

Biokemijski aspekti otrovanja živom i distribucija žive u organizmu

Biokemiju otrovanja živom proučava se sa dva različita stanovišta: sa stanovišta učinaka žive na tkivne enzime i sa stanovišta biotransformacije žive tj. promjena koje se zbivaju u kemizmu žive kad se ona eksponira živim sistemima. Još uvijek nema, nažalost, jasne slike o inhibitorynim učincima žive na biokemijske procese. Zna se da se živa rado spaja s tiolskim grupama pa je u stanju inhibirati one enzime koji posjeduju tu grupu, a u velikim koncentracijama živa precipitira bjelančevine. Čini se da su enzimi inhibirani gdje god se akumulira živa in vivo. Najnovija istraživanja pokazala su način distribucije žive u tijelu. Ove godine je upotrebljena i moderna metoda centrifugalne separacije subcelularnih čestica da bi se proučila distribucija žive u jetrenim stanicama. Pokazano je da se živa nakuplja u lizosomima, »suicidalnim vrećicama« stаницe, raspadanje kojih dovodi do oslobađanja hidrolitičkih enzima. Čini se da je oštećenje lizosoma primarna lezija odgovorna za destrukciju stаницe. Biotransformacija žive u tijelu je jednako važan faktor u određivanju njezinih učinaka na biokemijske procese. Živa postoji u tri oksidacijska stanja: kao elementarna živa (živine pare), kao merkuro-soli i kao merkuri-soli, a isto tako i u nizu organometalnih spojeva. Proučavanja koja se provode u epruvetama o djelovanju stanovitog organskog živinog spoja na enzime mogu dovesti do sasvim krivih zaključaka ako se taj organski spoj u tijelu brzo pretvara u anorganski. Upravo je to često puta dovelo do proturječja u tumačenju eksperimentalnih rezultata proučavanja djelovanja organskih živinih spojeva na funkcije bubrega. Sve dok se ne stekne više znanja o lokalnoj distribuciji žive u tkivima i stanicama i o kemijskoj sudbini žive unutar organizma, biokemijska proučavanja neće mnogo pomoći. Eksperimenti in vitro su pokazali da su uzorci čitave krvi u stanju resorbirati živine pare i da brzo oksidiraju metal u toksički merkuri ion. To bi odgovaralo već zabilježenim opažanjima da je distribucija žive u tijelu jednaka nakon ekspozicije inhalaciji žive kao i nakon injekcije $HgCl_2$. U obim je slučajevima prelaženje žive u mozak maleno, otprilike manje od 2% od injicirane količine. Ipak, koncentracija žive u mozgu nakon ekspozicije živinim parama može biti i deset puta veća nego nakon injekcije $HgCl_2$. Najnovija istraživanja Magosa su pokazala da je povećano prelaženje žive u mozak možda posljedica prisutstva malih količina nepromijenjene živine pare otopljene u krvi. Magos ukazuje na činjenicu da je vrijeme cirkulacije iz pluća u mozak kratko pa da je dostatno da se živina para kratko zadrži u krvi pa već može lako i brzo dospjeti u mozak. Eksperimenti in vitro su pokazali da se otopljena elementarna živa može otkriti u krvi i do 15 minuta nakon ekspozicije parama. Zanimljivo je opažanje na životinjama da se nakon injekcije živina biklorida ($HgCl_2$) štakorima manje od 20% izlučene žive izgubi u hlapljivom obliku. Mehanizam tog gubitka je nepoznat, a nije identificiran ni kemijski oblik tako isparene žive, jer se može raditi jednako o elementarnoj živi kao i o nekom alkilnom živinom spoju. Vrlo zanimljivo je i zapažanje da neki mikroorganizmi mogu isparivati živu iz otopina merkuri klorida i da su ti mikroorganizmi katkada prisutni ne samo u laboratorijima nego i u vodovodnoj vodi, pa bi kontaminacija urina tim bakterijama bila u stanju prouzrokovati brzi gubitak žive iz uzoraka urina. Pa i poznata otrovanja u Minamata zaljevu u Japanu ukazuju da organsku živu mogu i životinje koje ne pripadaju sisavcima pretvoriti u alkilne živine spojeve: merkuri soli dospjele iz otpadnih voda jedne tvornice u zaljev kontaminirale su ribu u tom području do te mjere da su ljudi koji su tu ribu jeli svi dobili tipične simptome otrovanja živom i to alkilnim živinim spojevima. Najnovija istraživanja, koja je objavio Westöo upotrebljavajući plinsku i tankoslojnu kromatografiju, po-

