Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI LXXXVIII, knj. 25.

Rezaković, Džemal

1991

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/items/3bff7ae5-1a58-4336-9010-7be80dd2e58a

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI
BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA LXXXVIII

Odjeljenje medicinskih nauka
Knjiga 25

Redakcioni odbor
Jela Grujić-Vasić, Džemal Rezaković,
Dragomir Stanković

Urednik
Džemal Rezaković,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

UDC 615/.617:502(082) YU ISSN 0350-0071

SARAJEVO 1991

EKOTOKSIKOLOŠKA ISTRAŽIVANJA DJELOVANJA INTERAKCIJE TEŠKIH METALA SA ANTIDOTIMA NA NEUROMIŠIĆNU TRANSMISIJU

MARIJA KESER-STANKOVIĆ, DRAGAN STANKOVIĆ
Institut za patološku fiziologiju Medicinskog fakulteta, Sarajevo

UDC 612.73/.74:615.856

Apstrakt. Istraživani su efekti antidota AET-a, Cistamina, EDTA i D-penicilamina na neuromišićnoj transmisiji izolovanih inerviranih organa u interakciji sa olovnim ionima. Nađeno je da ispitivane supstance — antidoti ispoljavaju modificirajuće efekte na neuromišićnoj transmisiji u interakciji sa olovnim ionima. AET dat u finalnoj koncentraciji od 10^{-5} — 10^{-3}M blokira kontrakcije izolovanog ileuma, dok na tonus djeluje dvofazno; prvo povećava tonus, a zatim ga smanjuje. Jačina efekta proporcionalna je datoj koncentraciji. Nakon ispiranja tonus i visina kontrakcija se vraćaju na kontrolne vrijednosti u toku 30 minuta. AET dodat 5 minuta prije olovnih iona u posudu za izolovane organe mijenja reakciju olovnih iona na izolovanom ileumu koje u ovom slučaju nije ispoljilo spastične efekte. Cistamin dat u finalnoj koncentraciji od 10^{-5}—10^{-3}M povećava tonus i smanjuje visinu kontrakcija izolovanog ileuma. Kontrolne vrijednosti se uspostavljaju unutar 30 minuta. Cistamin apliciran pet minuta prije olovnih iona inhibirao je spastične efekte olovnih iona. EDTA dat u koncentraciji 10^{-5}—10^{-3}M izaziva povećanje tonusa izolovanog ileuma. Visina kontrakcija nije bitno promijenjena jer dolazi do laganog povećanja apsolutne visine kontrakcija. Nakon ispiranja posude i organa veoma brzo dolazi do spuštanja tonusa. EDTA dat u ovim koncentracijama pet minuta prije aplikacije olovnih iona mijenja osjetljivost izolovanog ileuma na konsekutivno dodavanje olovnih iona. Dodati olovni ioni uzrokuju smanjenje tonusa, dok relativna visina kontrakcija ostaje nepromijenjena. D-penicilamin dodat u posudu za izolovane inervirane organe u koncentracijama 10^{-5}—10^{-3}M povećava tonus i smanjuje relativnu visinu kontrakcija. Nakon ispiranja tonus i visina kontrakcija se postepeno vraćaju na kontrolne vrijednosti. D-penicilamin dat u ovim koncentracijama pet minuta prije olovnih iona u posudu za izolovane organe modifikuje efekte olovnih iona na neuromišićnoj transmisiji ileuma. Olovo povećava tonus izolovanog ileuma, a ako se prethodno da D-penicilamin, olovni ioni spuštaju tonus na nivo bazalne linije, dok se visina kontrakcija postepeno normalizuje.

Ključne riječi: olovo, antidoti, neuromišićna transmisija.

UVOD

Kelatogeni agensi u terapiji saturnizma dati su u prikazu Durakovića (1970). Glavni dio prikaza odnosi se na pojedinačno i komparativno razmatranje djelovanja onih kelatogenih agensa koji su se poka-

zali najuspješnijima u liječenju saturnizma kao što su BAL, EDTA i D-penicilamin. Prikaz njihove efikasnosti razmatran je u zavisnosti od visine doze, načina i dužine trajanja primjene, kao i toksičnog djelovanja tih spojeva.

