Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

Četvrti simpozijum o mikotoksinima, Sarajevo, 14 juni 1991

Ožegović, Ladislav (urednik)

1996.

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/handle/123456789/824

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI
BOSNE I HERCEGOVINE

SPECIJALNA IZDANJA
VOL. CIII

Odjeljenje medicinskih nauka
Vol. 17

ČETVRTI SIMPOZIJUM O MIKOTOKSINIMA

(Sarajevo, 14 Juni 1991)

Redakcioni odbor
Seid Huković, Ladislav Ožegović, Džemal Rezaković

Glavni urednik
Ladislav Ožegović
Redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

SARAJEVO 1996

UTICAJ ZEARALENONA NA GLATKOMIŠIĆNE ORGANE GENITO-URINARNOG TRAKTA IN VITRO

NEDIM HUKOVIĆ

Institut za farmakologiju i toksikologiju Medicinskog falaulteta, Sarajevo

Apstrakt. Zearalenon mijenja reaktibilnost glatkomišićnih organa injiciran in vivo ili apliciran in vitro. Na izoliranom uterusu djeluje smanjujući osjetljivost prema endogenim i egzogenim neurotransmitorima, smanjuju se uz to spontane kontrakcije, njihova frekvencija i veličina. Reakcije duktus deferensa su više pojačane na endogene i egzogene neurotransmitore, dok su reakcije izoliranog mokraćnog mjehura manje pojačane pod uticajem in vivo apliciranog zearalenona. Zearalenon može imati toksikološki i terapijski značaj u humanoj medicini.

U V O D

Fuzariotoksin (F2), zearalenon i njemu slični spojevi spadaju u estrogene supstance čije je estrogeno djelovanje nešto slabije od stilbestrola, ali ipak dovoljno da djeluje u ppm koncentracijama (Kurtz and Mirocha, 1978). Danas se smatra da zearalenon kao mikotoksin izaziva najviše problema u zemlji (Bocarov-Stančić, 1986). Prisutnost mikotoksina u hrani životinja i ljudi je činjenica, te je tako zearalenon dokazan u ispitivanim uzorcima hrane (Ožegović et al., 1986; Ožegović i Hlubna, 1977; Hlubna i Ožegović, 1986).

Zearalenon kao estrogen ima odgođeno, indirektno, posredno djelovanje, što znači treba da prođe izvjesno vrijeme da se utvrdi njegovo estrogeno djelovanje, bar nekoliko sati. Postoje ranije tvrdnje da zearalenon može in vitro djelovati direktno, neposredno i brzo, ali za takve tvrdnje treba više dokaza (Huković, 1982; Huković i Mulabegović, 1982). Utvrđeno je ranije in vitro da penitrem A, citrinin i zearalenon povećavaju efekt stimulacije nerava glatkomišićnih

Izrada ovog rada je omogućena sredstvima Javnog fonda za nauku BiH preko Društvenog cilja 14.

organa, dok aflatoksin i ohratoksin djeluju inhibitorno (Huković i Mulabegović, 1982).

Cilj ovog rada je utvrditi djelovanje zearalenona apliciranog in vivo i in vitro. Djelovanje treba dokazati na glatkim mišićima organa iz genitourinarnog trakta, na izoliranim organima uzetim sa njima pripadajućim vanjskim motornim nervima, na tzv. izoliranim inerviranim organima (IIO). Zadatak je da se na izoliranom mokraćnom mjehuru, duktus deferensu i uterusu kontrolnih i tretiranih eksperimentalnih životinja utvrdi promjena visine izazvanih kontrakcija pod uticajem izvana dodatog acetilholina i zearalenona.

MATERIJAL I METODE

Ispitivanja su vršena na izoliranim organima uzetim od muških i ženskih štakora prosječne težine od 150 grama. Životinje su dobivene iz vivarija u Novom Sadu. Jedan dio životinja je injiciran zearalenonom 24, 36 i 72 sata prije žrtvovanja. Toksin je otopljen u propilenglikolu i injiciran u volumenu od 0,2 ml i u dozi od 5 mg/kg težine životinje. Drugi dio životinja je samo injiciran sa 0,2 ml propilenglikola, koji nije sadržavao zearalenon (kontrole).