kazale su da otjecanje otpadnih voda s fenil-živom u rijeke i potoke u Švedskoj dovodi do stvaranja metil-živinih spojeva u ribama, a Jensen i Jernclov su dokazali da pretvaranje anorganske žive u metil-živu posreduju mikroorganizmi prisutni u mulju, pa pretpostavljaju da se fenil-živa najprije pretvara u anorgansku, a onda ta u alkil-živu tj. u metil-živu. I oslobađanje žive iz živinih diuretika može biti od toksikološke i farmakološke važnosti zbog tri razloga: prvo, ta anorganska živa može biti odgovorna za diuretski učinak; drugo, ona može biti odgovorna za toksički učinak koji se opaža kod predoziranja diuretika, i treće, budući da se anorganska živa vrlo dugo zadržava u bubregu od velike je važnosti brzina izlučivanja diuretika da ne bi došlo do kumulativnog učinka. Zbog tih razloga izvršeno je već mnogo pokušaja da se analitičke metode koje bi bile u stanju razlikovati intaktnu diuretsku molekulu i anorgansku živu u tkivima i u mokraći. O tim metodama i njihovim dometima opširno izvješćuje Clarkson koji ističe važnost koncentracija anorganske žive u bubrežnom tkivu posebno zbog pitanja kako dugo ostaje živa u bubregu. Prijašnja ispitivanja s klormerodrinom su pokazala da se taj organski živin spoj brzo kumulira u bubregu, ali i brzo izlučuje, pa se nakon 48 sati intaktna organska živina molekula ne može otkriti u tkivu, ali se anorganska živa otcijepljena iz tog spoja, ipak polagano kumulira u bubregu. Ti i slični eksperimenti opravdavaju zaključke da opetovane injekcije organo-živinih diuretika dovode do kumulativne toksičnosti.

Vrlo su zanimljivi rezultati istraživanja o distribuciji žive među krvnim frakcijama i serumskim bjelančevinama, koje su vršili Cember, Gallagher i Faulkner. Kao što je poznato živa je vezana u krvi na eritrocite, ali postoji i interakcija između žive i proteina u plazmi, naročito albumina, zbog čega se stvara topljivi živin albuminat. Kemijska spajanja koja nastaju između žive i sastavnih dijelova krvi vjerojatno u velikoj mjeri određuju mehanizam distribucije i eliminacije bilo u feces kroz žuč ili kroz sekreciju crijevne sluznice ili kroz mokraću kao rezultat glomerularne filtracije, kao rezultat sekrecije tubularnog epitela ili deskvamacije epitelijalnih stanica koje sadrže vezanu živu. U svojim ranijim eksperimentima ti su autori našli da put i brzina izlučivanja žive ovisi o veličini doze ekspozicije, a sadašnja ispitivanja su poduzeli da prouče odnos između veličine doze žive i distribucije među krvnim komponentama. Izotopom markiranu živu u $HgCl_2$ davali su intravenski štakorima u dozi između 0,12 mg na kg do 1,2 mg na kg, a zatim su štakore serijski žrtvovali nakon pol do 96 sati; živu su mjerili posebno vezanu na eritrocitima, posebno u plazmi i na serumskim bjelančevinama. Zabilježeno je nekoliko važnih opažanja. Prvo je činjenica da serumski albumin nije glavni nosilac žive, već je glavni dio žive vezan na globuline. Elektroforzom slobodne ionizirane žive nađeno je da ona seli u područje alfa globulina, ali je količina slobodne žive u plazmi beznačajna u usporedbi s onom vezanom na bjelančevine. Kod obih gore spomenutih doza oko 3/4 žive u krvi bilo je u početku vezano na eritrocite, ali je kod većih doza stalno opadala ta frakcija sve do 1/4 u eritrocitima i do 3/4 u plazmi. Kod manjih doza je početna razdioba žive između eritrocita i plazme ostala otprilike ista; kod većih doza došlo je do znatnog pomicanja od globulina na albumin u frakcionalnoj distribuciji žive vezane na bjelančevine, ako se produživalo vrijeme nakon ekspozicije. Ta promjena u frakcionalnoj distribuciji čini se da se može pripisati premještanju žive iz alfa globulina na albumin.

