

ANNA BIEL-ZIELIŃSKA, JACEK BRZEZIŃSKI

ZABURZENIA NEUROCHEMICZNE W USTROJU SZCZURA  
PRZY ŁĄCZNYM ODDZIAŁYWANIU PRIMORU I TIURAMU.  
CZ. II. ZMIANY ZAWARTOŚCI AMIN KATECHOLOWYCH I SEROTONINY  
W MÓZGU, SERCU I NADNERCZACH SZCZURA PRZY  
ZRÓŻNICOWANYCH POZIOMACH DAWKOWANIA

NEUROCHEMICAL DISTURBANCES IN RAT UPON COMBINED ACTION  
OF PRIMOR AND TIURAM.

PART II. CHANGES IN LEVELS OF CATECHOLAMINES AND SEROTONINE  
IN RAT BRAIN, HEART AND ADRENAL GLANDS AFTER DIFFERENT DOSES

Zakład Toksykologii Akademii Medycznej w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. J. Brzeziński

*Przebadano wpływ podawania primoru oraz równotoksycznej mieszaniny primor/tiuram na zawartość dopaminy (DA), noradrenaliny (NA), adrenaliny (A) i serotoniny (5-HT) w mózgu, sercu i nadnerczach szczura w warunkach doświadczenia ostrego oraz po wielokrotnym podaniu niskich dawek.*

W części I pracy [3] wykazano, że zarówno primor jak też równotoksyczna mieszanina primor/tiuram powodują zmiany poziomów badanych neuroprzekaźników w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym. Oddziaływanie mieszaniny związków wykazało ten sam kierunek co primor lecz zmiany przebiegały ze zwiększoną dynamiką i obejmowały cały okres badania (12h). Oddziaływanie primoru ograniczało się w większości do pierwszej godziny po zatruciu. Stwierdzono ponadto, że zarówno primor jak też równotoksyczna mieszanina primor/tiuram nie wykazują wybiórczego powinowactwa do określonego obszaru mózgu, lecz obniżają zawartość DA i NA we wszystkich podstawowych strukturach.

Z wcześniej opublikowanych danych własnych [4] wynika, że primor w warunkach zatrucia podostrego dawką 20%  $DL_{50}$  wywiera słabiej zaznaczone i krótsze działanie na układ badanych amin. Profil obserwowanych zmian był zbliżony do występujących w zatruciu ostrym. Odmiennie wyniki otrzymano dla nadnerczy. Podczas gdy przy dawce 50%  $DL_{50}$  i następował wzrost zawartości NA i DA w tym narządzie, dawka 20%  $DL_{50}$  powodowała spadek poziomu amin.

Celem niniejszej pracy było:

1. Zbadanie w jaki sposób tiuram (ditiokarbaminian o znanym wpływie na biosyntezę amin katecholowych [6, 9]) podawany jednorazowo łącznie z primorem w dawce 20%  $DL_{50}$  modyfikuje efekty wywołane przez primor,

2. Określenie zmian badanych parametrów oddziaływania neurochemicznego primoru oraz równotoksycznej mieszaniny primor/tiuram podawanych w niskich dawkach przez 14 dni. Określono zmiany poziomu DA, NA, A i 5-HT w mózgu, 5-HT w sercu oraz DA, NA i A w nadnerczach szczura.

## MATERIAŁ I METODYKA

Badania wykonano na szczurach samcach rasy *Wistar*, o masie ciała 180–250 g. Zwierzęta, po 14-dniowej adaptacji otrzymywały primor lub równotoksyczną mieszaninę primor/tiuram w zawieszynie olejowej (olej sojowy) per os, sondą do żołądka. Grupom kontrolnym podawano odpowiednią objętość oleju sojowego.

