

# Wpływ prenatalnego narażenia miedzią na ośrodkowy układ dopaminergiczny u dorosłych szczurów

Effect of prenatal copper exposure  
on the central dopaminergic system  
in adult rats

Ryszard Szkilnik<sup>1</sup>, Michał Kliber<sup>1</sup>, Przemysław Nowak<sup>1</sup>,  
Jadwiga Joško<sup>2</sup>, Kamila Bojanek<sup>1</sup>, Marta Adwent<sup>1</sup>, Eva Kőrössi<sup>1</sup>,  
Halina Brus<sup>3</sup>, Ryszard Brus<sup>1,3</sup>

## STRESZCZENIE

### WSTĘP

Celem pracy było zbadanie wpływu ekspozycji miedzią szczurzyce w trakcie ciąży na zawartość metalu w tkankach noworodków a także na funkcję ośrodkowego układu dopaminergicznego u dorosłego potomstwa.

### MATERIAŁ I METODY

Ciężarne samice przez cały okres ciąży piły wodę z dodatkiem siarczanu miedzi ( $\text{CuSO}_4$ ) w stężeniu metalu 100 ppm. Kontrolne szczurzyce piły wodę bez metalu. Z chwilą urodzenia roztwór miedzi zamieniano na wodę. Noworodki pozostawały z matkami do 21 dnia życia. U noworodków oznaczono zawartość miedzi w mózgu, wątrobie i nerkach. U dorosłych potomnych szczurów płci męskiej wykonano oznaczenia zawartości amin biogennych w mózgu oraz oceniono zachowanie jak aktywność ruchową pyska, stereotypię apomorfynową i liczbę ziewnięć, spontaniczną jak też po podaniu agonistów ośrodkowych receptorów dopaminowych (SKF 38393, apomorfina, 7-OH-DPAT).

### WYNIKI I WNIOSKI

Prenatalna ekspozycja szczurów miedzią spowodowała znaczny wzrost zawartości metalu w mózgu, wątrobie i nerkach w porównaniu z kontrolą. U dorosłych szczurów narażonych w okresie rozwoju śródmacicznego na miedź wykazano obniżenie zawartości dopaminy w prążkowie oraz wzrost reaktywności receptorów dopaminowych  $D_1$  manifestujący się nasileniem aktywności ruchowej pyska po podaniu SKF 38393 i nasileniem zachowania stereotypowego po podaniu apomorfiny oraz obniżenie reaktywności receptorów dopaminowych  $D_3$  manifestujące się zmniejszeniem liczby ziewnięć po podaniu 7-OH-DPAT. Z powyższego wynika, że narażenia (ekspo-

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Farmakologii śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Medycyny i Epidemiologii śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

<sup>3</sup>Wyższa Szkoła Planowania Strategicznego w Dąbrowie Górniczej

### ADRES

#### DO KORESPONDENCJI:

Prof. dr hab. Ryszard Brus  
Katedra i Zakład Farmakologii SUM  
41-808 Zabrze,  
ul. H. Jordana 38  
tel./faks +(48 32)272 26 83  
e-mail: pharbrus@sum.edu.pl

zycja) miedzią w okresie rozwoju śródmacicznego prowadzi do kumulacji metalu w tkankach noworodków a także trwałego zaburzenia funkcji ośrodkowego układu dopaminergicznego u ssaków.

**SŁOWA KLUCZOWE**

miedź, ośrodkowy układ dopaminergiczny, zachowanie, szczury

**ABSTRACT****BACKGROUND**

The effect of prenatal exposition of rats with copper on its level in the newborns' organs and central dopaminergic system activity in adult rats was examined.

**MATERIAL AND METHODS**

Pregnant rats during entire time of pregnancy drank water with cupprum sulfuricum (CuSO<sub>4</sub>) where concentration of metal was 100 ppm. Control rats drank the water only without cuprum. After delivery water with metal was substituted with water only, and newborns stayed with their mothers till 21st day of life, then separated. In newborn copper content was estimated in the brain, liver and kidney. In adult rats the level of biogenic amines was measured in the brain and some behavioral studies were performed such as oral activity, stereotyped and yawning behavior, using central dopamine receptor agonists (SKF 38393, apomorphine, 7-OH-DPAT).

**RESULTS AND CONCLUSION**

Exposition of rats during intrauterine development (prenatal) with copper caused significant increase concentration examined metal in the brain, liver and kidney of newborn rats. In adult rats significant decrease of dopamine in the striatum was noticed in the rats pretreated with copper. Beside increase reactivity of the central dopamine D1 receptor reactivity was observed, and manifested by increased oral activity after SKF 38393 and stereotyped behavior after apomorphine apply. Additionally decreased reactivity of the central dopamine D3 receptor was manifested by decreased yawning behavior after 7-OH-DPAT injection. From above we concluded that copper can be one of the environmental agent which can affected of the central dopaminergic system in mammals.

