

Distribuce a exkrece molybdenu, značeného Mo^{99} , z organismu pokusných zvířat.

B. Bibr., J. Lener

Izotopová laboratoř biologických ústavů ČSAV, Praha;
Institut hygieny a epidemiologie, Ústav obecné a komunální hygieny, Praha.

Molybden, tvořící součást konstrukčních materiálů, je potenciálním korozním produktem, s kterým se setkáváme při řešení otázek jaderných reaktorů. Kromě toho se objevuje jako stepný produkt paliva reaktorů. Existuje tedy možnost, že se organismus ve svém životním prostředí může setkat s různými kvanty aktivního molybdenu. Molybden se řadí mezi stepové prvky esenciální, t.j. pro normální život organismu nezbytné. Přesně jsou naše znalosti o jeho vylučování a rozdělení mezi jednotlivými orgány a tkáněmi byla dosud nedostatečně sledována. Náš příspěvek se zabývá dynamikou jeho exkrece a retence v organismu a dynamikou jeho rozdělení do některých orgánů a tkání studovanou na pokusných zvířatech pomocí Mo^{99} .

Metodika.

K pokusům bylo použito celkem 159 jednoměsíčních a 211 dvouměsíčních krysích samic kmene Wistar /Konárovice/, kteří byli krměni obvyklou laboratorní dietou a dostávali pitnou vodu. Krysy byly rozděleny do skupin po 5 až 6 zvířatech, jimž byla aplikována stejná váhová dávka molybdenamu amonného značeného Mo^{99} /Amersham, GB/. Molybdenam amonný byl podáván jednak subkutánní injekcí pod kůži zad, jednak intragasticky kovovou sondou v lehké etherové narkóze.

Při sledování retence molybdenu v organismu byla zvířata měřena in vivo celotělovým počítačem $1/\text{s}$ s koincidenčním zapojením krystalu selektivně v rozsahu energetického spektra Mo^{99} pro

energii od 0,6 MeV výše, aby bylo vystiženo maximum při 0,7 MeV. Zvířata po zabíjení dekapitací byla měřena tímto způsobem, avšak při nízkých aktivitách byla měřena až po 3 dnech, kdy se ustavila rovnováha mezi Mo^{99} a Tc^{99} , selektivně v maximu křivky energetického spektra technecia ^{99}Tc pro energii 0,14 MeV. Aktivity, zjištěné obojím způsobem, byly srovnány s vodňami fantomy objemu 250 ml pro jednoměsíční a 500 ml pro dvouměsíční zvířata.

Vylučování molybdenu močí, zachycovanou ve zkumavkách a výkaly, zachycovanými do polyethylenových sáčků, bylo sledováno v metabolických kletkách.

Distribuce molybdenu do tkání byla sledována tak, že zvířata byla dekapitována a tkáně byly ihned po vynětí zváženy. Stejně jako moč a výkaly byly vzorky tkání měřeny po dosažení izotopové rovnováhy Mo^{99} a Tc^{99} ve studnicovém NaI /Tl/ krystalu na Automatic Gamma Counting System, Model 4224, Nuclear Chicago.

Vliv velikosti dávky na exkreci z celého organismu byl sledován v rozsahu 2 až 21 000 ng Mo/g ž.v. a orgánová distribuce při 25 až 40 000 ng/ Mo/g ž.v. po dobu dvou týdnů.

Výsledky a diskuse.

Množství molybdenu v krysím organismu v závislosti na dávce, na době po aplikaci, na způsobu podání a na stáří zvířat souhrnně ukazuje obr. 1. Vylučování molybdenu není závislé na stáří /Obr. 1/ zvířete a obě věkové skupiny se řídí stejnou zákonitostí, kterou lze vyjádřit pro sledovaný úsek, t.j. asi 2 týdny, závislostí:

$$D_t = Ae^{-\lambda_A t} + Be^{-\lambda_B t} + C \quad (1)$$

kde D_t je množství molybdenu v ng/g ž.v., nalezené ve zvířeti za dobu t ,

A, B, C jsou parametry, určující podíl jednotlivých členů rovnice na retenci molybdenu v ng Mo/g ž.v. a jsou funkcí aplikované dávky D_0 /ng Mo/g ž.v./,

λ_A, λ_B jsou rychlostní konstanty vylučování molybdenu,

t je čas v hodinách.