Ferenzy et al. (1973), ispitujući osmotsku rezistenciju eritrocita miša u uslovima zračenja sa X zracima, našli su da je osmotska rezistencija eritrocita bila smanjena in vivo. Dodavanjem AET-a rezistencija eritrocita se povećala in vitro. Ovi nalazi govore u prilog pretpostavke da SH grupe koje sadrži ovaj radioprotektivni agens popravljaju povećanu permeabilnost membrane eritrocita izazvanu zračenjem. Jamakosmanović et al. (1976) istraživali su evaluaciju protektivnog djelovanja AET-a na akcioni potencijal nervus ischiadicus žabe u uslovima izloženosti UV zračenju. Dobiveni rezultati ukazuju da AET ne mijenja amplitudu akcionog potencijala i ne pokazuje signifikantno zaštitno djelovanje u uslovima UV zračenja, što autori pripisuju njihovom brzom kvantitativnom prenošenju kroz ciklične spojeve. Istraživanja efekata AET-a na membrani glatkih mišićnih ćelija (Keser-Stanković et al., 1978) dokazala su da AET ispoljava depresivni efekat na membranski potencijal. Dodati olovni ioni pojačavaju deprimirajući efekat na membrani glatkih mišićnih ćelija. Drecun i sar. (1975) istraživali su protektivno djelovanje cistamina na bioelektričnu aktivnost A grupe nervnih vlakana u uslovima UV zračenja. Rezultati su pokazali da je protektivno dejstvo cistamina ispoljeno na beta i gama vlakna, i to kod nižih doza UV zračenja. Olovni ioni na izolovanom inerviranom ileumu ispoljavaju izraziti spastički efekat. Cisteamin kao SH protektor dat pet minuta prije olovnih iona u vanjski medij nije modifikovao efekte olova na izolovanom ileumu. Olovo je i u ovom ogledu imalo spastično dejstvo (Keser-Stanković, 1975; Keser-Stanković et al., 1980).

Kontaminacija životne i radne sredine teškim metalima, naročito olovom, kao i sve veća primjena raznih supstanci kao antidota, nameće potrebu sistematskog izučavanja mehanizama njihovog dejstva. Bilo je od interesa istraživati efekte antidota, kao i efekte njihove interakcije sa ionima olova na funkciju neuromišićne transmisije.

MATERIJAL I METODE

U eksperimentu je korišten izolovani ileum sa pripadajućim nervima pacova vrste wistar. Izolovani ileum je prepariran i pripremljen za ispitivanje standardnom metodom po Hukoviću (1967). Transmuralna električna stimulacija vršena je svake minute u trajanju 1 m/sec strujom jačine 5—10 mA, frekvence od 30 Hz. Nakon 4—5 ujednačenih kontrakcija aplicirane su ispitivane suptance u finalnoj koncentraciji od 10^{-5}—10^{-3}M u posudu za izolirane inervirane organe, svaka ispitivana supstanca posebno, registrovani su njihovi efekti u toku pet minuta, a zatim je izvršeno ispiranje i registrovano je još 4—5 kontrolnih kontrakcija.

Ispitivani su slijedeći antidoti:

— AET (aminoetilisotiouranium bromid hidrobromid)

$$H_2N - CH_2 - CH_2 - S - C \begin{matrix} NH_2 \\ NH_2 \end{matrix}$$

— Cistamin $H_2N - CH_2 - CH_2 - S - S - CH_2 - CH_2\ NH_2$;

— EDTA (etilen-diamin-tetra sirćetna kiselina)

$$\begin{matrix} HOOCH_2C \\ HOOCH_2C \end{matrix} N - CH_2 - CH_2 - N \begin{matrix} CH_2COOH \\ CH_2COOH \end{matrix}$$

— D-penicilamin $H_3C - \underset{SH}{\overset{CH_3}{C}} - \underset{NH_2}{\overset{H}{C}} - COOH$.

Na novopripremljenom izolovanom ileumu nakon 4—5 ujednačenih kontrakcija dodavan je rastvor svake ispitivane supstance u određenim koncentracijama i u toku 5 minuta su registrovani njihove efekti. Zatim su bez ispiranja posude za izolovane inervirane organe dodavani olovni ioni u finalnim koncentracijama 10^{-3}M. Efekti interakcije registrovani su u narednih pet minuta, a potom je izvršeno ispiranje posude i organa i registrovano još 5 do 6 kontrolnih kontrakcija.