**KEY WORDS**

copper, central dopaminergic system, behavior, rats

**WSTĘP**

W Katedrze i Zakładzie Farmakologii w Zabrzu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego od lat prowadzone są badania wpływu narażenia ssaków na metale we wczesnym okresie rozwoju osobniczego na funkcję ośrodkowego układu dopaminergicznego u dorosłych zwierząt. Wykazano, że narażenie szczurów w okresie płodowym i wczesnym okresie rozwoju osobniczego (laktacja) na metale takie jak kadm, rtęć, cynk, mangan, ołów pro-

wadzi do zaburzeń rozwoju i funkcji ośrodkowego układu dopaminergicznego u dorosłych zwierząt [1-6]. Wszystkie wymienione metale podawane szczurom w pitnej wodzie w trakcie ciąży i laktacji w mniejszym lub większym stopniu zaburzały czynność ośrodkowego układu dopaminergicznego manifestujące się zmianami zawartości dopaminy i jej metabolitów w mózgu, zmianami reaktywności receptorów dopaminowych po podaniu swoistych agonistów lub antagonistów i innymi reakcjami ocenianymi metodami biochemicznymi i behawioralnymi.

Kolejnym metalem, który znalazł się w kręgu naszych zainteresowań jest miedź podejrzewana również o neurotoksyczne działanie. Metal ten jest rozpowszechniony w przyrodzie i aktualnie szeroko używany w różnych dziedzinach przemysłu. Istnieją zatem szanse ostrego lub przewlekłego zatrucia powyższym metalem.

Należy zaznaczyć, że miedź jest ważnym ko-faktorem szeregu enzymów oraz pośredniczy w wielu procesach biologicznych w organizmach ssaków. Głównym miejscem magazynowania wchłoniętej w przewodzie pokarmowym miedzi jest białko osocza *ceruloplazmina*. Jedna cząstka białka wiąże 6-7 atomów miedzi. Innym białkiem jest metallothioneina, która oprócz kadmu i cynku wiąże też miedź, choć w mniejszym stopniu. Z powyższych białek miedź przekazywana jest do poszczególnych komórek gdzie jest wbudowywana do różnych enzymów wewnątrzkomórkowych, takich jak dysmutaza superoksydowa, oksydazy, hydroksylazy, dekarboksylazy, lipazy i inne [7]. Niedobór miedzi upośledza funkcję powyższych i wielu innych enzymów ułatwiając rozwój szeregu schorzeń prowadzących do zaburzeń syntezy mieliny i elastyny, procesów zapalnych, osłabienia działania antyoksydacyjnego, itp. Przykładem schorzenia przebiegającego z niedoborem miedzi jest tzw. choroba Menkesa (Kinky-hair Syndrome) [8, 9]. Wynika ono z genetycznie uwarunkowanego upośledzenia wchłaniania miedzi z przewodu pokarmowego. Dotyczy tylko chłopców prowadząc do śmierci we wczesnym dzieciństwie. Schorzeniu towarzyszy szereg patologicznych objawów jak zaburzenia funkcji skóry, rozwoju umysłowego, zmian w układzie krążenia itp. U podstaw choroby wydaje się leżeć zaburzenie syntezy metallothioneiny. Inną chorobą, której towarzyszą zaburzenia gromadzenia miedzi w organizmie jest choroba Wilsona zwana inaczej zwyrodnieniem soczewkowo-wątrobowym [10-12]. Schorzenie rozwija się zazwyczaj przed 40-tym rokiem życia i u podstawy leży nadmierne odkładanie miedzi w narządach wewnętrznych prowadzące do ich uszkodzeń. Rozróżnia się kilka postaci choroby w zależności od objawów w tym postaci w której dominują zaburzenia ze strony ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Miedzi przypisuje się, że indukuje tworzenie złogów  $\beta$ -amyloidu oraz tkankowych rodników wysokoenergetycznych w chorobie Alzheimera [13-15]. Istnieją doniesienia, że miedź może dzia-

łać neurotoksycznie przyczyniając się do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych w tym dotyczących układu dopaminergicznego [16-19]. Z dotychczasowych badań wynika, że młode i rozwijające się organizmy są bardziej wrażliwe na neurotoksyczne działanie wielu metali. Dlatego celem niniejszych badań była ocena wpływu narażenia miedzią szczurów w okresie rozwoju śródmacicznego na funkcję ośrodkowego układu dopaminergicznego u dorosłych potomnych zwierząt, ocenianą metodami biochemicznymi i behawioralnymi.

## MATERIAŁ I METODY

### ZWIERZĘTA I PROCEDURA (EKSPOZYCJI MIEDZIĄ)

Doświadczenie wykonano na ciężarnych szczurkach szczepu Wistar oraz ich dorosłym potomstwie. Dziewicze dorosłe szczurki umieszczano w klatkach po 3 z jednym samcem na okres 5-ciu dni. Zastosowany w niniejszym doświadczeniu sposób koncepcji był wzorowany na danych z piśmiennictwa [20]. Począwszy od tego momentu część samic otrzymywała do picia wodny roztwór siarczanu miedzi ( $\text{CuSO}_4$ ; POCH, Gliwice) o stężeniu metalu 100 ppm. Kontrolne szczurki piły wodę. Ponadto zwierzęta miały swobodny dostęp do tabletkowanej diety i przebywały w pomieszczeniu o 12-togodzinnym cyklu oświetleniowym (światło od 7.00 do 19.00) i temperaturze ok. 22°C.