W badaniu ostrym szczury otrzymywały jednorazowo primor łącznie z tiuramem w dawce 20%  $DL_{50}$  (dawki  $DL_{50}$  wyznaczone Zakładzie Toksykologii A.M. w Warszawie wynosiły dla szczurów samców odpowiednio: primor – 147 mg/kg, mieszanina – 458,9 mg/kg). W badaniach krótkoterminowych podawano primor lub mieszaninę związków codziennie przez 14 dni w dawce 5%  $DL_{50}$ . Kontrolę masy ciała wykonywano co drugi dzień. Zwierzęta zabijano przez szybką dekapitację. Do badań pobierano mózgi, serca i nadnercza. W doświadczeniu ostrym aminy oznaczano po 5, 10, 15, 20, 30, 60, 120, 180, 360 i 720 minutach, a w krótkoterminowych po 7 i 14 dniach.

Tkanki homogenizowano. Aminy katecholowe (A, NA, DA) wyodrębniano przez adsorpcję na tlenku glinu, serotoninę oddzielano na kolumnie wypełnionej żywicą jonow wymienną typu Dowex 50 W  $\times$  4 w formie sodowej. NA i A oznaczano spektrofotometrycznie wg metody *Weila-Malherbego* i *Bigelowa* [10] a DA i 5-HT również spektrofotometrycznie wg *Manchina* i wsp. [8]. Ocenę statystyczną wyników wykonano testem *t-studenta* po uprzedniej analizie wariancji i porównywanych średnich za pomocą testu *F-Snedecora*.

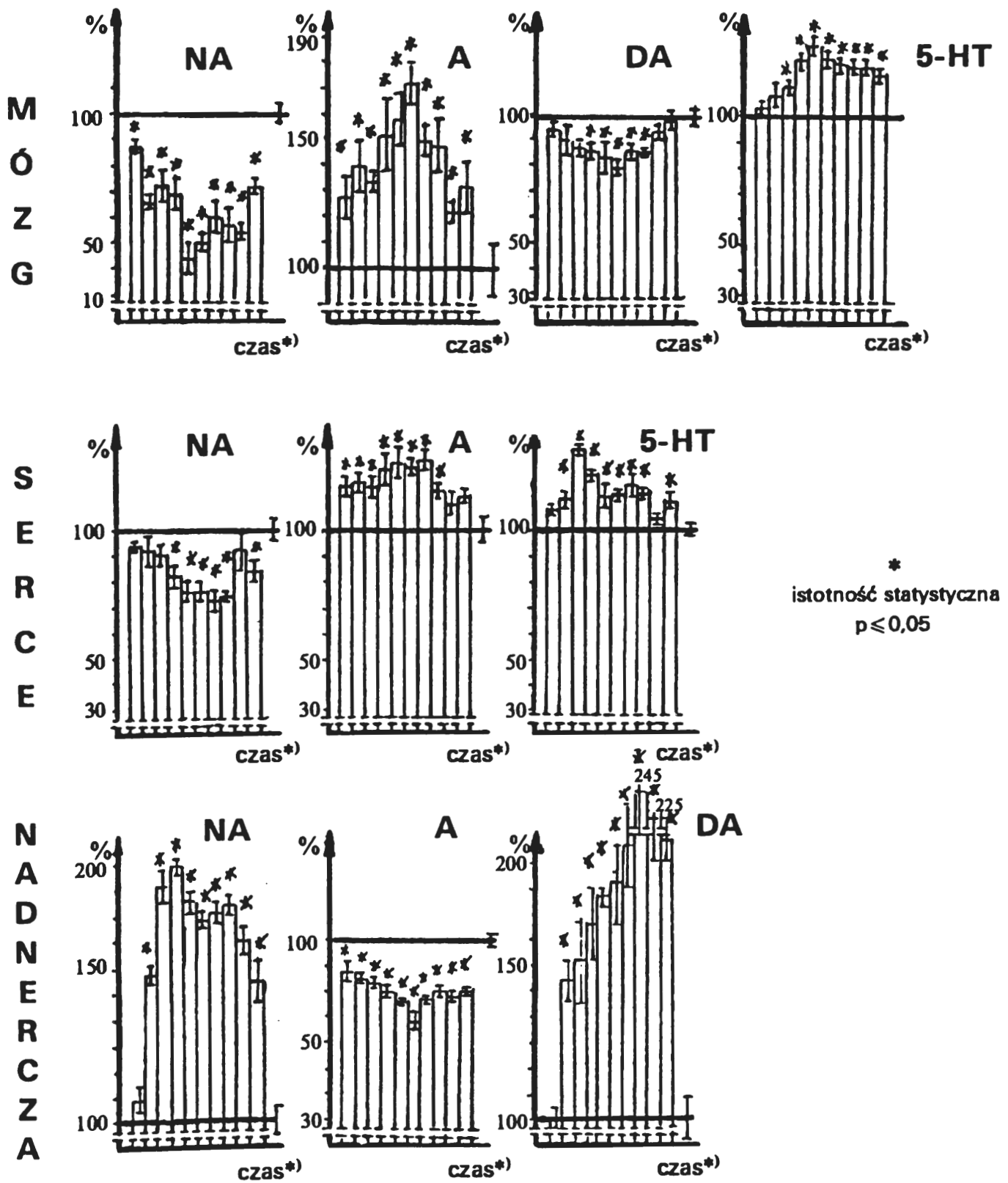
## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE.