Hodnoty parametrů rovnice /1/ ukazuje tabulka 1. /Tabl.1./

Z rovnice /1/ a tabulky 1 plyne, že při nízkých dávkách molybdenu, menších než 3,4 ng Mo/g ž.v. zvířete, se molybden vylučuje bez ohledu na stáří zvířete, na formu aplikace a na velikost dávky s biologickým poločasem 47 hodin, přičemž se takto vyloučí až 81% podaného molybdenu. 19 % podané dávky se ve zvířeti retinuje nebo vylučuje velmi pomalu, s poločasem několika měsíců. /Obr. 2./

Při překročení prahové dávky cca 3,4 ng Mo/g ž.v. zvířete se objevuje nový mechanismus vylučování molybdenu s velmi krátkým biologickým poločasem, který při subkutánním podání je 3 hodinový, při intragastrickém 6 hodinový. Tento mechanismus je silně závislý na aplikované dávce tak, že s jejím růstem roste jeho procentuální podíl na vyloučení molybdenu. Procentuální podíl retinovaného molybdenu, se stoupající dávkou klesá, jak náhorně ukazuje obr.2, kde čerchované je vyznačen podíl retence, čárkované podíl pomalého a tečkované podíl rychlého vylučování.

Při nízkých a středních dávkách, cca do 10^3 ng Mo/g ž.v., se molybden vylučuje při rychlejším i pomalejším mechanismu pouze močí, přičemž se vyloučí, tím více procent aplikované dávky, čím je tato dávka vyšší, jak ukazuje plná příčka na obr. 2, předcházející nad prahovou hodnotou v křivku. Při vysokých dávkách dochází i k vylučování molybdenu ve faeces, jak ukazuje dvojitě čerchovaná křivka.

Distribuci molybdenu v jednotlivých tkáních a orgánech krysího organismu při dávce $D_0 = 800$ ng Mo/g. ž.v. ukazuje souhrnně obr. 3. Křivky koncentrací mají v prvních hodinách stejný charakter /Obr.3/ a vykazují maximum během 30 minut až 2 hodin podle způsobu podání. Další průběh je nezávislý na způsobu aplikace.

Zvláštní průběh vykazují koncentrace molybdenu v ledvinách, která je ze všech sledovaných tkání nejvyšší. Koncentrace dosahuje kolem druhého dne nového vyššího plochého maxima, jehož hodnota zůstává prakticky konstantní až do desátého dne a teprve později klesá. Koncentrace v ledvinách se liší od koncentrací v ostatních tkáních i tím, že u dospělých je vyšší o 40% než u mladých.

Průběh koncentrace molybdenu v ostatních sledovaných tkáních je si podobný. Během prvního dne vykazují prudký pokles, který u krve, tlustého střeva a tibiae přechází přímo v jednoduchou exponenciálu. U ostatních tkání, t.j. u jater, tenkého střeva, řezáku, stoliček, sleziny, myokardu a varleta se objevuje po prvním dne nevýrazné maximum, které přechází po druhém nebo čtvrtém dni v rovnoměrný pokles podle exponenciály /ev. s konstantou/.

Koncentrace molybdenu v tkáních je silně závislá na aplikované dávce, přičemž jen v několika případech jí roste přímo úměrně.

Uvedené závislosti byly vyjádřeny pro převážnou část sledovaného časového úseku jednoduchou formulí

$$y_{t,k} = D_0^a / b e^{-t} + c / \quad /2/$$

kde y je koncentrace aplikovaného molybdenu /ng Mo/g ž.v. tkáň/ k času t;

D_0 je aplikovaná dávka molybdenu /ng Mo/g ž.v./;

a, b, c jsou bezrozměrné koeficienty;

je rychlostní konstanta vylučování molybdenu /dny⁻¹/,

spojená s biologickým poločasem /dny/;

t je doba po aplikaci /dny/;

l, k jsou doby po aplikaci, pro které byla prověřena platnost vztahu.