W momencie urodzenia roztwór siarczanu miedzi zastępowano wodą i noworodki obu grup (kontrolnej i badanej) przebywały z matkami przez dalsze 21 dni, po czym oddzielano je do osobnych klatek z podziałem na płęć. Dalsze badania biochemiczne i behawioralne wykonano u noworodków i dorosłych potomnych szczurów o masie ciała 220-250 g. Doświadczenie wykonano po uprzedniej akceptacji Lokalnej Komisji Etycznej (decyzja nr 24/02 z dnia 17.09.2002 r.).

### BADANIA BIOCHEMICZNE

A. Oznaczenie zawartości amin biogennych w prążkowie mózgu [21]

Szczury uśmiercano przez dekapitację i z czaszki wyjmowano mózg, z którego w temperaturze 0°C separowano prążkowie, ważono i zamrażano na zestalonym  $\text{CO}_2$  (tzw. „suchym lodzie”), po czym przechowywano w temperaturze -70°C do momentu oznaczenia amin biogennych.

W badanej strukturze oznaczono zawartość dopaminy (DA), kwasu 3,4-dihydroksyfenylooctowego (DOPAC), kwasu homowanilinowego (HVA), 3-metoksytyraminy (3-HT), 5-hydroksytryptaminy (5-HT), kwasu 5-hydroksyindoloctowego (5-HIAA) oraz noradrenaliny (NA). Wyniki wyrażono w ng/g świeżej tkanki. Poszczególne grupy liczyły po 5 zwierząt (tkanek).

B. Oznaczenie zawartości miedzi w tkankach [22]

Szczurze noworodki uśmiercono przez dekapitację, po czym z ciała zwierząt pobierano mózg, wątrobę i nerki, w których oznaczono zawartość miedzi techniką spektrofotometrycznej absorpcji atomowej stosując spektrofotometr SP-2900 Pye Unicam AA-Spectrophotometer. Wyniki wyrażono w µg/g świeżej tkanki. Poszczególne grupy liczyły po 4 zwierzęta (tkanki).

#### BADANIA BEHAVIORALNE

A. Aktywność ruchowa pyska [23]

Dorośle zwierzęta celem adaptacji do nowego środowiska umieszczono w pojedynczych przezrzystych klatkach o wymiarze 19 x 26 x 19 cm i pozostawiono na okres ok. 30 minut. Następnie w odstępach 1-minutowych wstrzykiwano 0.9% roztwór NaCl 1.0 ml/kg IP i po 10 minutach rozpoczynano obserwację każdego szczura kolejno przez 1-minutę zliczając liczbę spontaniczną ruchów pyska (nie związaną z żadnym fizycznym materiałem w jamie gębowej). Obserwację ponawiano 6-cioкратно co 10 minut. Uzyskane u każdego szczura wyniki sumowano i uśredniano dla każdej z grup (kontrolnej i narażonej na miedź). Po zakończeniu obserwacji wszystkim obserwowanym szczurom podawano SKF 38393 (specyficzny agonista ośrodkowych receptorów dopaminowych D<sub>1</sub>) 0.1 mg/kg IP. W kolejnych dwu dniach tym samym zwierzętom podawano SKF 38393 0.3 oraz 1.0 mg/kg IP i ponawiano obserwacje jak wyżej. Z powyższego wykreślono krzywe „dawka – odpowiedź”. Poszczególne grupy liczyły po 9 szczurów.

B. Liczba ziewnięć [24]

Zwierzęta adaptowano jak wyżej po czym wstrzykiwano 0.9% roztwór NaCl 1.0 ml/kg IP i przez godzinę zliczano epizo-

dy ziewnięć. Następnie podawano 7-OH-DPAT (specyficzny agonista ośrodkowych receptorów dopaminowych D<sub>3</sub>) [25] 0.016 mg/kg IP i ponawiano obserwację. Wyniki uzyskane u poszczególnych zwierząt sumowano i uśredniano dla całej grupy. W kolejnych dniach stosowano wyższe dawki badanego związku a mianowicie 0.032, 0.065, 0.13 i 0.26 mg/kg IP. Z powyższego wykreślono krzywą „dawka – odpowiedź”. Poszczególne grupy liczyły po 9 szczurów.

C. Zachowanie stereotypowe [26]

Dorośle szczury umieszczono w osobnych klatkach celem adaptacji jak wyżej. Następnie zwierzęta obu grup otrzymały apomorfina (niespecyficzny agonista ośrodkowych receptorów dopaminowych) 1.0 mg/kg SC, po czym w 15, 30, 45, 75 i 90 minucie dokonywano obserwacji zachowania stereotypowego (chodzenie, lizanie podłoża, węszenie, wspinanie) metodą punktową w skali od 0 do 6. Wyniki uzyskane u poszczególnych szczurów sumowano, uśredniano dla całej grupy i przedstawiono w postaci krzywej „dawka – odpowiedź”. Poszczególne grupy liczyły po 9 zwierząt.