## Wyniki przedstawiono na rycinach I – III

Przy zatruciu podostrym dawką (ryc. I) obserwowano, że równotoksyczna mieszanina primor/tiuram wykazała przedłużone oddziaływanie w stosunku do samego primoru [4], co potwierdza obserwacje w zatruciu ostrym dawką 50%  $DL_{50}$  [3]. Kierunek występujących zmian był w większości zgodny z obserwowanym przy zatruciu primorem [3]. Były one silniej zaznaczone i utrzymywały się dłużej. Wyjątek stanowiły zmiany w nadnerczach. Podczas gdy primor w dawce 20%  $DL_{50}$  obniżał zawartość wszystkich badanych katecholamin (KA) w tym narządzie, mieszanina primor/tiuram wywoływała wzrost poziomu DA i NA oraz spadek zawartości A. Taki układ wyników odpowiadał oddziaływaniu samego primoru oraz mieszaniny primor/tiuram w dawce 50%  $DL_{50}$ . Można to wiązać z faktem, że przy oddziaływaniu łącznym primoru i tiuramu dawka 20%  $DL_{50}$  powoduje wysokie w porównaniu z samym primorem obniżenie zawartości DA i NA w mózgu, co może doprowadzić do uruchomienia mechanizmu kompensacyjnego związanego z regulacją uwalniania NA i DA w nadnerczach przez oś podwzgórze-przysadka-nadnercza. Może to być przyczyną wzrostu poziomu NA i DA w nadnerczach.

Mieszanina primor/tiuram w dawce 20%  $DL_{50}$  w wyraźny sposób pobudza układ serotoninergetyczny. Primor w tej samej dawce wykazywał tylko ograniczone działanie na zawartość 5-HT w mózgu i sercu, w niewielkim stopniu zwiększając jej poziom [4]. W działaniu mieszaniny zaznacza się w tych warunkach „serotoninergetyczne” oddziaływanie tiuramu, który podwyższa zawartość 5-HT w mózgu i sercu [2].

W przekroju całego doświadczenia ciekawą obserwacją jest znaczny wzrost zawartości DA w nadnerczach (ryc. I) osiągając maksimum po trzech godzinach (wzrost o 145%) od chwili zatrucia. W ostatnim okresie badania, po 12h, przewyższa on jeszcze o 115% wartość kontrolną. Podobnie silnego i długotrwałego wzrostu nie