Hodnoty jednotlivých konstant a biologické poločasy pro koncentraci molybdenu v sledovaných tkáních ukazuje tab. 2. /Tab.2/

Distribuce molybdenu byla dosud sledována při současném podání interferenčních prvků. Pouze u Comara a spol.^{2/} a Neillandea a spol.^{3/} nalézáme údaje o aplikaci samotného molybdenu. Nálezy Comara a spol. jsou obtížně srovnatelné s našimi v důsledku relativního vyjádření jejich výsledků. Naproti tomu Neillandea a spol. uvádějí obsah molybdenu v krysách a jejich tkáních v období do 143 hodin. I když aplikovali o řád více než byla u nás použita nejvyšší dávka, odpovídají jejich nálezy hodnotám, získaným výpočtem dle vztahů /1/ a /2/ a konstant y tabulkách 1 a 2.

Můžeme tedy shrnout, že při vyšších dávkách se vylučuje většina molybdenu velice rychle, a polečasem několika hodin. Teprve později se uplatní pomalejší typ vylučování, který je stejný i pro nízké dávky.

Jeho poločas je pouze dva dny. Podíl molybdenu, který se retinuje, je velmi malý a pravděpodobně se dále zmenšuje, avšak s poločasem delším, než aby se projevil v našich experimentálních podmínkách. Největší zátěž představuje akumulace molybdenu v ledvinách, játrech a kůži. Krátké biologické poločasy tedy napředstavují při práci s radioaktivními izotopy molybdenu, jejichž většina je rovněž krátkodobá, větší riziko.

Souhrn.

Při nízkých dávkách do 3 ng Mo/g ž.v. se v průběhu dvou týdnů retinuje do 19 % dávky, 81 % se vyloučí s poločasem asi 47 hod bez ohledu na stáří zvířat a způsob podání. Při dávkách nad 3 ng Mo/g ž.v. se molybden vylučuje dalším rychlým procesem, jehož poločas je při intragastrické aplikaci 5,6 hod, při subkutánní aplikaci 3 hod. Podíl molybdenu vyloučeného s kratším poločasem stoupá s růstem aplikované dávky. Molybden se z organismu vylučuje i vřkaly.

Při dávkách nad 25 ng Mo/g ž.v. byla sledována distribuce do ledvin, jater, tenkého střeva, tlustého střeva, tlustého střeva, sleziny, varlate, příčně pruhovaného svalu, myokardu, kůže, tibie, stoliček, řezáků a stanovena koncentrace v krvi. Koncentrace Mo v orgánu dosahuje maxima během 0,5-2 hodin podle druhu tkáně a způsobu aplikace, který se však později již neprojevuje. Věkové rozdíly byly nalezeny pouze u koncentrace v ledvinách. Nejvyšší koncentrace byla nalezena v ledvinách a játrech. U většiny orgánů klesá koncentrace molybdenu od 2. ev. 4. dne po aplikaci pravidelně podle exponenciály s poločasem 3 až 11 dnů.

Literatura.

1. Babický A., Ošťádalová I., Pařízek J., Kolář, J., Bibr B.:
Use of radioisotope techniques for determining the weaning period in experimental animals.
Physiol. bohemoslov., 19, 457 /1970/

2. Connor G.D., Singer L., Davis G.K.: Molybden metabolism and interrelationships with copper and phosphorus. J.Biol.Chem., 160, 913 /1949/.

3. Neilands J.B., Strong F.M., Elvehjem C.A.: Molybdenum in the nutrition of the rat. J.Biol.Chem., 172, 431 /1948/.

Tabulka 1.

Hodnoty parametrů rovnice (1) pro retenci molybdenu, aplikovaného kryšálem, vzhledem ke způsobu podání a k velikosti dávky.