#### ANALIZA STATYSTYCZNA

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej testem wariancji (ANOVA) i post-ANOVA testem Neumana-Keulsa. Wartość p mniejsza niż 0.05 przyjęto za znamienne.

## WYNIKI

#### Badania biochemiczne

A. Zawartość amin biogennych w prążkowiu mózgu (Tab. 1)

Wykazano znamienne zmniejszenie jedynie zawartości DA w prążkowiu szczurów prenatalnie narażonych na miedź, która była o ok. 35% niższa w porównaniu z kontrolą. Zawartość pozostałych amin i ich metabolitów w badanej strukturze nie różniła się w sposób znamienny pomiędzy badanymi grupami.

B. Zawartość miedzi w tkankach

Wykazano znamienny wzrost zawartości metalu w badanych tkankach noworodków prenatalnie narażonych na miedź

Tabela 1. Zawartość amin biogennych w prążkowi mózgu dorosłych szczurów prenatalnie narażonych na miedź w stężeniu 100 ppm w pitnej wodzie podawanej ciężarnym samicom ( $x \pm SEM$ ;  $n = 5$ ).

Table 1. Biogenic amines level in the striatum of adult rats exposed during prenatal development with copper in concentration 100 ppm in the drinking water taken by pregnant animals ( $x \pm SEM$ ;  $n = 5$ ).

GRUPA GROUP	BADANA AMINA BIOGENNA EXAMINED BIOGENIC AMINE						
	DA	DOPAC	HVA	3-MT	5-HT	5-HIAA	NA
KONTROLA CONTROL	9886 $\pm 340$	956 $\pm 52$	722 $\pm 40$	307 $\pm 26$	235 $\pm 56$	255 $\pm 62$	136 $\pm 63$
MIEDŹ COPPER	6182 $\pm 236^*$	768 $\pm 41$	522 $\pm 31$	335 $\pm 25$	201 $\pm 48$	298 $\pm 55$	105 $\pm 51$

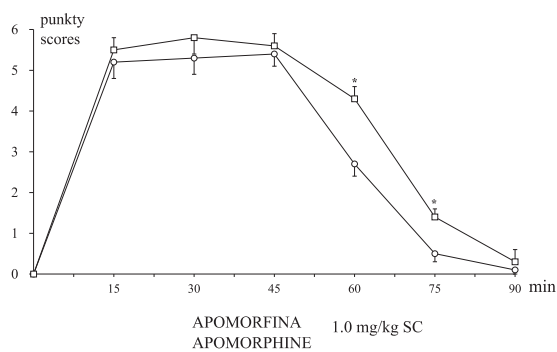
\*  $p < 0.05$

w porównaniu z kontrolą. I tak zawartość metalu w wątrobie wynosiła odpowiednio  $19.6 \pm 1.7$  i  $1.9 \pm 0.3$ , w nerce  $4.6 \pm 0.3$  i  $1.3 \pm 0.2$  oraz w mózgu  $0.9 \pm 0.2$  i  $0.4 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$  świeżej tkanki.

**BADANIA BEHAVIORALNE**

**A. Aktywność ruchowa pyska (Ryc. 1)**

Spontaniczna aktywność ruchowa pyska tj. liczb epizodów żucia po podaniu 0.9%



Rycina 1. Wpływ SKF 38393 na aktywność ruchową pyska szczurów prenatalnie narażonych na miedź ( $x \pm SEM$ ;  $n = 9$ ).

Figure 1. Effect of SKF 38393 on oral activity in the rats prenatally exposed to copper ( $x \pm SEM$ ;  $n = 9$ ).

Objaśnienia:

○ - Kontrola

○ - Control

□ - Miedź

□ - Copper

\* -  $p < 0.05$

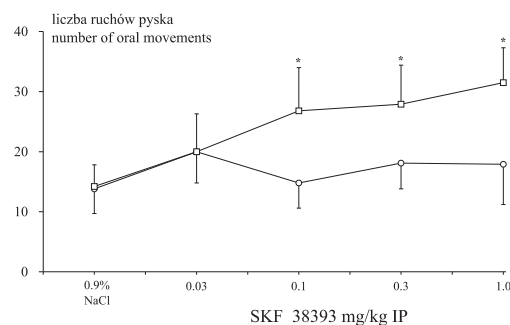
\* -  $p < 0.05$

roztworu NaCl w obu grupach była zbliżona i wynosiła ok. 13 epizodów w ciągu godzinowej obserwacji. Wykazano znaczne zwiększenie aktywności ruchowej pyska dorosłych zwierząt narażonych pre-

natalnie na miedź po podaniu SKF 38393 w dawkach 0.1 – 1.0 mg/kg IP w porównaniu do kontroli.