Nakon inhalacije para metalne žive u mozgu se nađe veći dio žive nego nakon injekcije neke merkuri soli pa bi ta činjenica mogla objasniti zašto osobe koje su ekspozicirane živinim parama imaju manifestacije toksičkih učinaka žive na mozak, a ne pokazuju manifestacija oštećenja bubrega, dok obrnuto, živin klorid injiciran u tijelo oštećuje bubreg, ali ne mozak. Magos je proveo ispitivanja koja bi odgovarala na pitanje da li se živa unijeta u krvnu struju u elementarnom obliku transportira krvlju u mozak kao takva ili se prvo oksidira na merkuri ione. Zbog toga rada Magos je iznašao tehniku injiciranja metalne žive intravenski u vodenoj otopini. Trideset sekunda nakon intravenske injekcije 0,1 mikrograma metalne žive markirane sa ^{203}Hg štakorima, bilo je gotovo 20% te doze izdahnuto, a koncentracija u mozgu je bila gotovo jednaka koncentraciji u krvi. Nakon injekcije merkuri iona malo je od gornje doze bilo izdahnuto, a još mnogo manje se našlo u mozgu. Prema tome oksidacija žive u krvnoj struji nije bila promptna, a brzi transport nepromijenjene metalne žive u mozak i njezina brza difuzija iz krvi nakon toga bila je uzrokom visoke koncentracije žive u mozgu nakon ekspozicije živinim parama. Prema tome Magos je i in vivo dokazao već

prije objavljeno zapažanje in vitro da pretvorba elementarne žive u mercuri ion u krvi nije promptna i zapravo je polagana kad se uspoređi s pojedinačnim vremenom cirkulacije koje je dostatno da odnese živu iz pluća u mozak.

Clarkson, T. W.: Biochemical Aspects of Mercury Poisoning. J. Occup. Med., 10 (1968) 351. – Magos, L.: Transport of Elemental Mercury by Blood, Arch. Pharmak. exp. Path., 259 (1968) 183. – Westöo, G.: Determination of Methylmercury Compounds in Foodstuffs, Acta Chem. Scand., 21 (1967) 1790. – Magos, L.: Uptake of Mercury by the Brain, Brit. J. industr. Med., 25 (1968) 315. – Magos, L.: Mercury Blood Interaction and Mercury Uptake by the Brain, Environm. Res., 1 (1967) 323. – Cember, H., Gallagher, P., Faulkner, A.: Distribution of Mercury Among Blood Fractions and Serum Proteins, Am. Industr. Hygiene J., 29 (1968) 233.

