

## DOB, ALGINATI I METABOLIZAM KALCIJA I STRONCIJA

NEVENKA GRUDEN, KRISTA KOSTIAL i MIRKA BUBEN

*Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada JAZU, Zagreb*

*(Primljeno 9. III 1970)*

Ispitali smo kako djeluje dodatak Na-alginata (Manucol SS/LD/2) hrani na metabolizam peroralno apliciranog radioaktivnog kalcija ( $^{47}\text{Ca}$ ) i stroncija ( $^{85}\text{Sr}$ ) u 6, 16 i 26 tjedana starih štakora.

Rezultati su pokazali da se dodavanjem Na-alginata (10 g na 100 g standardne suhe hrane) značajno snizuje i apsorpcija radiostroncija u probavnom traktu i njegova retencija u skeletu štakora svih dobnih skupina. Metabolizam kalcija ostao je, međutim, uvijek praktički nepromijenjen.

U grupi najmlađih štakora (6 tjedana starih) alginati su se pokazali najuspješniji u selektivnom sniženju apsorpcije radiostroncija.

Poznato je da jedan od najopasnijih produkata fisije – stroncij-90 – ima sposobnost ugradnje u kosti i da ga je od tamo praktički nemoguće odstraniti. Najefikasniji način da se onemogući ugradnja radiostroncija u kost je sprečavanje njegove apsorpcije iz probavnog trakta. Međutim, jer stroncij u tijelu prati kalcij, treba nastojati da se pri tom apsorpcija kalcija, koji je organizmu neophodan, ne smanji.

Među mnogobrojnim sredstvima koja su se u tu svrhu koristila, posljednjih godina u centru pažnje je alginat, polimer D-manuronske i L-guluronske kiseline koji se dobiva iz smeđih morskih alga (Phaeophyceae). Skoryna i sur. su 1964. godine primijetili da istovremeno injiciranje radiostroncija i Na-alginata u probavni trakt štakora snizuje apsorpciju stroncija u svim dijelovima tankog crijeva i želuca za 50–80%, a da apsorpcija kalcija nije bitno promijenjena (1). Poslije toga su se djelovanjem alginata počeli intenzivnije baviti isti a i mnogi drugi autori. Tako se našlo da dodatak Na-alginata hrani štakora snizuje apsorpciju stroncija iz probavnog trakta za 83% (2), da Ca-alginat djeluje jednako kao i Na-alginat (3), da je za bolju efikasnost alginata potrebno da u njima bude što viši omjer guluronske kiseline prema manuronskoj (4, 5, 6), da je djelomice »degradiran« alginat efikasniji u sprečavanju apsorpcije stroncija (7) (ali i ovdje uz uvjet da je omjer guluronske kiseline prema manuronskoj što viši), te da se sam alginat u probavnom traktu ne apsor-

bira (8). Nadalje se primijetilo da je od značaja o kakvoj se vrsti alga radi i pod kakvim su uvjetima one sakupljane (9).

*Patric* i sur. dokazali su u »in vivo« i »in vitro« pokusima na štakorima da je alginat O. G. 1 (10) koji sadrži oko 97% guluronske kisline najuspješniji u sniženju apsorpcije stroncija iz probavnog trakta (11). Primjenom tog alginata kod ljudi uspjeli su sniziti apsorpciju radiostroncija za 70%, dok je apsorpcija kalcija bila svega 7% niža (12). Najbolji rezultati postignuti su na štakorima istovremenim povišenjem sadržaja kalcija, fosfata i alginata u hrani (13).

Do sada još nije objašnjen način djelovanja alginata. Vjerojatno je za selektivno vezanje alginata sa stroncijem važna njegova stereokemijska konfiguracija (14), kao i konstanta formiranja stroncijeva alginata (15).

S obzirom na osebjnosti koje pokazuje metabolizam mladog organizma (radi brzog rasta i razvoja skeleta povećana je potreba za kalcijem, a smanjena diskriminatorna sposobnost prema stronciju) (16, 17), vrlo je važno imati sredstvo koje će i u mlađoj dobi selektivno djelovati na apsorpciju stroncija. O djelotvornosti alginata u odnosu na dob, postoji u literaturi relativno malo i dosta oprečnih podataka. Svrha je ovog rada bila da dobijemo više podataka na tom području.