Preparirani su sljedeći izolirani organi sa njihovim vanjskim motornim nervima: mokraćni mjehur, duktus deferens i uterus. Mokraćni mjehur je model-sistem za holinergičnu neurotransmisiju, koja je dijelom rezistentna na atropin. Na stimulaciju pripadajućih nerava reagira jakim mikcionim kontrakcijama. Duktus deferens je model-sistem za adrenergičnu neurotransmisiju. Uterus je model sistem da se ustanovi djelovanje zearalenona na ženski genitalni organ. Stimulisani su vanjski i unutrašnji nervi uterusa. Vanjski nervi se uvlače u bipolarnu elektrodu i, skupa sa elektrodom, stavljaju u posudu za izolirane organe. Organi su suspendirani u 20 ml Tyrodeove otopine, koja je zagrijana na 32 stepena C i aerirana kisikom. Organi se vežu za izometrijski transducer.

Motorni nervi se stimuliraju svake minute u trajanju od jedne sekunde sa električnim stimulusima sljedećih parametara: 10 mA, 1mS, 10 Hz. Posuda se prethodno ispire više puta. Nakon dodavanja zearalenona in vitro, posuda se ispira više puta. Nakon što se dobiju kontrolne kontrakcije, injicira se zearalenon ili acetilholin (mikromolarna koncentracija). Pošto zearalenon nije topiv u vodi, prvo se rastvori u propilenglikolu, a onda se injicira u volumenu od 0,2 ml, tako da je u posudi 12, 25 ili 50 μg/ml. Stvori se suspenzija. Nakon određenog vremena posuda se ispire. Druga vrsta eksperimenta je kada se stimuliraju nervi organa životinja koje su prethodno za života tretirane zearalenonom. Tu se ispituje efekt stimulacije nerava i dodavanjem acetilholina ili zearalenona da se ustanovi promjena osjetljivosti na endogeni i egzogeno dodati transmitor, odnosno zearalenon.

Analiza se vrši uporedivanjem rezultata dobivenih na kontrolnim i tretiranim organima. Isto tako se uspoređuju rezultati dobiveni prije i poslije dodavanja zearalenona.

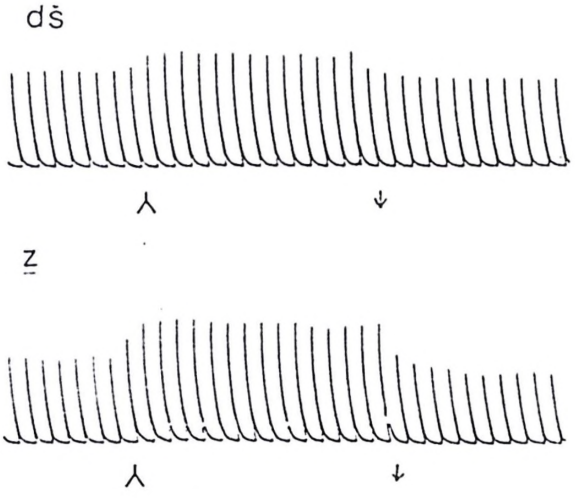
REZULTATI

Djelovanje zearalenona na kontrolnim organima

Efekt stimulacije pelvičkih motornih nerava na mokraćnom mjehuru je mikciona kontrakcija. Kontrakcije se mogu ponavljati svake minute nekoliko sati, a da se visina izazvanih kontrakcija bitno ne promijeni. Dodavanjem zearalenona u posudu za izolirane organe u koncentracijama, 12, 25 ili 50 μg/ml nije signifikantno mijenjan efekat stimulacije pripadajućeg nerva. Dodavanjem vehikuluma u istom volumenu se nije mijenjao oblik ni intenzitet reakcija mokraćnog mjehura. Na duktus deferensu stimulacija hipogastričkih motornih nerava izaziva kontrakcije koje se mogu ponavljati više puta. Dodavanjem zearalenona u posudu za izolirane organe koncentracijama u posudi za izolirane organe, 12, 25 ili 50 μg/ml malo mijenja reakciju na stimulaciju motornog hipogastričkog nerva. Kontrolni uterus koji je također stimuliran preko hipogastričkih vanjskih i unutrašnjih nerava ima spontane kontrakcije. Kontrakcije, ipak, imaju veze sa stimulacijom nerava. Dodavanje zearalenona u gore navedenim dozama je donekle mijenjalo efekte stimulacije nerava. Zearalenon smanjuje efekt stimulacije nerava i smanjuje jačinu i broj spontanih kontrakcija. Svi pomenuti nalazi in vitro nisu signifikantni, jer se ne mogu uvijek ponoviti. Razlog je vjerovatno netopivost zearalenona u vodi i nekonstatna koncentracija na receptoru.