Práhová dávka	Způsob podání	A ng Mo/g ž.v.	λ_A^{-1} hod ⁻¹	τ_A^* hod	B ng Mo/g ž.v.	λ_B^{-1} hod ⁻¹	τ_B^* hod	C ng Mo/g ž.v.
D_0 vyšší než 3,4 ng/g ž.v.	Intragastricky	$D_0 - 1,5D_0^{0,667}$	0,123	5,6	$1,215D_0^{0,667}$	0,0148	46,8	$0,285D_0^{0,667}$
	Subkutánně		0,228	3,0				
D_0 nižší než 3,4 ng/g ž.v.	Nezávisle na způsobu	/			$0,81 D_0$			$0,19 D_0$

* $\tau_{A,B}$ jsou biologické poločasy vylučování molybdenu rychlejší a pomalejší fázi.

- 101 -

and
rus.

in.

Tebulka 2.

Hodnoty konstant rovnice (2) pro retenci molybdenu v orgánech a tkání

Orgán, tkáň	Platnost v rozsahu lét dnů	a	b	c	λ dnů ⁻¹	τ * dnů
Ledviny dosp.	2 - 10	0,863	4,70	-	-	-
Ledviny mlad.	2 - 8	0,863	3,35	-	-	-
Játra	2 - 13,5	0,804	2,44	-	0,194	3,57
Tenké střevo	4 - 13,5	0,763	2,10	-	0,254	2,73
Plstné střevo	2 - 13,5	0,763	0,570	-	0,181	3,83
Slezina	2 - 13,5	0,854	0,268	-	0,175	3,96
Varle	4 - 13,5	0,791	0,404	-	0,192	3,61
Myokard	2 - 13,5	0,718	0,310	-	0,149	4,65
Krev	2 - 13,5	1,000	0,0077	-	0,100	6,90
Sval příčné pruhovaný	2 - 13,5	0,658	0,156	-	0,160	4,35
Kůže	2 - 14	0,360	1,420	0,273	0,280	2,47
Tibie	2 - 13,5	0,873	0,186	-	0,168	4,13
Stoličky	2 - 13,5	1,000	0,099	0,018	0,167	4,15
Řezák	2 - 13,5	1,000	0,078	-	0,063	11,3

* τ je biologický poločas vylučování aplikovaného molybdenu.

Popi

Obr.

Časo
moly
visl

Na o
ž.v.

-- □
-- ■

Obr.

Perce
extr
Na o
tenc

Obr.

Dist
dávč
Na o
moly

Popis obrázků.

Obr. 1.

Časový průběh vylučování subkutánně a intragastricky podaného molybdenu z organismu mladých a dospělých krysích samců v závislosti na velikosti dávky.

Na ose x - čas t v hod. po aplikaci, na ose y - dávka D v ng Mo/g ž.v.

--□-- intragastricky mladí; --○-- subkutánně mladí;
--■-- intragastricky dospělí; --●-- subkutánně dospělí;

Obr. 2.

Percentuální podíl jednotlivých vylučovacích fází na celkové extrakci molybdenu v závislosti na velikosti aplikované dávky.

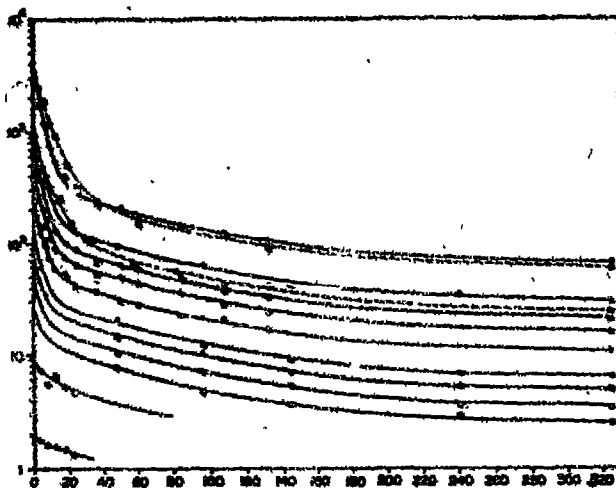
Na ose x - aplikovaná dávka D_0 v ng Mo/g ž.v., na ose y - % retence podaného molybdenu.