DUNJA BERIĆ

Imunologija i plućne funkcije kod bagasoze

U posljednje vrijeme mnogo se piše o bagasozi, posebno s obzirom na njezinu epidemiologiju, na ekološke i kliničke aspekte. Makar ta profesionalna bolest, čini se, nema izgleda da se pojavi i u našoj zemlji, jer je ograničena na upotrebu šećerne trske, ipak je ona i za nas od interesa u onom patogenetskom proučavanju koje vodi naročita računa o imunološkim aspektima te bolesti i o plućnim funkcijama radnika oboljelih od bagasoze. A ti su imunološki aspekti i plućne funkcije opet u najužoj povezanosti s grupom oboljenja, najvećim dijelom profesionalnih, koje se danas svrstavaju u skupinu nazvanu alveolitis alergika.

Kako je poznato »bagasa« je vlaknati ostatak šećerne trske nakon što je iz nje ekstrahiran šećer. Taj se izraz nekada upotrebljavao samo u Provenci u Francuskoj da se označi ostatak nakon mljevenja maslina. Korijen te riječi je anglosaskog porijekla, vjerojatno kao riječ »baeg« koja upravo i znači vrećastu ljusku masline. Primjena bagase prilično je široka, jer se mnogo koriste njezina izolacijska svojstva, a u zemljama koje produciraju šećer iz trske, upotrebljava se čak i kao umjetno gnojivo. Kako je poznato, inhalacija prašine pljesnive bagase izazivlje respiratornu bolest poznatu pod imenom bagasoza, klinička slika koje je vrlo slična kliničkoj slici bilo koje bolesti koja spada u skupinu ekstrinzičkih alergičkih alveolitisa. Klinički se bagasoza manifestira povišenom temperaturom, kašljem, dispnejom, gubitkom na težini i slabošću; na rendgenogramu se nađu difuzni, nespecifični infiltrati. Prema tome, jedna jedina epizoda bolesti ne može se klinički razlikovati od niza nebakterijskih pneumonija. Međutim, patološko-anatomski se ipak razlikuje po intersticijalnim infiltratima fibroblasta, okruglih stanica i golemih stanica stranih tijela te kristaliničkim inkluzijama koje rotiraju polarizirano svjetlo. Rendgenografske promjene i simptomi nestaju spontano, iako kortikosteroidi ubrzavaju oporavak.

Inače kliničke, radiološke, fiziološke i patološke karakteristike bagasoze nalikuju na sliku ekstrinzičkog alergičkog alveolitisa uzrokovanog drugim organskim prašinama. Hargreave, Pepys i Holford-Strevens prikazuju slučaj bagasoze kod 59-godišnjeg radnika koji je izrađivao ormare iz bagase, a koji je 4–5 sati nakon otvaranja velikih zamotaka koji su sadržavali pljesnivu bagasu dobio simptome nalik na influencu sa suhim iritirajućim kašljem i blagom dispnejom na napor, ali bez fićukanja i »sviranja«. Zimica, povišena temperatura i slabost nestali su idućeg dana, ali se kašalj i dispneja zadržala još 4–5 dana. Opetovane ekspozicije u trajanju od 10 minuta do 2 sata izazivale su slične simptome pa je zbog toga radnik u nekoliko mjeseci izgubio 5 kg na težini. Nakon posljednje ekspozicije stanje je bilo izrazito teže nego kod prethodnih, što ga je prisililo na 10-dnevno ležanje. Rendgenografija pluća otkrila je samo zadebljanje horizontalne pukotine, ali bez mikronodularnih sjena. Simptomi su potpuno nestali 3 sedmice nakon prekida kontakta s bagasom. Autori su izazivali febrilne atake s prolaznom dispnejom u trajanju od 4–12 sati provokacijama sa 5-minutnim inhalacijama aerosola izrađenih iz ekstrakata pljesnive bagase kojoj je bio radnik i eksponiran te smrzavanjem osušenih ekstrakata pljesni *Thermoactinomyces vulgaris*, i to u dozi od 10 mg na 1 ml. Kod toga je dolazilo do pada vrijednosti forsiranog volumena ekspiracije u jednoj sekundi i do pada vrijednosti vitalnog