Uticaj prethodno in vivo injiciranog zearalenona

Ukoliko se prethodno životinji još za života injicira zearalenon, pa se ispituje efekt endogeno i egzogeno dodatih transmitora ili zearalenon, može se us-



Slika 1. Kontrakcije izoliranog duktus deferensa štakora izazvane električnom stimulacijom adrenergičkog motornog nerva. Kod znaka λ je dodat acetilholin 10^{-6} g/ml. Kod znaka f posuda je isprana. Gore kontrolni organ, dole organ uzet od životinje prethodno tretirane zearalenonom

tanoviti da zearalenon mijenja reaktibilnost organa. Nakon što se in vivo injicirao zearalenon, na takvim organima se ispituje efekt stimulacije motornih nerava uz ponovno dodavanje zearalenona ili acetilholina in vitro. Ponovno injiciranje zearalenona in vitro će imati vidljiv efekt jedino na uterusu u smislu smanjenja povećanja djelovana električne stimulacije nerava. Smanjene su spontane kontrakcije i efekt stimulacije pripadajućeg motornog nerva.

Kontrakcije izoliranog duktus deferensa štakora izazvane električnom stimulacijom adrenergičkog motornog nerva. Kod znaka je dodat acetilholin 10-6 g/ml. Kod znaka ! posuda je isprana. Gore kontrolni organ, dole organ uzet od životinje prethodno tretirane zearalenonom.

Na drugim ispitivanim izoliranim organima-mokraćnom mjehuru i duktus deferensu (sl. 1) efekt prethodno injiciranog zearalenona se može registrovati kao povećanje efekta stimulacije pripadajućih nerava i povećanje efekta dodatoga acetilholina. U odnosu na kontrolne efekte acetilholin jače djeluje na prethodno tretiranim organima. Uterus međutim nije senzibilisan prethodno injiciranim zearalenonom na djelovanje acetilholina. Efekt stimulacije nerava je manji i efekt dodatog acetilholina je manji.

DISKUSIJA

Zearalenon kao mikotoksin sa izrazitim estrogenim djelovanjem mijenja reakciju ispitivanih izoliranih glatkomišićnih organa iz genituurinarnog trakta. Promjena se može registrovati na nekim organima nakon in vitro i nakon in vivo injiciranog zearalenona. Ukoliko su organi uzeti od životinja koje su prethodno in vivo tretirane zearalenonom, onda se može registrovati povećanje reakcije na nervnu stimulaciju i na dodani acetilholin, dakle povećava se osjetljivost na endogene i egzogene neurotransmitore. Uterus je izuzetak, jer na kontrolnim izoliranim uterusima se registruju snažne spontane ontrakcije, mada imaju veze sa električnom stimulacijom. Uterus uzet od životinja koje su prethodno in vivo tretirane zearalenonom je neuporedivo mirniji, vrlo malih i rijetkih spontanih kontrakcija, ali znatno slabije reagira na efekte stimulacije nerava ili dodatog acetilholina.

Zearalenon kao fuzarijatoksin (F2) spada među ekonomski najvažnije mikotoksine. Mnogo je važniji u toksikološkim negativnom nego u pozitivnom terapijskom smislu. U negativnom smislu je posebno značajan u svinjogojstvu. Kod ženki izaziva hiperestrogenizam, a kod mužjaka feminizaciju. Sa druge terapijske strane zearalenol, koji je reducirana forma zearalenona, ima četiri puta veću estrogenu aktivnost od zearalenona. Komercijalna forma je sintetizirani zearalenol, pod tvorničkim imenima Frideron, Rolon i Ralgro (*Task force Report*, 116, 1989; Hesseltine, 1986). Upotrebljava se kao estrogen i anabolik (Reynolds, 1989).