**B. Liczba ziewnięć (Ryc. 2)**

Spontaniczna liczba ziewnięć (po podaniu 0.9% roztworu NaCl) była zbliżona w obu



Rycina 2. Wpływ apomorfiny 1.0 mg/kg SC na zachowanie stereotypowe szczurów prenatalnie narażonych na miedź ( $x \pm SEM$ ;  $n = 9$ ).

Objaśnienia jak w rycinie 1.

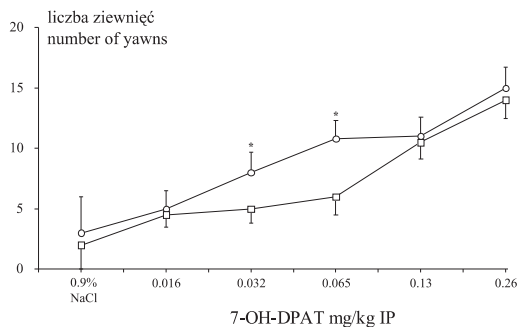
Figure 2. Effect of apomorphine on stereotype behavior of the rats prenatally exposed to copper ( $x \pm SEM$ ;  $n = 9$ ).

Explanations as in figure 1.

badanych grupach i wynosiła ok. 3 epizodów w ciągu godzinnej obserwacji. 7-OH-DPAT podany w dawkach 0.032 – 0.065 mg/kg IP indukował znacznie niższą liczbę ziewnięć w grupie zwierząt prenatalnie narażonych na miedź (odpowiednio ok. 8 i 4 oraz 10 i 5). Pozostałe dawki 7-OH-DPAT tj. 0.016, 0.13 i 0.26 indukowały zbliżoną liczbę ziewnięć w obu grupach.

## C. Zachowanie stereotypowe (Ryc. 3)

Apomorfina 1.0 mg/kg S.C w pierwszych 45 minutach obserwacji indukowała podobne nasilenie zachowania stereotypowego w obu badanych grupach osiągające maksimum ok. 5.5 punktu w 15–45 minu-



Rycina 3. Wpływ 7-OH-DPAT na liczbę ziewnięć u szczurów prenatalnie narażonych na miedź ( $x \pm \text{SEM}$ ;  $n = 9$ ).

Objaśnienia jak w rycinie 1.

Figure 3. Effect of 7-OH-DPAT on number of yawns in rats prenatally exposed to copper ( $x \pm \text{SEM}$ ;  $n = 9$ ).

cie obserwacji. W 60 i 75 minucie intensywność stereotypii mierzona skalą punktową była znamienne większa w grupie zwierząt narażonych prenatalnie na miedź (różnica znamienna statystycznie). Zachowanie stereotypowe zanikało w obu grupach w 90 minucie obserwacji.

## DYSKUSJA

Z przedstawionych badań wynika, że prenatalne narażenie szczurów na miedź powoduje wyraźną kumulację metalu w tkankach noworodków. Ponadto prenatalna ekspozycja miedzią uszkadza ośrodkowy układ dopaminergiczny manifestujący się zmniejszeniem zawartości DA w prążkowiu, zwiększeniem reaktywności ośrodkowych receptorów dopaminowych  $D_1$  objawiające się wzrostem liczby epizodów ruchów pyska indukowanych SKF 38393 (agonista receptora  $D_1$ ) a także nasileniem stereotypii indukowanej apomorfiną u dorosłych szczurów. Zwiększona reaktywność receptorów dopaminowych na podanie agonistów receptorów dopaminowych  $D_1$  jak SKF 38393 lub apomorfiny jest również obserwowana w zwierzęcym modelu choroby Parkinsona co potwierdza uszkodzenie ośrodko-

wego układu dopaminergicznego [27]. Towarzyszy temu zmniejszenie reaktywności ośrodkowych receptorów dopaminowych  $D_3$  na podanie swoistego agonisty 7-OH-DPAT manifestujące się obniżeniem liczby ziewnięć. Receptory te są położone presynaptycznie na neuronach dopaminergicznych [28, 29] i zmniejszenie ich reaktywności może pośrednio także świadczyć o zaburzeniach funkcji ośrodkowego układu dopaminergicznego.