kapaciteta, a da se obje te funkcije nisu mogle normalizirati izoprenalinom, te do pada vrijednosti tzv. faktora za prenos ugljičnog monoksida. U njegovu sputumu nije bilo eozinofila. Nije bilo nikakvih reakcija nakon inhalacije ekstrakta pljesni *Microspora faeni* koja je inače glavni izvor antigena odgovornih za farmerska pluća. Precipitini bili su negativni i na ekstrakte *T. vulgaris*, *M. faeni*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Candida albicans* i *Mucor spp.* Kod farmerskih pluća i kod »pluća uzgajivača ptica« pozitivni precipitinski test je u uskoj povezanosti s bolešću pa danas više inhalacijski testovi nisu ni potrebni. Međutim, kod bagasoze precipitinski test po mišljenju Hargreavea i sur. nije toliko koristan, jer neki ekstrakti pljesnive bagase daju pozitivne reakcije jednako često i kod radnika koji nisu eksponirani pa čak i kod radnika koji nemaju nikakve smetnje. Autori inače spominju druge radove kod kojih su inhalacijski testovi s *T. vulgaris* izazivali tipične reakcije makar su precipitinske reakcije na *T. vulgaris* bile negativne, pa se čini da je *T. vulgaris* vjerojatno ipak ipak važan izvor antigena odgovornih za bagasozu.

Pierce, Nicholson, Miller i Johnson opisuju znakove i simptome akutne bagasoze (koju oni nazivlju »akutna pluća radnika s bagasom«, »acute bagasse worker's lung«) kod sedmorice ljudi koji su prethodno radili u tvornici vlaknatog namještaja. Kod dvojice od tih bolesnika bila je izvršena biopsija pluća koja je potvrdila dijagnozu. Ta mala epidemija bagasoze dala je autorima jedinstvenu priliku za serijsko proučavanje fizioloških poremećaja, jer su se prijašnji opisi proučavanja ograničavali na pojedinačne kazuističke prikaze, pa su mjerenja plućnih funkcija vršena samo kod sporadičnih slučajeva, ali dijagnoza nije nikad bila čvrsto postavljena. Autori su mjerili funkcije pluća u periodu od 2,5 sedmica do 26 mjeseci nakon početka simptoma. Svi su bolesnici imali restriktivni plućni defekt uzrokovan smanjenjem kapacitetom inspiracije; djelomična opstrukcija dišnih putova nije bila karakteristika bolesti. Svi su bolesnici imali znatno sniženje koeficijenta prenosa ugljičnog monoksida, što je bilo primarno uzrokovano smanjenjem kapaciteta difuzije u membrani, dok je krvni volumen plućnih kapilara bio gotovo normalan. Iako su se plućne funkcije kasnije postepeno normalizirale, ipak su totalni kapacitet pluća, kapacitet inspiracije, vitalni kapacitet, volumen forsirane ekspiracije, koeficijent prenosa za ugljični monoksid i kapacitet difuzije membrane ostali znatno abnormalni i preko godine dana nakon početka bolesti. Od sedmorice bolesnika trojica su bila liječena adrenokortikosteroidima, a četvorica nisu. Nikakve značajne razlike nije bilo između liječenih i neliječenih što se tiče brzine objektivnog poboljšanja ili opsega rezidualnih oštećenja plućnih funkcija. Čini se, dakle, da steroidi ne ubrzavaju rezoluciju granulomatoznog infiltrata niti ga kompletiraju.

O istoj »maloj epidemiji« piše i sam Nicholson u posebnom članku prikazujući epidemiološke, mikološke i imunološke aspekte bagasoze. Epidemija je nastala nakon šta je u jednu malu tvornicu unešena bagasa kao jako pljesnjivi materijal iz kojega se izrađuju upotrebljivi komadi drvu sličnih ploha. Iz tog pljesnivog materijala kulturom su dobivene termofilne aktinomicete, koje je autor upotrijebio za ekstrakte s pomoću kojih je imunološki ispitivao serume eksponiranih radnika. Za razliku od nalaza kod farmerskih pluća autor ovdje nije našao specifični sistem antigen-antitijelo. Nakon proučavanja svih podataka Nicholson je zaključio da se bagasozu može prevenirati, da ima kratku inkubaciju od 5 do 6 sedmica, da ne ostavlja imunitet, ali da može dovesti do trajnih promjena.