#### METODE

Pokuse smo izveli na mužjacima bijelog štakora iz vlastitog uzgoja dobi 6, 16 i 26 tjedana. Sve su životinje prije pokusa primale standardnu hranu za štakore (1,3 g kalcija i 0,7 g fosfora na 100 g suhe hrane). Hrana eksperimentalnih životinja dodali smo 10% Na-alginata Manucol SL/LD/2 (Alginate Industries Ltd, London), koji sadrži 73% guluronske kiseline. Kontrolne su životinje u toku cijelog pokusa koji je trajao 9 dana i nadalje primale samo standardnu hranu. Šesti i sedmi dan pokusa svi su štakori primili radioaktivni kalcij i stroncij u vodi za piće ( $0,4 \mu\text{Ci } ^{47}\text{Ca}$  i  $0,2 \mu\text{Ci } ^{85}\text{Sr}$  na 10 ml). Štakori su od šestog do devetog dana pokusa boravili u metaboličkim kavezima zbog sakupljanja sekreta. Životinje su žrtvovane deveti dan od početka pokusa. Aktivnost kalcija-47 i stroncija-85 određivali smo u mineraliziranim uzorcima skeleta i urina u scintilacijskom brojaču s jednokanalnim analizatorom na isti način, kao u našim ranijim radovima (18). Svi su rezultati izraženi u postotku primljene doze radioaktivnih izotopa. Grupni rezultati prikazani su kao aritmetička sredina i njezina standardna pogreška, a razlike u grupama određene su *t*-testom.

#### REZULTATI

Na tablici 1 prikazan je utjecaj natrijeva alginata na retenciju kalcija-47 i stroncija-85 u skeletu 6, 16 i 26 tjedana starih štakora. Vidimo da se dodatkom alginata hrani retencija radioaktivnog kalcija u skeletu nije smanjila, a retencija stroncija snizila se za 53–78% ( $P < 0,001$ ).

Tablica 1

Utjecaj Na-alginata na retenciju kalcija-47 i stroncija-85 u skeletu 6, 16 i 26 tjedana starih štakora

Dob – tjedni	Kalcij-47				% kontrola
	Kontrola		Na-alginat		
	Broj štakora	% doze±SP	Broj štakora	% doze±SP	
6	12	29,30±0,80	12	28,80±1,50	98
16	10	15,20±0,30	9	15,80±0,70	104
26	9	9,08±0,38	9	12,33±1,09	135
	Stroncij-85				
6	12	10,81±0,36	11	2,40±0,17	22
16	10	5,68±0,18	9	1,82±0,14	32
26	9	3,23±0,19	9	1,47±0,19	47

Vrijednosti predstavljaju aritmetičke sredine procenta primljene doze, i standardnu pogrešku.

Tokom cijelog pokusa – 9 dana – eksperimentalna grupa životinja primala je 10 g Na-alginata (Manucol SS/LD/2) na 100 g suhe hrane. Radioaktivni izotopi aplicirani su u pitkoj vodi šesti i sedmi dan pokusa.

Najjači učinak alginata primijećen je kod najmladih životinja. Osim toga, vidimo i nalaz koji je dobro poznat, naime da se starenjem smanjuje skeletna retencija kalcija i stroncija.

Selektivno djelovanje alginata na skeletnu retenciju radiostroncija najbolje se očituje iz omjera  $^{85}\text{Sr}/^{47}\text{Ca}$  u kostima (tablica 2). Taj omjer je 3–5 puta niži u skeletu eksperimentalne grupe životinja ( $P < 0,001$ ), a najniži je kod najmladih štakora.

Tablica 2

Utjecaj Na-alginata na omjer  $^{85}\text{Sr}/^{47}\text{Ca}$  u skeletu 6, 16 i 26 tjedana starih štakora

Dob – tjedni	Broj štakora	Kontrola	Broj štakora	Na-alginat	% kontrola
6	12	0,37±0,01	10	0,08±0,002	22
16	10	0,38±0,01	9	0,10±0,01	26
26	9	0,35±0,01	9	0,12±0,02	34

Aktivnost kalcija-47 i stroncija-85 određivali smo i u mineraliziranim uzorcima trodnevnog urina (tablica 3). Eliminacija radioaktivnog kalcija i stroncija u urinu je smanjena kod životinja tretiranih alginatima.