W dostępnym piśmiennictwie znaleziono niewiele danych dotyczących wpływu przewlekłego narażenia miedzią na funkcję ośrodkowego układu dopaminergicznego u ssaków. Szczególnie wartościowe są badania zespołu chilijskiego pod kierunkiem Segury-Aguilara [18, 30]. Autorzy przedstawiają hipotezę, iż miedź tworzy w organizmie kompleks z dopaminą powodując jej utlenienie do aminochromu, który jest następnie wychwytywany do neuronów dopaminergicznych działając na nie neurotoksycznie. Powyższe może usposabiać do przyspieszenia rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, w tym choroby Parkinsona [31-35]. Ważną rolę w chorobach neurodegeneracyjnych jak choroba Wilsona i Alzheimera, sclerosis lateralis amyotrophica (SLA), choroba Parkinsona itp. przypisuje się zaburzeniom funkcji ceruloplazminy [36]. Inni natomiast nie wykazali żadnych zmian w zawartości DA w mózgu po ekspozycji zwierząt miedzią [37]. Sugeruje się, że nadmiar miedzi w organizmie może prowadzić także do stanów depresyjnych [38]. Stwierdzono bowiem, iż u chorych z depresją zawartość metalu w surowicy była znamienne wyższa. Z kolei niedobór miedzi może również powodować określone zaburzenia w mózgu ssaków jak na przykład zmiany w zachowaniu a także spadek zawartości DA w prążkowiu, natomiast wzrost w mózdku, podwzgórzu i rdzeniu przedłużonym [39, 40]. Niedobór miedzi w mózgu obserwowano także u szczurów z doświadczalnymi drgawkami kardiazolowymi [41]. Ponadto niedobór miedzi w organizmie przyczynia się do szeregu schorzeń systemowych [42-46], jak też modyfikuje toksyczność (w tym neurotoksyczność) metali ciężkich (kadm, cynk, rtęć i mangan) [47-50].

Należy dodać, że miedź łatwo przenika przez barierę łożyskową przechodząc do tkanek płodu [51], które wydają się być bardziej wrażliwe na toksyczne działanie metali, szczególnie w warunkach równoczesnego braku lub nadmiaru innych metali ciężkich [52].

Tak więc z przedstawionych doświadczeń jak i z danych z piśmiennictwa wynika, że nadmierna ekspozycja miedzią w okresie rozwoju śródmózgowego może sprzyjać zaburzeniom funkcji ośrodkowego układu nerwowego u dorosłych ssaków. Jednocześnie w oparciu o podobne doświadczenia przeprowadzone w Katedrze z innymi metalami można sądzić, że działanie neurotoksyczne miedzi wy-

daje się być słabsze w porównaniu z kadmem, ołowiem czy rtęcią [1, 2, 5].