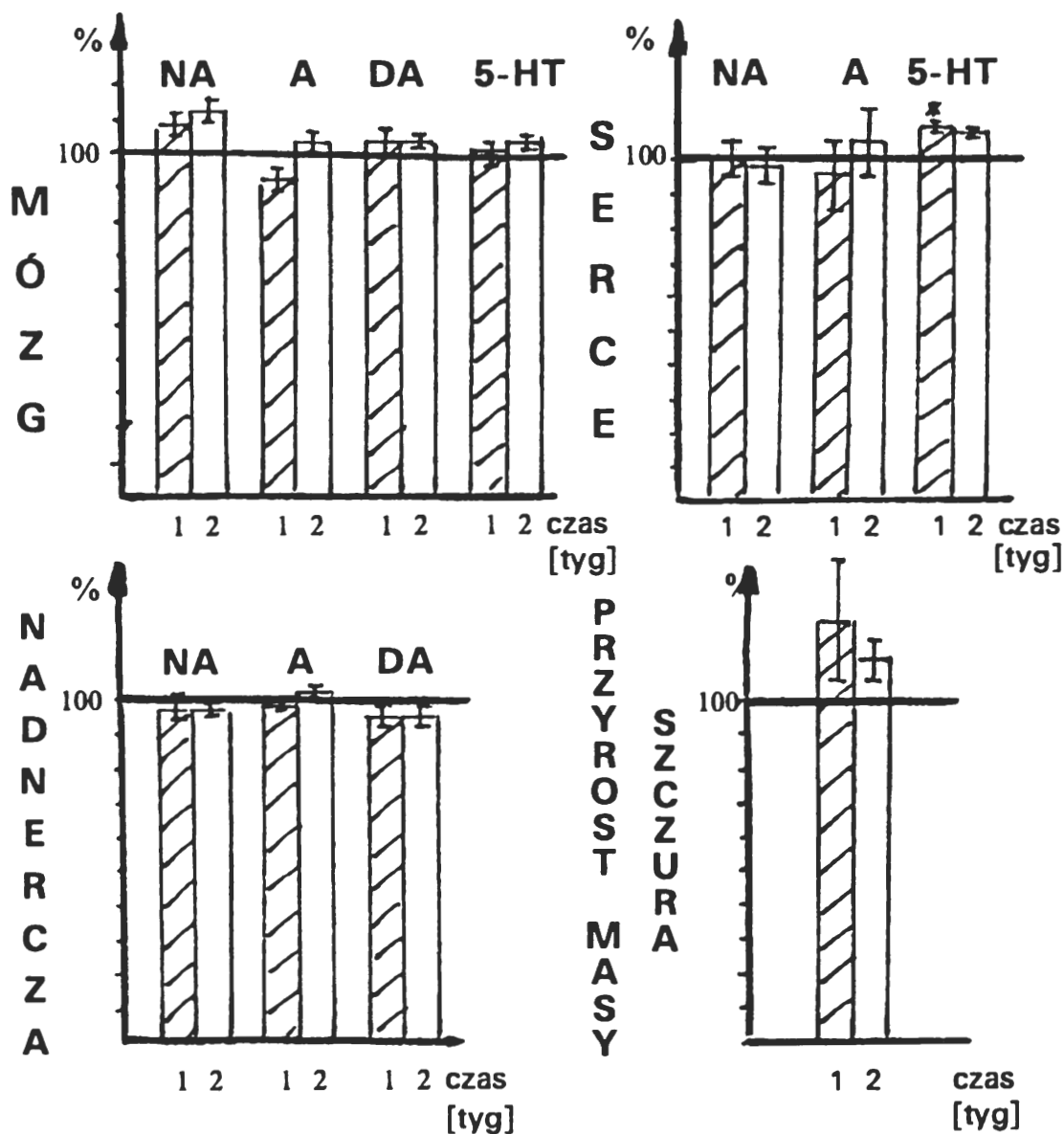
Ryc. I. Zmiany poziomów amin biogennych w tkankach szczura po zatruciu ostrym mieszaniną równotoksyczną primor/tiuram w dawce 20%  $DL_{50}$ .