Tablica 3

*Utjecaj Na-alginata na eliminaciju kalcija-47 i stroncija-85 u urinu 6, 16 i 26 tjedana starih štakora*

Dob - tjedni	Kalcij-47			
	Kontrola		Na-alginat	
	Broj štakora	% doze±SP	Broj štakora	% doze±SP
6	12	2,06±0,20	12	1,41±0,13
16	10	1,80±0,10	9	0,81±0,05
26	9	2,11±0,25	9	0,93±0,16
	Stroncij-85			
6	12	2,51±0,10	11	1,07±0,10
16	10	3,50±0,20	9	1,03±0,09
26	9	3,43±0,19	9	1,52±0,16

Vrijednosti predstavljaju eliminaciju kalcija-47 i stroncija-85 u 72-satnom urinu.

Tablica 4

*Utjecaj Na-alginata na apsorpciju kalcija-47 i stroncija-85 iz probavnog trakta 6, 16 i 26 tjedana starih štakora*

Dob - tjedni	Kalcij-47				% kontrola
	Broj štakora	Kontrola	Broj štakora	Na-alginat	
6	12	31,36±0,87	12	30,20±1,51	96
16	8	16,50±0,30	8	16,30±0,74	99
26	7	11,28±0,22	7	12,95±0,82	115
	Stroncij-85				
6	11	13,48±0,51	7	2,71±0,13	20
16	10	9,20±0,30	9	2,90±0,17	32
26	7	6,49±0,31	9	2,99±0,21	46

Taj je učinak izrazitiji za radiostroncij, jer je i njegova apsorpcija u grupi eksperimentalnih životinja niža. Slične rezultate dobila je i *A. Sutton* 1967 (5) kod primjene alginata na ljudima.

Apsorpcija tj. suma skeletne retencije i eliminacije kalcija-47 i stroncija-85 urinom, prikazana je na tablici (4). Dok alginati apsorpciju stroncija snižuju za 55–74%, apsorpcija kalcija ostaje gotovo nepromijenjena. I ovdje vidimo najizrazitiji učinak alginata kod najmlađih životinja.

#### DISKUSIJA

Podaci o djelovanju alginata na apsorpciju radioaktivnog stroncija u odnosu na dob organizma su u literaturi dosta oprečni. *Paul* i sur. su ustanovili, da je u pokusima jednokratne oralne primjene Na-alginata i radiostroncija sniženje apsorpcije bilo veće kod odraslih štakora, nego kod mlađih (19). Isti autori su, međutim, u pokusima kronične primjene alginata primijetili, da je proces sniženja apsorpcije kod štakora u periodu naglog rasta bio približno jednak na početku i na kraju pokusa, koji je trajao 55 dana (20). *Šlat* i *Kostial* su u toku sličnih pokusa produženog djelovanja alginata u hrani ustanovile, da djelotvornost alginata opada sa dobi (21), a slične je rezultate dobio i *Harrison* 1967. (22). Rezultate takvih kroničnih pokusa teško je tumačiti, jer se može raditi i o adaptaciji životinja na promijenjenu ishranu, a ne nužno o efektu dobi.

U pokusima u kojima se alginat dodavalo mlijeku tek okoćenih štakora (5–7 dana starosti), pokazalo se da alginati izazivaju sniženje za oko 50%. U životinja te dobi apsorpcija kalcija iz probavnog trakta je vrlo visoka, diskriminacija prema stronciju praktički ne postoji, a ostali dodaci mlijeku kao što su kalcij i fosfati ne izazivaju sniženje apsorpcije radiostroncija (23).

U ranijim pokusima na izoliranom duodenumu štakora ustanovili smo, da alginat O. G. I podjednako snižuje transport stroncija kroz stijenku crijeva u životinja starih 6 i 26 tjedana (24). Razlika između rezultata postignutih u ovom radu i ranijih rezultata »in vitro« pokusa (24) mogu se protumačiti činjenicom, da se apsorpcija stroncija vrši i u drugim dijelovima crijeva, a ne samo u duodenumu.

Iz svih ovih rezultata možemo zaključiti, da alginati predstavljaju sredstvo koje izaziva značajno sniženje apsorpcije radiostroncija iz probavnog trakta u svim dobnim skupinama, a da pri tome apsorpcija kalcija ostaje gotovo nepromijenjena. Postotak sniženja apsorpcije, odnosno retencije radioaktivnog stroncija je djelomično ovisan o dobi, ali djelomično ovisi i o porijeklu i sastavu alginata.