Zearalenon kao mikotoksin još nije u humanoj medicini zauzeo ono mjesto koje mu po njegovoj toksičnoj moći pripada. Dolazi u obzir za intoksikaciju direktno iz biljne ili indirektno iz životinjske hrane. Pregled o opasnosti od zearalenona

izradila je grupa kanadskih autora (Kuiper-Goodman et al., 1987). Moguća je estrogena i kancerogena aktivnost. Ova poslednja je rezultat estrogenizma. Kanadska grupa ne predlaže za sada zakonsku regulaciju u vezi sa hranom kontaminiranom zearalenom.

Pokazano je u ovom radu da postoji direktno djelovanje zearalenona na glatkomišićne organe iz genitourinarnog trakta. Ovdje se misli na djelovanje in vitro, in vivo i ex vivo. Djelovanje je slično djelovanju drugih estrogenih supstanci na uterusu, mokraćnom mjehuru i duktus deferensu. Direktno i neposredno djelovanje je rezultat djelovanja na membranske receptore, dok je indirektno djelovanje rezultat uticaja preko plazmatskih receptora.

THE EFFECT OF ZEARALENONE ON THE SMOOTH MUSCLE OF THE ORGANS OF GENITO-URINARY SYSTEM IN VITRO

Summary

Zearalenon was applied in vivo and in vitro, in order to study the effect on the isolated urinary bladder, ductus defferens and uterus. The isolated organs were contracted by electrical stimulation of their motor nerves. Zearalenon increased the effect of nerve stimulation and acetylcholine on ductus defferens and urinary bladder and decreased on uterus.

LITERATURA

Bočarov-Stančić, A., Muntañola-Cvetković, M. i Oberan, Lj. (1986): *Sposobnost raznih izolata Fusarium graminearum za biosintezu zearalenona pod određenim laboratorijskim uslovima.* Zbornik radova o Drugom simpoziju o mikotoksinima. Posebna izdanja, ANUBiH, 80, 105-119.

Hesseltine, C. W. (1986): *Global significance of mycotoxins.* str. 1-18. U: Steyn, P. S. and Vleggaar, R. (ed). Mycotoxins and phycotoxins. Elsevier, Amsterdam.

Hlubna, D. i Ožegović, L. (1986): *Rezultati istraživanja mikotoksina (Aflatoksina B_1, ohratoksina A i zearalenona) u Bosni i Hercegovini.* Zbornik radova o Drugom simpoziju o mikotoksinima. Posebna izdanja, ANUBiH, 80, 65-71.

Huković, S. (1982): *Neuromišićna transmisija i uticaj mikotoksina.* Zbornik radova o Prvom simpoziju o mikotoksinima. Posebna izdanja, ANUBiH, 60, 101-108.

Huković, S. i Mulabegović, N. (1986): *Analiza toksičnih djelovanja mikotoksina na izoliranim inerviranim organima.* Zbornik radova o drugom simpoziju o mikotoksinima. Posebna izdanja, ANUBiH, 80, 11-15.

Kuiper-Goodman, T., Scott, P. M. and Watanabe, H. (1987): *Risk assesment of the mycotoxin zearalenone.* Reg. Toxicol.

Kurtz, H. J. and Mirocha, C. J. (1978): *Zearalenone (F2) induced estrogenic syndrome in*

swine. Str. 1256-1264. U: Wyllie, T. D. and Morehouse L. G. (ed) Mycotoxic fungi, mycotoxins and mycotoxicoses, Marcel Dekker, New York.

Ožegović, L. i Hlubna, D. (1977): *Plijesni i njihovi toksini u hrani ljudi i životinja*. Izolati XXVI, 3, 183-188.

Ožegović, L., Sola, J. i Hadžiabdić, E. (1986): *Mikroflora i broj spora plijesni u gramu hrane u smjesama za perad i ekonomičnost u proizvodnji u peradarstvu*. Zbornik radova o Drugom simpoziju o mikotoksinima. Posebna izdanja, ANUBiH, 80, 59-65.

Reynolds, J. E. F. (1989): *Martindale, The extra pharmacopoea*, 29 izdanje. The pharmaceutical press, London.

Task Force Report No 116 (1989): *Mycotoxins economic and health risks*. Council for agricultural science and technology.

ANU BiH АНУ БиХ