#### PODZIĘKOWANIA

Autorzy dziękują Paniom Urszuli Mikołajun i Barbarze Mędrak za pomoc techniczną podczas wykonywania doświadczeń.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Felińska W, Brus R, Szkilnik R, Rykaczewska M, Plech A, Kostrzewa R.M., Frydrych J. Cadmium modulates reactivity of central dopamine receptors in rats prenatally exposed to ethanol. *Pol. J. Environ. Stud.* 1995; 1: 31-36.
2. Brus R, Szkilnik R, Nowak P, Konecki J, Głowacka M., Kasperska A., Oświęcimska J., Sawczuk K., Shani J. Prenatal exposure of rats to lead, induce changes in the reactivity of the central dopaminergic, serotonergic and muscarinic receptors but in glucose uptake in their offspring. *Pharmacol. Rev. Comm.* 1997; 9: 299-310.
3. Szkilnik R, Nowak P., Winiarska H, Durczok A., Małecki S., Rycerska A., Brus R., Shani J. Effect of zinc on the reactivity of the central dopaminergic receptors in rats, prenatally exposed to lead. *Pharmacol. Rev. Comm.* 2001; 11: 319-328.
4. Brus R, Szkilnik R, Konecki J, Stepieni M., Małecki S., Kuballa G, Mengel K., Shani J. Prenatal exposure of rats to manganese: changes in reactivity of their central dopaminergic, serotonergic and muscarinic receptors, but not of glucose uptake in their adult offsprings. *Pharmacol. Rev. Comm.* 2002; 12: 9-24.
5. Kiszka W, Szkilnik R, Brus R., Nowak P., Konecki J, Durczok A., Mengel K., Shani J. Prenatal exposure of rats to mercury induce changes in central dopaminergic activity and glucose uptake by their offspring. *Pharmacol. Rev. Comm.* 2002; 12: 101-108.
6. Kwieciński A., Szkilnik R, Nowak P., Kliber M., Drosik M., Noras Ł., Niwiński J., Gorzałek J., Brus R. Reaktywność ośrodkowych receptorów dopaminowych u szczurów narażonych na selen w okresie prenatalnym. Ocena za pomocą metod behawioralnych. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2006; 60: 316-322.
7. Goyer R.A. Toxic effects of metal. W: Admur M.O., Doull J., Klaassen C.D. red. Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. Pergamon Press, New York 1991: 623-680.
8. Danks D.M., Stevensen B.J., Campbell P.E., Gillespie J.M., Walker-Smith J. Menkes Kinky-hair syndrome. *Lancet* 1972; 1: 1100-1103.
9. Goka T.J., Stevensen R.E., Hetteran P.M., Howell R.R. Menkes disease: a biochemical abnormality in cultured human fibroblast. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 1976; 73: 604-606.
10. Brewer G.J. Practical recommendations and new therapies for Willson's disease. *Drugs* 1995; 3: 240-249.
11. Jabłońska-Kaszewska I., Dąbrowska E., Ozibłowski A. Wilson's disease impersonal material disturbances in hoemostasis. *Pol. Tyg. Lek.* 1995; 50: 79-81.
12. Samuele A., Mangiagalli A., Armentero M.T., Fancellu R., Bazzini E., Vairetti M., Ferrigno A., Pichelmi P., Nappi G., Blandini F. Oxidative stress and pro-apoptotic conditions in a rodent model of Wilson's disease. *Biochem. Biophys. Acta* 2005; 1741: 325-330.
13. Bush A.I. The metallobiology of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci.* 2003; 26: 207-214.
14. Multhaup G, Schlicksupp A., Hesse L., Behr D, Ruppert T, Masters C.L., Beyreuther K. The amyloid precursor protein of Alzheimer's disease in the reduction of copper (II) to copper (I). *Science* 1996; 271: 1406-1409.
15. Huang X., Cuajungco M.P., Atwood C.S., Hartshorn M.A., Tyndal J.D., Harrison G.R., Stokes K.C., Leopold M., Multhaup G, Goldstein L.E., Scarpa R.C., Sanders A.J., Lim J., Moris R.D., Glabe C, Bowden E.E., Masters C.L., Fairlie D.P., Tanzi R.E., Bush A.I. Cu(II) potentiation of Alzheimer neurotoxicity. Correlation with cell-free hydrogen peroxide production and metal reduction. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 37111-37116.
16. Tobuer B.J., Turnbull S., El-Agnaf O.M., Allsop D. Formation of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals from A (beta) and alfa synuclein as a possible mechanism of cell death in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Free Radic. Biol. Med.* 2002; 32: 1076-1083.
17. Johnson S. Micronutrient accumulation and depletion in schizophrenia, epilepsy, autism and Parkinson's disease? *Med. Hypothesis* 2001; 56: 641-645.
18. Paris I., Dagnino-Subiobre A., Marcelain K., Bennett L.B., Caviedes P., Caviedes R., Azar C.O., Segura-Aguilar J. Copper neurotoxicity is epedent on dopamine-mediated copper uptake and one-electron reduction of aminochronic in a rat substantia nigra neuronal cell line. *J. Neurochem.* 2001; 77: 519-529.
19. Woggoner D.J., Bartnikas T.B., Gitlin J.D. The role of copper in neurodegenerative disease. *Neurobiol. Dis.* 1999; 6: 221-230.
20. Hozelhoff-Roelfzema W.H., Roelofsen A.M., Leene W, Copius Peereboom-Steegman J.H.J. Effect of cadmium exposure during pregnancy on cadmium and zinc concentration in neonatal liver and consequences for the offspring. *Arch. Toxicol.* 1989; 63: 38-42.
21. Magnusson O., Nilson L.B., Westerland D. Simultaneous determination of dopamine, DOPAC and homovanillic acid. Direct injection of supernatants from brain tissue homogenates in a liquid chromatography-electrochemical detection system. *J. Chromatogr.* 1980; 221: 237-247.
22. Whiteside P. Atomic Absorption. Pye Unicam Ltd, Cambridge, UK 1976.
23. Brus R., Kostrzewa R.M., Perry K.W., Fuller R.W. Supersensitization of the oral response to SKF 38393 in neonatal 6-hydroxydopamine-lesioned rats is eliminated by neonatal 5,7-dihydroxytryptamine treatment. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1999; 268: 231-237.
24. Brus R., Szkilnik R., Kostrzewa R.M. Quinpirole-induced yawning behavior in rats neonatally pretreated with 6-hydroxydopamine (6-OHDA) and 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT). *Med. Sci. Monit.* 1997; 3: 324-327.
25. Damsma G., Bottema T., Westerink B.H.C., Tepper P.G., Dijkstra D., Pugsley T.A. MacKenzie R.G., Heffner T.G., Wikstrom H. Pharmacological aspects of R-(+)-7-OH-DPAT, a putative dopamine D<sub>3</sub> receptor ligand. *Eur. J. Pharmacol.* 1993; 249: R9-R10.
26. Creese I., Iversen S.D. Behavioral sequel of dopaminergic degeneration. W: E. Usodin J.R., Bunney J.R. red. *Modern Pharmacology - Toxicology.* Marcel Dekker Publ. 1975; 3: 171-190.
27. Kostrzewa R.M., Kostrzewa J.P., Brus R., Kostrzewa R.A., Nowak P. Proposed animal model of severe Parkinson's disease: neonatal 6-hydroxydopamine lesion of dopaminergic innervation of striatum. *J. Neurol. Transm.* 2006; 70: 277-279.