## Literatura

1. Skoryna, S. C., Paul, T. M., Waldron-Edward, D.: *Canad. Med. Ass. J.*, 91 (1964) 285.
2. Waldron-Edward, D., Paul, T. M., Skoryna, S. C.: *Canad. Med. Ass. J.*, 91 (1964) 1006.
3. Paul, T. M., Skoryna, S. C., Waldron-Edward, D.: *Canad. Med. Ass. J.*, 95 (1966) 957.
4. Harrison, G. E., Humphreys, E. R., Sutton, A., Sheperd, H.: *Science*, 152 (1966) 655.
5. Sutton, A.: *Nature*, 216 (1967) 1005.
6. Haug, A., Smidsrod, O.: *Nature*, 215 (1967) 757.
7. Tanaka, Y., Skoryna, S. C., Waldron-Edward, D.: *Canad. Med. Ass. J.*, 98 (1968) 1179.
8. Humphreys, E. R., Triffitt, J. T.: *Nature*, 219 (1968) 1172.
9. Tanaka, Y., Waldron-Edward, D., Skoryna, S. C.: *Canad. Med. Ass. J.*, 99 (1968) 169.
10. Humphreys, E. R.: *Carbohydr. Res.*, 4 (1967) 507.
11. Patrick, G., Carr, T. E. T., Humphreys, E. R.: *Int. J. Rad. Biol.*, 12 (1967) 427.
12. Carr, T. E. T., Harrison, G. E., Humphreys, E. R., Sutton, A.: *Int. J. Rad. Biol.*, 14 (1968) 225.
13. Kostial, K., Maljković, T., Kadić, M., Manitašević, R., Harrison, G. E.: *Nature, Lond.*, 215 (1967) 182.
14. Patrick, G.: *Nature*, 216 (1967) 815.
15. Triffitt, J. T.: *Nature*, 217 (1968) 457.
16. Lough, S. A., Rivera, J., Comar, C. L.: *Proc. Soc. Exp. Biol. NY*, 112 (1963) 631.
17. Taylor, D. M., Bligh, P. H., Duggan, M. H.: *Biochem. J.*, 83 (1962) 25.
18. Kostial, K., Ujvodić, S., Gruden, N., Lutkić, A.: *First European Symposium on Bone & Tecth*, H. J. Blackwood, ed., Oxford, Pergamon Press, 1964, str. 111.
19. Paul, T. M., Waldron-Edward, D., Skoryna, S. C.: *Canad. Med. Ass. J.*, 91 (1964) 553.
20. Skoryna, S. C., Paul, T. M., Waldron-Edward, D.: *Canad. Med. Ass. J.*, 93 (1965) 404.
21. Šlat, B., Kostial, K.: II Jug. kongres za med. rada, Split 1967, Sadržaji saopćenja 5-7.
22. Harrison, G. E., u: *Diagnosis and Treatment of Deposited Radionuclides*, Proceedings of a Symposium held at Richland 1967, 333.
23. Kostial, K., Duraković, A., Šimonović, I., Juvančić, U.: *Int. J. Radiat. Biol.*, 15 (1969) 563.
24. Gruden, N.: *Zbornik radova IV jugoslavenskog simpozijuma o radiološkoj zaštiti*, Baško Polje 1969, 148.

*Summary*CALCIUM AND STRONTIUM METABOLISM AS RELATED TO AGE  
AND ALGINATES

The efficiency of alginates in reducing radiostrontium absorption from the intestine was evaluated in 6, 16 and 26 week old male rats. They were fed diets with alginate additives (Sodium alginate, Manucol SS/LD/2, 10 g per 100 g of dry food) for 9 days. Calcium-47 and strontium-85 were added to the drinking water of experimental and control animals during the 6th and 7th day of the experiment. After sacrificing the animals on the 9th day both radioactive isotopes were determined in dissolved mineralised samples of the carcass and urine. All results were expressed as percentage of the applied dose.

The results show a statistically significant reduction of radiostrontium retention and absorption in animals of all age groups. The radioactive calcium absorption remained unimpaired. The effect of alginates on strontium absorption was more pronounced in younger animals.

*Received for publication March 9, 1970*

*Institute for Medical Research and  
Occupational Hygiene, Yugoslav Academy  
of Sciences and Arts, Zagreb*