekłego działania związku ołowiu na zachowanie się zwierząt doświadczalnych. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D* **42**, 29, 1987.

Otrzymano 1987.11.26.

## РЕЗЮМЕ

Целью проводимых исследований была оценка поведения подопытных животных подвергнутых острой экспозиции различных доз соединений свинца одновременно с определённой дозой галоперидола. Животные были подвергнуты бихевиоральным влияниям на координацию движений, спонтанную подвижность, познавательную подвижность, поведение на тест прямого прута, а также на температуру тела мышей.

Вследствии острой экспозиции на исследуемые соединения установлено присутствие тормозящего влияния на центральную нервную систему, а наблюдая зависимость доза-эффект было обнаружено расстройство координации движений у мышей, снижение познавательной подвижности, а также познавательной активности. Установлено также, что кумулятивное применение соединений свинца и галоперидола сильно действует гипотермически на температуру тела нормотермических мышей.

## SUMMARY

The purpose of the carried out research was to evaluate the behaviour of animals acutely exposed to various doses of lead compounds in combination with a given dose of haloperidol. The animals were subjected to behavioural tests defining the influence on motor coordination, spontaneous activity, cognitive activity, behaviour in the straight rod test as well as on the body temperature of mice.

Acute exposure to the tested compounds proved to have inhibitive influence on the central nervous system. Observation of the dose-effect relation revealed motor coordination disturbance in mice, lowered spontaneous activity and cognitive activity. It was also found out that joint administration of lead compounds and haloperidol has strong hypothermal effect on the body temperature of normothermal mice.