REZULTATI

AET dodat u finalnoj koncentraciji 10^{-5}—10^{-3}M snažno blokira kontrakcije izolovanog ileuma, dok na tonus djeluje dvofazno — prvo ga povećava, a zatim ga smanjuje. Nakon ispiranja tonus i visina kontrakcija se vraćaju na kontrolne vrijednosti. AET dodat pet minuta prije olovnih iona u finalnim koncentracijama od 10^{-5}—10^{-3}M smanjuje visinu izazvanih kontrakcija, dok na tonus djeluje dvofazno. Prvo ga povećava, a zatim smanjuje. Dodati olovni ioni u finalnim koncentracijama od 10^{-5}—10^{-3}M ne mijenjaju tonus i visinu kontrakcija. Nakon ispiranja posude i organa ne uspostavljaju se kontrolne vrijednosti.

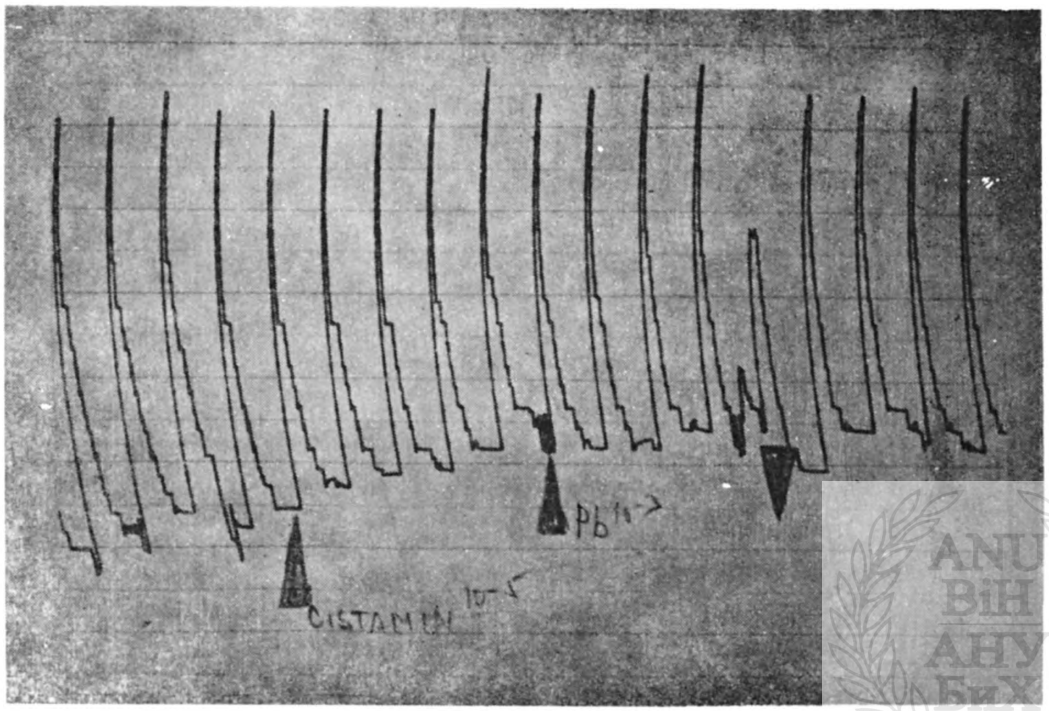
Cistamin dat u finalnoj koncentraciji od 10^{-5}—10^{-3}M povećava tonus izolovanog inerviranog ileuma, a smanjuje apsolutnu visinu kontrakcija. Nakon ispiranja unutar 30 minuta uspostavljaju se kontrolne vrijednosti.

Cistamin dat pet minuta prije aplikacije olovnih iona mijenja reaktivnost organa na konsekutivno dodavanje olova. Na dodate olovne ione tonus se ne povećava, a visina kontrakcija ostaje nepromijenjena.