Fig. I. Changes in biogenic amines levels in rat tissues after acute intoxication with 20%  $DL_{50}$  of primicarb/thiram equitoxic mixture.

obserwowano w toku poprzednich badań [3, 4]. Jest to tym bardziej znaczące, że primor w dawce 20%  $DL_{50}$  obniżał poziom DA w nadnerczach [4]. Odmienny efekt działania mieszaniny można tu wiązać z obecnością tiuramu i jego zdolnością do hamowania aktywności – hydroksylazy dopaminowej (DBH) [6, 9], enzymu

katalizującego etap przejścia DA w NA. Można przypuszczać, że w przedstawionych warunkach badania ten kierunek działania tiuramu odgrywa decydującą rolę. Takie założenie popiera obserwowany równocześnie wzrost poziomu NA, wykazując maksimum po 20 min od chwili zatrucia, a w dalszych przedziałach czasowych sukcesywny spadek. Daje to typowy obraz zmian występujący przy oddziaływaniu inhibitorów DBH, wyrażający się wzrostem poziomu DA a spadkiem zawartości NA.

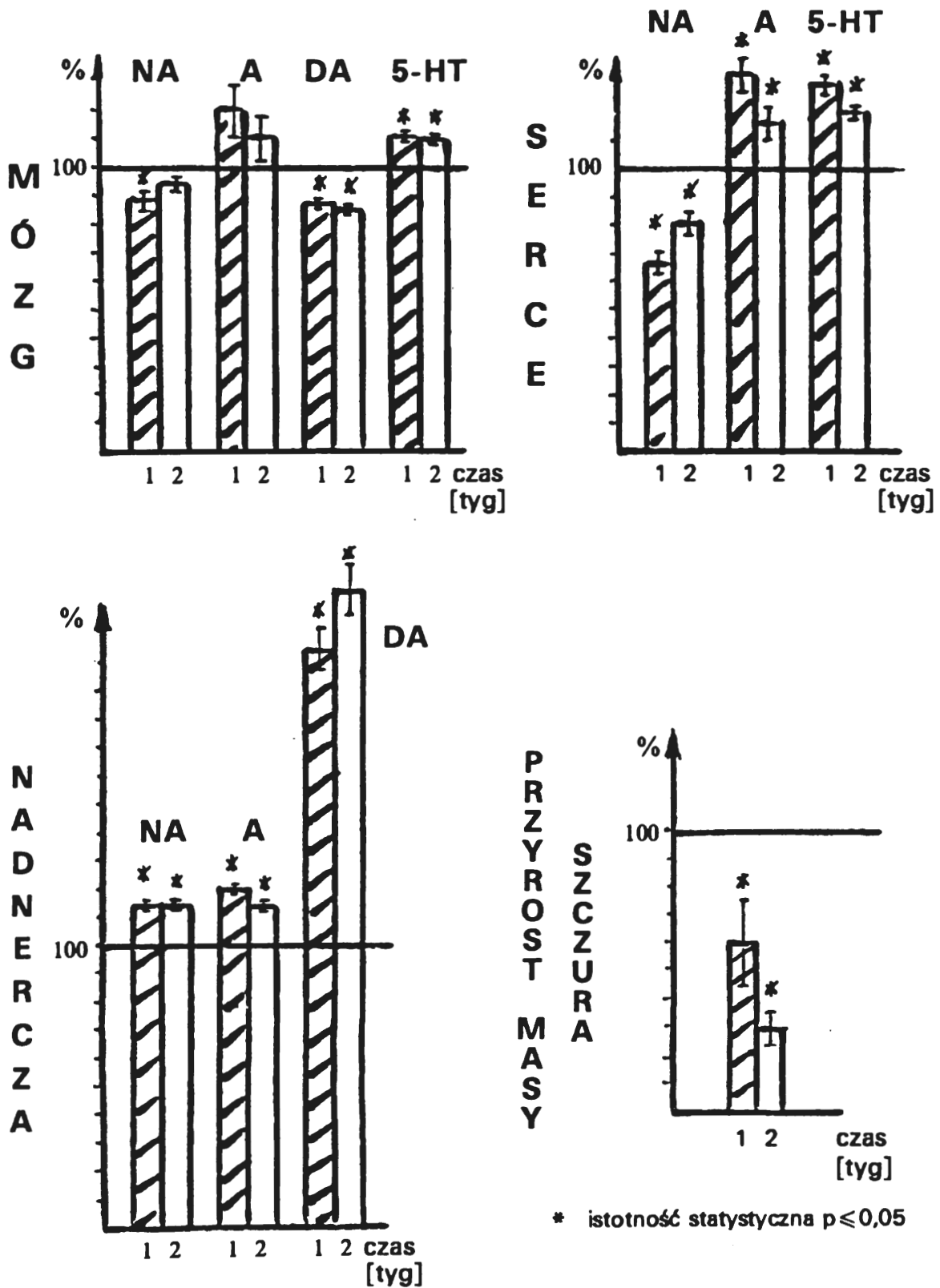
W zatruciu wielokrotnym (14 dni) po podawaniu primoru w dawce 5%  $DL_{50}$  wykazano (ryc. II), że poza niewielkim, statystycznie istotnym podwyższeniem poziomu 5-HT w sercu po 1 tygodniu sam primor nie powodował zaburzeń poziomów amin biogennych w badanych tkankach. Przyczyną może być wytwarzanie się tolerancji ustroju indukowanej małymi, powtarzającymi się dawkami primoru. Efekty takie opisano wcześniej dla innych pestycydów [5].



