

UTICAJ pH KRVI NA STABILNOST FLUROAPATITA

M. Nedeljković, V. Matović i D. Soldatović

Zavod za toksikološku hemiju, Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu,
Beograd

(Primljeno 20. VI 1983)

Ispitivana je stabilnost fluoroapatita, u uslovima različitog pH krvi, kod kunića prethodno tretiranih fluoridima dozom 20 mg F⁻/kg telesne mase tokom 30 dana.

Konstatovano je da u uslovima eksperimentalno izazvane acidoze sa amonijum-hloridom, odnosno alkaloze sa natrijum-bikarbonatom, dolazi do pokretanja deponovanih fluorida iz kostiju i zuba, što se odražava značajnim povećanjem koncentracije fluorida u plazmi. Mobilizacija fluorida iz depoa je izraženija u uslovima alkaloze.

Pri kroničnoj intoksikaciji fluoridima dolazi do njihove kumulacije u kostima i zubima u obliku fluoroapatita (1, 2). Sposobnost skeleta da veže fluoride je bitan čimilac u detoksikaciji ovih jedinjenja, jer se povlače fluoridi iz cirkulacije (3). Postavlja se, međutim, pitanje u kojoj su meri stvoreni depoi fluorida stabilni i mogu li se pod izvesnim uslovima fluoridi osloboditi iz depoa i dospeti u većim koncentracijama u cirkulaciju. Ranija ispitivanja *in vitro* (4) su pokazala da vitamin C, aspirin i tetraciklini dovode do mobilizacije deponovanih fluorida iz skeleta.

Ugrađivanje fluorida u kristalnu rešetku apatita predstavlja reverzibilan proces: deo deponovanih fluorida se oslobađa i pojavljuje u urinu i po prestanku unošenja fluorida u organizam, tj. spontano se mobilizuje (5). Pretpostavljamo da stanje acidoze ili alkaloze u organizmu predstavlja važan momenat u smislu uticaja na stabilnost fluoroapatita i pojave povećane koncentracije fluorida u cirkulaciji.

MATERIJAL I METODE

Za ova ispitivanja smo upotrebili tri grupe kunića *Lepus cunicula-belgica gigantea*, po osam životinja u svakoj grupi, starosti šest meseci i

telesne mase 2,2—2,8 kg. Životinje su, pri normalnom režimu ishrane, dobijale svakodnevno po 20 mg F^- /kg telesne mase u obliku vodenog rastvora natrijum-fluorida, oralno putem sonde, tokom 30 dana. U ovim uslovima hroničnog trovanja fluoridima dolazi do kumulacije fluorida u kostima i zubima u obliku fluoropatita, ugrađivanjem fluorida u kristalnu rešetku apatita.

Stabilnost fluoroapatita, u uslovima različitog pH krvi, ispitivana je praćenjem koncentracije fluorida u plazmi tokom primene supstancija koje dovode do acidoze ili alkaloze. Ispitivanja su vršena dva meseca posle završene intoksikacije, kada je spontana mobilizacija fluorida vrlo mala i konstantna (6).

Prethodno smo eksperimentalno utvrdili koje supstancije i koje doze možemo koristiti za postizanje acidoze, odnosno alkaloze. Primenili smo, u tom cilju, HCl 0,3 mol/L u obliku infuzije, zatim kalcijum-hlorid 0,1 g/kg kao i amonijum-hlorid 0,1 g/kg, *per os*, u cilju izazivanja acidoze, a za eksperimentalnu alkalozu smo upotrebili natrijum-bikarbonat 0,1 g/kg telesne mase, takođe *per os*, u obliku vodenog rastvora. Ispitivanja stabilnosti fluoroapatita u uslovima acidoze i alkaloze obavili smo na sledeći način: životinje su dobijale, tokom 4 dana, u obliku vodenih rastvora, *per os*, radi izazivanja acidoze amonijum-hlorid, a radi izazivanja alkaloze natrijum-bikarbonat u dozama od 0,1 g/kg.

Koncentracija fluorida u plazmi i parametri acidobaznog statusa određivani su trećeg i četvrtog dana i to jedan sat posle primene sredstava za izazivanje acidoze, odnosno alkaloze. Sadržaj fluorida u plazmi određivan je direktno jon-selektivnom elektrodom (7) po mešanju sa odgovarajućim puferom TISAB, u odnosu 1:1. Parametri acidobaznog statusa određivani su automatski na aparatu ABL 2 firme »Radiometer« (Copenhagen).

REZULTATI

U tabelama 1, 2. i 3. iznosimo rezultate naših ispitivanja.

U tabeli 1. su prikazana prethodna ispitivanja o uticaju nekih supstancija na promenu acidobaznog statusa, a sledstveno tome i na mobilizaciju fluorida. Primenom navedenih supstancija postignut je odgovarajući acidobazni status i povećanje koncentracije fluorida u plazmi. Međutim, primena infuzije HCl 0,3 mol/L dovodi do nagle promene pH i uginuća životinja, a primenom kalcijum-hlorida povećava se količina kalcijuma u plazmi, koji sa fluoridima gradi nerastvorni kalcijum-fluorid, što onemogućuje direktno određivanje fluorida u plazmi.

U tabeli 2. su prikazani rezultati mobilizacije fluorida u eksperimentalno izazvanoj acidozi sa amonijum-hloridom. U ovim uslovima dolazi do porasta koncentracije fluorida u plazmi koji je signifikantan.

U alkalozu dolazi, takođe, do mobilizacije fluorida, što je prikazano u tabeli 3. Koncentracija fluorida u plazmi, pod ovim uslovima, izrazito je povećana i statistički značajna.