EDTA dat u koncentraciji 10^{-5}—10^{-3}M izaziva povećanje tonusa izolovanog ileuma. Visina kontrakcija nije bitno promijenjena, jer dolazi do laganog povećanja apsolutne visine kontrakcija. Nakon ispiranja posude i organa vrlo brzo dolazi do spuštanja tonusa na bazalnu liniju.

EDTA dat pet minuta prije olovnih iona mijenja osjetljivost izolovanog ileuma na dodato olovo. Dodati olovni ioni smanjuju tonus bez promjene relativne visine kontrakcija.

D-penicilamin dodat u posudu za izolovane inervirane organe u koncentraciji 10^{-5}—10^{-3}M povećava tonus i smanjuje relativnu visinu kontrakcija izolovanog ileuma. Nakon ispiranja tonus i visina kontrakcija se postepeno vraćaju na kontrolne vrijednosti.



Slika 1. Efekti interakcije cistamina i olova na izolovanom ileumu. Kod znaka ▲ dodat je cistamin u koncentraciji 10^{-5}M, a kod znaka ▲ dodato je olovo u koncentraciji 10^{-3}M. Kod znaka ▼ izvršeno je ispiranje

D-penicilamin dodat pet minuta prije olova u posudu za izolovane organe modifikuje efekte olova na neuromišićnoj transmisiji ileuma. Olovni ioni dovode do spuštanja tonusa na bazalnu liniju, a visina kontrakcija se normalizuje.

Olovni ioni dodati u finalnim koncentracijama od 10^{-5}—10^{-3}M uzrokuju smanjenje apsolutne i relativne visine kontrakcija uz povišenje tonusa organa. Nakon ispiranja tonus i visina kontrakcija se normalizuju unutar 20 minuta.

DISKUSIJA I ZAKLJUČCI

Sve ispitivane supstance — antidoti ispoljavaju modificirajuće efekte na neuromišićnoj transmisiji u interakciji sa olovnim ionima. AET dodat u vanjski medij snažno blokira kontrakcije izolovanog ileuma, dok na tonus organa djeluje dvofazno — prvo ga povećava, a za-

tim smanjuje. Olovni ioni uzrokuju smanjenje apsolutne i relativne visine kontrakcija uz povišenje tonusa organa. U interakciji antidota AET i olovnih iona mijenja se reaktivnost organa. Dodavanje olova nije izazvalo spastičke efekte. AET je u ovom slučaju ispoljio protektivni efekat na olovne ione iako nije uspostavljena restitucija funkcije organa. U uslovima UV zračenja AET je ispoljio protektivni efekat na osmotsku rezistenciju eritrocita (F e r e n c z y et al.), dok je na ekscitabilnim ćelijskim membranama protektivni efekat AET-a izostao (J a m a k o s m a n o v i ć et al., K e s e r - S t a n k o v i ć et al.). Cistamin, slično AET-u, u interakciji sa olovnim ionima ispoljava protektivni efekat. Cistamin dodat u vanjski medij uzrokuje smanjenje apsolutne visine kontrakcija uz povećanje tonusa organa. Dodati olovni ioni ne dovode do daljeg povećanja tonusa ni smanjenja visine kontrakcija. D-penicilamin u interakciji sa olovnim ionima na neuromišićnoj transmisiji ispoljio je izraziti protektivni efekat. D-penicilamin dat u vanjski medij uzrokuje povećanje tonusa uz smanjenje relativne visine kontrakcija. Dodati olovni ioni na prethodno aplicirani D-penicilamin spuštaju tonus na bazalnu liniju, a visina kontrakcija se normalizuje i uspostavlja se funkcija organa. EDTA, slično D-penicilaminu, uzrokuje povećanje tonusa izolovanog ileuma, ali ne mijenja značajno visinu kontrakcije. U interakciji sa olovnim ionima on pokazuje izrazito protektivni efekat, tonus se vraća na kontrolne vrijednosti i uspostavlja se potpuna restitucija funkcije organa. Ispoljeni izrazito protektivni efekti EDTA i D-penicilamina na funkcije neuromišićne transmisije u skladu su sa zapažanjima koja su data u prikazu Durakovića o uspješnosti liječenja saturnizma ovim antidotima. Ispoljeni efekti ispitivanih antidota na neuromišićnoj transmisiji izolovanog ileuma vjerovatno su posljedica pojačane difuzibilnosti tih spojeva kroz ćelijske membrane. Ispoljena njihova toksičnost i pri malim koncentracijama 10^{-5}M ukazuje na potrebu velike opreznosti pri doziranju ovih supstanci. Analiza rezultata interakcije olova i SH protektora upućuje na pretpostavku da se olovni ioni ne vezuju na SH grupe, već da se njegovim dejstvom razbijaju S—S mostovi i stvara se S—Pb kompleks. Stvaranjem S—Pb—S mostova ponovo se uspostavlja permeabilnost membrana. Ispoljeni različiti protektivni efekti ovih supstanci vjerovatno su posljedica različitog afiniteta vezivanja Pb iona na SH grupe ispitivanih SH protektora. Kelatogeni efekat EDTA poznat je po stvaranju kompleksa sa olovom i njegovoj eliminaciji iz organizma. Izraziti protektivni efekat EDTA na neuromišićnoj transmisiji može se pripisati kalcijumu, koji osigurava održavanje gradijenta koncentracije iona na ćelijskim membranama.