Najnovije epidemiološke, ekološke i kliničke podatke o bagasozu iznosi Hearn sa Trinidada, dobivene kod 170 radnika eksponiranih bagasi. Rezultati tog proučavanja pokazali su da radnici koji su bili više eksponirani bagasi, nisu pokazivali značajno veću incidenciju respiratornih simptoma, ali su pokazali da je grupa indijskih (domorodačkih) radnika, koji su bili trajno i redovito eksponirani bagasi, imala značajno niži ventilacijski kapacitet ustanovljen unatoč neznatnim koncentracijama prašine u tvornici. Za vrijeme 5-godišnjeg perioda promatranja Hearn je ustanovio bagasozu kod 17 osoba; smatra da je klinička slika bagasoze u tih osoba slična kliničkoj slici bilo kojeg drugog ekstrinzičkog alergičkog alveolitisa. Isti autor u suradnji s Valerijom Holford-Stevens je izvršio imunološka ispitivanja kod 37 bolesnika s bagasozom, kod 92 radnika koji nisu imali bagasozu te kod 150 osoba koje nisu uopće bile eksponirane bagasi. Ta su ispitivanja pokazala da se precipitini protiv ekstrakta bagase

moгу pokazati jednako često i kod radnika koji nisu oboljeli od bagasoze, kao i kod onih koji su oboljeli, pa čak i kod onih koji nisu eksponirani. Ipak postojala je opća tendencija da razina precipitina u bolesnika s bagasozom neznatno opada, što se produžuje vrijeme oporavka nakon preboljene kliničke epizode. Prema tome prisustvo precipitina koji se nađu u serumima radnika s bagasom, čini se da nema kliničkog značenja. Inhalacijski testovi s ekstraktom bagase u grupi od 16 bolesnika s bagasozom izazvali su kasne sistemske reakcije kod 15; te su reakcije bile slične onima koje se opisuju kod farmerskih pluća i »pluća uzgajivača ptica«, pa ta činjenica ide u prilog hipotezi da je slični tip preosjetljivosti uzrokom bagasoze. I inhalacija ekstrakta *Thermoactinomyces vulgaris* također je izazivala tipične, kasne reakcije kod 12 od 15 osoba, dok se ekstraktima *Microsporypha faeni* nije moglo izazvati reakcije ni kod jedne od 16 osoba. Specifične reakcije na inhalacijske testove s *Thermoactinomyces vulgaris* bile su tipične za reakciju preosjetljivosti tipa precipitinom uvjetovanog, što opet potkrepljuje nazor da ta aktinomiceta može biti od važnosti u etiologiji bagasoze.

Hargreave, F. E., Pepys, J., Holford-Strevens, U.: Bagassosis, *Lancet*, 1 (1968) 619. – Pierce, A. K., Nicholson, D. P., Miller, J. M., Johnson, R. L.: Pulmonary Function in Bagasse Worker's Lung Disease, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 97 (1968) 561. – Nicholson, D. P.: Bagasse Worker's Lung, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 97 (1968) 546. – Hearn, C. E. D.: Bagassosis: An Epidemiological, Environmental, and Clinical Survey, *Brit. J. industr. Med.* 25 (1968) 267. – Hearn, C. E. D., Holford-Strevens, U.: Immunological Aspects of Bagassosis, *Brit. J. industr. Med.*, 25 (1968) 283.