28. Schwartz J.C., Levesque D., Martres M.P., Sokoloff P. Dopamine D<sub>3</sub> receptor: basic and clinical aspects. *Clin. Neuropharmacol.* 1993; 16: 295-314.
29. Kostrzewa R.M., Brus R. Is dopamine-agonist induced yawning behavior a D<sub>3</sub> mediated event? *Life Sci.* 1991; 48: PL-129.
30. Paris I., Perez-Pastene C., Raisman-Vazari R., Caviedes P., Conve E., Segura-Aguilar J. Mechanism of copper-induced cell death. *Pharmacol. Rep.* 2008; 60: 255.
31. Loeffler D.A., Le Witt P.A., Janeau P.L., Nguyen H.U., De Maggio A.J., Brickman C.M., Brewer G.J., Dick R.D., Troyer M.D., Kanaley L. Increased regional brain concentration of ceruloplasmin in neurodegenerative disorders. *Brain Res.* 1996; 738: 265-274.
32. Deibel M.A., Ehmann W.D., Markesbery W.R. Copper, iron and zinc imbalances in severely degenerated brain regions in Alzheimer's disease: possible relation to oxidative stress. *J. Neurol. Sci.* 1996; 143: 137-142.
33. Futura A., Price D.L., Pardo C.A., Troncoso J.C., Xu Z.S., Taniguchi N., Martin L.J. Localization of superoxide dismutases in Alzheimer's disease and Down's syndrome neocortex and hippocampus. *Am. J. Pathol.* 1995; 146: 357-367.
34. Nakao N., Frodl E.M., Widner H., Carlson E., Eggerding F.A., Epstein C.J., Brundin P. Overexpressing Cu/Zn superoxide dismutase enhances survival of transplanted neurons in a rat model of Parkinson's disease. *Nat. Med.* 1995; 1: 201-203.
35. Allain P., Krari N. Diethyldithiocarbamate, copper and neurological disorders. *Life Sci.* 1991; 48: 291-299.
36. Waggoner D.J., Bartnikas T.B., Gitlin J.D. The role of copper in neurodegenerative disease. *Neurobiol. Dis.* 1991; 6: 221-230.
37. De Vries D.J., Swell R.B., Beast P.M. Effect of copper on dopaminergic function in the rat corpus striatum. *Exper. Neurol.* 1986; 91: 546-558.
38. Schlegel-Zawadzka M., Zięba A., Dudek D., Krośniak M., Szymaczek M., Nowak G. Serum trace elements in animal models and human depression. Part II. Copper. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* 1999; 14: 447-451.
39. Prohaska J.R., Bailey W.R. Regional specificity in alterations of rat brain copper and catecholamines following perinatal copper deficiency. *J. Neurochem.* 1994; 63: 1551-1557.
40. Prohaska J.R., Bailey W.R., Gross A.M., Korte J.J. Effect of dietary deficiency on the distribution of dopamine and norepinephrine in mice and rats. *J. Nutr. Prochem.* 1990; 1: 149-154.
41. Sokin D., Ilbay G., Ates N. Changes in the blood-brain barrier permeability and in the brain tissue trace element concentrations after single and repeated pentylenetetrazole-induced seizures in rats. *Pharmacol. Res.* 2003; 48: 69-73.
42. Klevay L.M., Halas E.S. The effects of dietary copper deficiency and psychological stress on blood pressure in rats. *Physiol. Behav.* 1991; 49: 309-314.
43. Seidel K.E., Faille M.L., Rosebrough R.W. Cardiac catecholamine metabolism in copper-deficient rats. *J. Nutr.* 1991; 121: 474-483.
44. Schuschke O.A., Reed M.W., Sarri J.T., Miller F.N. Copper deficiency alters vasodilatation in the rat cremaster muscle microcirculation. *J. Nutr.* 1992; 122: 1547-1552.
45. Rayssignier Y., Gueux E., Bussiere L., Mazur A. Copper deficiency increase the susceptibility of lipoproteins and tissues to peroxidation in rats. *J. Nutr.* 1993; 123: 1343-1348.
46. Lear P.M., Prohaska J.R. Atria and ventricles of copper-deficient rats exhibit similar hypertrophy and similar altered biochemical characteristics. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1997; 215: 377-385.
47. Murthy R.C., Lal S., Saxena D.K., Shukla G.S., Ali M.M., Chandra S.V. Effect of manganese and copper interaction on behavior and biogenic amines in rat fed a 10% casein diet. *Chem. Biol. Interact.* 1981; 37: 299-308.
48. Reinstein N.H., Lonnerdal B., Keen C.L., Hurley I.S. Zinc-copper interaction in pregnant rat: fetal outcome and maternal and fetal zinc, copper and iron. *J. Nutr.* 1984; 114: 1266-1279.
49. Heilmair H.E., Drasch G.A., Kretschmer E., Summer K.H. Metallothionein, cadmium, copper and zinc levels of human and rat tissues. *Toxicol. Lett.* 1987; 38: 205-211.
50. Muto H., Shinada M., Tokata K., Takizawa Y. Rapid changes in concentrations of essential elements in organs of rats exposed to methylmercury chloride and mercuric chloride as shown by simultaneous multielemental analysis. *Br. J. Ind. Med.* 1991; 48: 382-388.
51. Barone A., Harper R.G., Wapnir R.A. Placental copper transport in the rat. III: Interaction between copper and iron in maternal protein deficiency. *Placenta* 1998; 19: 113-118.
52. Tanaka H. Maternal environment and developmental brain damages. *Brain Develop.* 1997; 29: 183-189.