ECOTOXICOLOGIC INVESTIGATION OF INTERACTION OF LEAD AND ANTIDOTS ON NEUROMUSCULAR TRANSMISSION

S u m m a r y

All tested antidots used in our experiment manifested modificating effects on neuromuscular trasmission. In interaction with Pb++ the effects of antidots were different.

AET first caused an increase of tonus and then decreased it with a significant decreasing effects on the height of muscular contraction. In interaction with Pb++ spastic action of AET failed.

Cistamin decreased tonus and height of contraction of isolated ileum. In interaction with Pb++ cistamin caused neither changes in tonus nor in height of contraction of isolated ileum. EDTA caused an increase of tonus of isolated ileum, but the height of contraction was not significantly changed. In interaction with Pb ions the reaction of isolated ileum was changed. Tonus showed a decrease to the control value (base line), but relative height of contraction left unchanged. D-penicilamid caused an increased tonus and a decreased relative height of contraction of isolated ileum. In interaction with Pb++ tonus was decreased up to the base line, but the height of contraction showed gradual decrease to the control line.

LITERATURA

Drecun, M., Jamakosmanović, A., Nakaš, M. et al.: *Protektivno djelovanje cistamina na bioelektričnu aktivnost A grupe nervnih vlakana.* Materijali VI Jugoslovenskog simpozija iz biofizike Sarajevo, str. 14—15, 1975.

Duraković, A.: *Kelatogeni agensi u terapiji saturnizma,* Arh. hig. rada 21, 167—183, 1970.

Ferenczy, M., Santha, A., Mandi, E.: *Osmotic Resistance Changes in Mouse Erythrocytes Under the Influence of X Radiation and Radioprotective Compounds.* Honvedorvos, 25, No. 1, 60—63, 1973.

Huković, S.: *Model sistemi u eksperimentalnoj farmakologiji,* ANU BiH. Radovi XXXIV, knjiga 13, 67—84, 1967.

Jamakosmanović, A., Nakaš, M., Leicher-Preka, Zlata et al.: *Evaluation of protective action of AET on the action potential of nerve against UV radiation Periodicum Biologorum,* PDBI-A 78, No. 2, 170—171, 1976.

Keser-Stanković, Marija, Stanković, D.: *The Interaction of AET and Lead on the Membrane Potential of Ileum Smooth Muscle Cells in Normal and Treated Rats.* Iugoslavica Physiologica et Pharmacologica acta. Vol. 14, No 1, 124—125, 1978.

Keser-Stanković, Marija: *Spastic Effects of Lead on Isolated Ileum of Animals Previously Treated with Lead Acetate.* Folia Medica, Vol. X, No 1, 219—230, 1975.

Keser-Stanković, Marija, Stanković, D.: *Interakcija cisteamina i olova na izolovanom ileumu normalnih i tretiranih životinja.* ANU BiH, Odjeljenje medicinskih nauka, knjiga 19, 65—73, 1980.

Teisinger, J.: *Biochemical Responses to Provocative Chelation by Edetate Disodium Calcium.* Arch. Environ. Health, 23, 280, 1971.