Tabela 1.

Uticaj nekih supstancija na acidobazni status kod kunića i mobilizaciju deponovanih fluorida

Supstancija	pH	HCO ₃ ⁻ u mmol/L	F ⁻ u μmol/L
O	7,36	17,0	10,5
HCl 0,3 mmol/L	7,29	13,9	23,6
CaCl ₂ 0,1 g/kg	7,08	5,3	14,2
NH ₄ Cl 0,1 g/kg	7,12	8,3	31,5
NaHCO ₃ 0,1 g/kg	7,51	21,7	43,1

Tabela 2.

Mobilizacija deponovanih fluorida u acidozi sa amonijum-hloridom

Dani	pH	HCO ₃ ⁻ u mmol/L	F ⁻ u μmol/L
0	7,37 ± 0,02	16,4 ± 1,74	10,0 ± 0,62
3	7,20 ± 0,07*	10,7 ± 2,93*	28,9 ± 6,13*
4	7,14 ± 0,10*	7,8 ± 3,19*	30,0 ± 7,02*

Vrednosti aritmetičkih sredina ± standardna devijacija u istim kolonama se značajno razlikuju od kontrole

* p < 0,001 (Studentov t-test)

Tabela 3.

Mobilizacija deponovanih fluorida u alkaloziji sa natrijum-bikarbonatom

Dani	pH	HCO ₃ ⁻ u mmol/L	F ⁻ u μmol/L
0	7,37 ± 0,02	16,4 ± 1,74	10,0 ± 0,62
3	7,42 ± 0,03*	20,4 ± 1,30*	38,9 ± 6,40*
4	7,47 ± 0,04*	21,5 ± 1,71*	40,5 ± 5,36*

Vrednosti aritmetičkih sredina ± standardna devijacija u istim kolonama se značajno razlikuju od kontrole

* p < 0,001 (Studentov t-test)

DISKUSIJA

Činjenica da se deo deponovanih fluorida spontano mobilizuje (5) ukazuje na mogućnost povećane mobilizacije, naročito u uslovima promene pH krvi. Postojeća dinamika kretanja fluorida dala je mogućnost za pretpostavku da, pod izvesnim uslovima, ta dinamika može da bude i izraženija, što su naša ispitivanja i pokazala.

Ispitivanja *Reynoldsa i saradnika* na pacovima (8, 9) o uticaju acidobaznog statusa na toksičnost fluorida kod akutnog trovanja pokazuju da u alkalozii (3 ml NaHCO₃ 1 mol/L putem sonde) životinje podnose mnogo veće doze fluorida, što objašnjavaju povećanom eliminacijom fluorida u alkalozii i povećanjem transmembranskog pH gradijenta, što uslovljava da je koncentracija fluorida u ćelijama manja. U acidozi (3 ml NH₄Cl 1 mol/L putem sonde) dolazi do redukcije gradijenta i povećanja intracelularne koncentracije fluorida.

Koristeći ova saznanja možemo objasniti da je u eksperimentalno izazvanoj alkalozii mobilizacija deponovanih fluorida veća nego u acidozi kao posledica povećanja transmembranskog gradijenta.

Rezultati dobijeni ovim radom pokazuju da promena pH, u smislu acidoze i alkaloze, izaziva povećanu mobilizaciju deponovanih fluorida. Efekat promene pH krvi, u uslovima hronične intoksikacije fluoridima, ogleda se u porastu koncentracije fluorida u plazmi, koje iznenadnom pojavom u krvi mogu imati štetno dejstvo. Prema našim rezultatima efekat mobilizacije fluorida je izraženiji u alkalozii nego u acidozi.

Literatura

1. Neumen, W. F., Neumen, M. W., Main, E. R., Leary, J. O., Smith, F. A.: J. Biol. Chem., 187 (1950) 655.
2. Weidmann, S. M.: Arch. Oral Biol., 7 (1962) 63.
3. Gardner, D. E., Scharff, T. G., Smith, F. A., Hodge, H. C.: J. Nutr., 61 (1957) 207.
4. Nedeljković, M., Soldatović, D.: Arhiv za farm., 3 (1979) 33.
5. Largent, E. J.: Arch. Ind. Hyg., 6 (1952) 37.
6. Savchuck, W. B., Armstrong, W. D.: J. Biol. Chem., 193 (1951) 575.
7. Tušl, J.: Clin. Chim. Acta., 27 (1970) 216.
8. Reynolds, K. E., Whitford, G. M., Pashley, D. H.: Toxicol. Appl. Pharmacol., 45 (1978) 415.
9. Whitford, G. M., Reynolds, K. E., Pashley, D. H.: Toxicol. Appl. Pharmacol., 50 (1979) 31.

Summary

THE INFLUENCE OF BLOOD pH ON THE STABILITY
OF FLUOROAPATITE

Fluoroapatite stability, at different pH values of blood, was investigated in rabbits treated with fluoride (20 mg F⁻/kg body weight, daily) for 30 days.

The results indicate that in conditions of acidosis, caused experimentally by ammonium chloride, and of alkalosis, induced by sodium bicarbonate, fluoride level in plasma is significantly increased because of the mobilization of deposited fluoride. The mobilization of the previously stored fluoride was more pronounced in alkalosis, but a significant increase of plasma fluoride was also observed in acidosis.

*Department of Toxicological Chemistry,
School of Pharmacy, University of Belgrade,
Belgrade*

*Received for publication
June 20, 1983*