\* istotność statystyczna  $p < 0,05$

Ryc. II. Wpływ podawania primoru w dawce 5%  $DL_{50}$  w ciągu 14 dni na poziom amin biogennych w tkankach szczura.

Fig. II. Effect of pirimicarb administered to rats in a 5%  $DL_{50}$  daily dose for 14 days, on biogenic amines in tissues.



Ryc. III. Wpływ podawania równotoksycznej mieszanki primor/tiuram w dawce 5% DL<sub>50</sub> w ciągu 14 dni na poziom amin biogennych w tkankach szczura.

Fig. III. Effect of pirimicarb/thiram equitoxic mixture administered to rats in a 5% DL<sub>50</sub> daily dose for 14 days on biogenic amines in tissues.

W tym samym układzie doświadczalnym mieszanka równotoksyczna primor/tiuram wykazywała wyraźnie zaznaczoną aktywność neurochemiczną (ryc. III). Powodowała ona istotny statystycznie spadek poziomu NA i DA w mózgu oraz NA w sercu. Zmianom tym towarzyszył wzrost poziomu A, NA i DA w nadnerczach – przy

czym, co trzeba podkreślić – wzrost poziomu DA był tu również bardzo wysoki. Może to wynikać z opisanego w piśmiennictwie kumulacji tiuramu w ustroju [1, 7] i związanego z tym nasilonego hamowania DBH. Także poziom 5-HT w mózgu i sercu ulegał podwyższeniu, wykazując znamienność statystyczną w stosunku do poziomu kontrolnego. Stwierdzono również wyraźny spadek przyrostu masy ciała zwierząt którego nie obserwowano w przypadku podawania samego primoru.

Otrzymane wyniki wyraźnie wykazują wpływ tiuramu przedłużający i nasilający efekt neurochemiczny w mieszaninie równotoksycznej z primorem i potwierdzają dane uzyskane w warunkach zatruc ostrych [3, 4]. Wskazuje to na możliwość zwiększonego zagrożenia dla organizmu w przypadku skojarzonego oddziaływania tych dwóch pestycydów. Pozwala także wnioskować, że inne karbaminiany i ditiokarbaminiany przy łącznym oddziaływaniu mogą wykazywać podobne synergiczne działanie neurochemiczne.

### WNIOSKI

1. Mieszanina równotoksyczna primor/tiuram w warunkach zatrucia ostrego dawką 20%  $DL_{50}$  powoduje zaburzenia neurochemiczne w organizmie szczura, czego wynikiem są zmiany poziomów tkankowych DA, NA i 5-HT. Zaburzenia te są bardziej nasilone niż przy oddziaływaniu wyłącznie primoru.

2. W zatruciu krótkookresowym (14 dni) primoru w dawce 5%  $DL_{50}$ , poza niewielką aktywacją układu serotonergicznego w sercu, nie obserwowano zaburzeń poziomu badanych amin w mózgu i nadnerczach. Równotoksyczna mieszanina primor/tiuram wykazuje w tych warunkach znaczną aktywność neurochemiczną.