———— celkově vyloučený molybden; /———— celkově retinovaný Mo;
-.-.-.-.- molybden vyloučený pomalejší fází;
..... molybden vyloučený rychlejší fází;
-.-.-.-.- molybden vyloučený ve fázích.

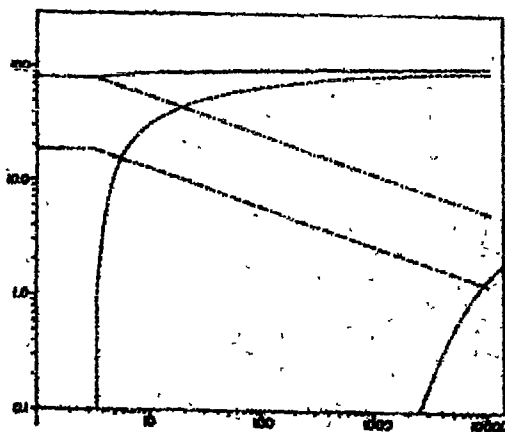
Obr. 3.

Distribuce molybdenu do tkání dospělých zvířat při subkutánní dávce $D_0 = 800$ ng Mo/g ž.v.

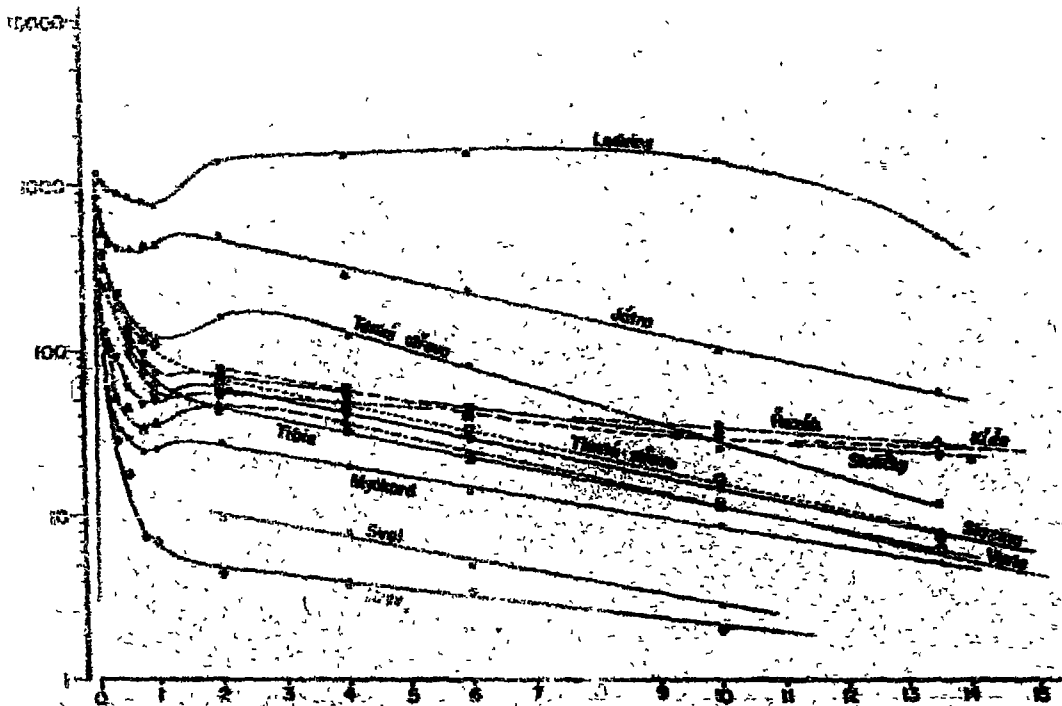
Na ose x - čas t v dnech po aplikaci, na ose y - koncentrace molybdenu v tkáních γ /ng Mo/g v.v./.



Ob. 1



Ob. 2



Ob. 3