A. Biel-Zielińska, J. Brzeziński

### NEUROCHEMICAL DISTURBANCES IN RAT UPON COMBINED ACTION OF PRIMOR AND TIURAM. PART II. CHANGES IN THE LEVELS OF CATECHOLAMINES AND SEROTONINE IN RAT BRAIN, HEART AND ADRENAL GLANDS AFTER DIFFERENT DOSES

#### Summary

Investigation was made of the effect exerted on the dynamic equilibrium of catecholamines and serotonin in rat brain, heart and adrenal glands by an equitoxic mixture of pirimicarb/thiram (under conditions of subacute poisoning, per os with a dose amounting to 20% of  $LD_{50}$ ), as well as by pirimicarb and a pirimicarb/thiram mixture (under conditions of multiple short-term (14 days) poisoning, per os with a dose amounting to 5% of  $DL_{50}$ ). It was shown that an equitoxic mixture of pirimicarb/thiram caused upon acute poisoning disturbances in the levels of the investigated amine these changes were strongerly expressed than in the case of pirimicarb itself, and their direction agreed with that found for acute poisoning with 50%  $DL_{50}$ .

In multiple short-term poisoning, pirimicarb itself slightly activated only the serotonergic system in the heart. Under these conditions an equitoxic mixture of pirimicarb and thiram, as compared with pirimicarb itself, displayed considerable activity towards the system of the investigated amines. Thus, thiram applied in an equitoxic mixture pirimicarb evidently intensifies and prolongs the neurochemical effect of pirimicarb in rat.

## PIŚMIENICTWO

1. *Andreeva E.I.* TMTD-protravitel semian. *Khim. elsk.* 1979, 17, 22. – 2. *Biel A.*: Wpływ tiuramu na poziom serotoniny w mózgu i sercu szczura. Praca magisterska. Akademia Medyczna w Warszawie, 1977. – 3. *Biel-Zielińska A., Brzeziński J.*: Zaburzenia neurochemiczne w ustroju szczura przy łącznym oddziaływaniu primoru i tiuramu Cz. I. Zmiany poziomów amin katecholowych i serotoniny w mózgu, sercu i nadnerczach szczura w warunkach zatrucia ostrego. *Rocz. PZH* 1991, 42, 195. – 4. *Biel-Zielińska A., Zieliński W., Brzeziński J.*: Zmiany poziomu amin biogennych w tkankach szczura po podostrym zatruciu primorem. *Przeg. Lek.* 1983, 40, 485. – 5. *Durham F.W.*: The interaction of pesticides with other factors. *Res. Rev.* 1967, 18, 21. – 6. *Korablev M.N., Kurbat N.M.*: Proizvodnye ditiokarbominovoi kisloty kak inhibitory biosinteza katekholaminov. *Farmakol. Toksikol.* 1977, 40, 230. – 7. *Kundiev Y.I.* i wsp.: The effect of pesticides – the derivatives of carbamic, thio-and dithiocarbamic acids on warm blooded animals. *Env. Qual. Saf.* 1975, Suppl. 3, 618. – 8. *Manuchin B.N., Bierbysheva L.V., Volina E.V.*: Odnovremiennoie opredelanije katekholaminov i serotonina posle ich ochistki na jonoobmennoi smole. *Vopr. Med. Khim.* 1975, 21, 317. – 9. *Truchaut R.* i wsp.: Mechanisme biochemique de toxicite des fungicides de la serie des dithiocrbamates: l'action inhibitrice sur l'activite de la dopamine beta-hydroxylase. *Ann. Pharm. Franc.* 1971, 29, 117. – 10. *Weil-Malhebre H., Bigelow L.B.*: The fluoremetric estimation of epinephrine and norepinephrine. *Anal. Biochem.* 1968, 22, 231.

Warszawa 1990.07.20

02-097 Warszawa, ul. Banacha 1