DUNJA BERIĆ

Otrovanje paraquatom

Paraquat je kontaktni herbicid brzog djelovanja, dipiridilijski spoj topiv u vodi, uveden među pesticide već prije pet godina. Katkad se upotrebljava i kao redoksindikator (metilviologen). Dikloridna sol radikala 1,1'-dimetil-4,4'-dipiridilij upotrebljava se u Njemačkoj pod tvorničkim imenom Gramoxone. Primjenjuje se kao herbicid na zelenim dijelovima širokolisnatih i travastih biljka. U dodiru sa zemljom brzo se inaktivira. Iz pokusa na životinjama poznato je da se 90% supstancije izlučuje u prvih 24 sata nakon ingestije. Instilacije Paraquata u konjunktivu kunića dovode do blagih prolaznih upala, ali visoke kutane doze opetovano primijenjene djeluju letalno, iako tu treba naglasiti da je koža kunića bitno propustnija za ione, nego ljudska koža. Izlaganje životinja Paraquatu dovodi do posebnog oštećenja pluća: celularne proliferacije i progresivne upale. Intraalveolarni edem sa nakupljanjem makrofaga naročito se još vidi i perivaskularno i peribronhalno. Prve publikacije o otrovanjima kod ljudi potječu iz 1966. i 1967. godine. Makar se radilo o malim količinama ingerirane 20%-tne otopine Paraquata, kod gotovo svih slučajeva je zabilježen smrtni ishod. Nakon suhoće u ustima, disfagije, epigastričkih bolova, hemoptize, proljeva, žutice, intersticijalnog edema pluća otrovani su umirali jednu ili dvije sedmice nakon uzimanja otrova. Zabilježeni su i otoci jezika te usana, zatim kašalj, tahipneja, tahikardija, a u elektrokardiogramu znakovi toksičnog miokarditisa. Zanimljivo je da je i u jednom slučaju suicida intravenskom injekcijom 20%-tnog Paraquata takođe došlo do plućnih infiltracija, dispneje, tahikardija i respiratorne insuficijencije s intrapulmonalnim krvarenjima i bilateralnim atelektazama, uz znakove oštećenja jetre. Kod radnika koji upotrebljavaju Paraquat za prskanje opažena su katkada krvarenja iz nosa kao i znakovi iritacije kože i oči. Prema svemu tome Paraquat je poznat više po svojim gotovo u pravilu infastnim smrtnim subakutnim slikama otrovanja, nego po svojoj akutnoj toksičnosti. Tilling opisuje slučaj radnika, koji je izvršio samoubojstvo Paraquatom i to s do sada najvećom zabilježenom dozom u količini od jedne čaše 20%-tne otopine, zajedno sa pola litre crnoga vina. Petnaest minuta nakon uzimanja otrova povraćao je, ali samo jednom. Tri i pol sata nakon uzimanja otrova primljen je u bolnicu. Kod prijema ima crveno lice, hladnu kožu, proširene zjenice, tahipneju (32/min), tahikardiju (84/min), ali nikakvih drugih patoloških nalaza. Kasnije u toku dana dolazi do retencije mokraće, a u noći do grčevitih bolova u trbuhu. Sutradan počinje dispneja i jači kašalj. Sluznica usta i ždrijela sve više postaje crvena.

Idući dan sputum sangvinolentan, jači kašalj i dispneja, glositis, upalna reakcija na koži skrotuma. Rendgenološki bronhopneumonične mrlje u obim donjim režnjevima. U daljem toku svi se nalazi pogoršavaju, a četvrtog dana bolesnik postaje somnolentan, tjelesna temperatura se uzdiže na 38,8 bilirubin na 76, mg/100 mm; SGOT 68, SGPT 63, LDH 239 j. Istog dana bolesnik umire. Terapijski pokušaji sastojali su se od obilnog ispiranja želuca s davanjem ugljena, od forsirane diureze s kontrolom elektrolita i acido-bazičnog stanja, davanjem strofantina, visokih doza prednisolona, kloramfenikola, hemostiptika i analeptika. Histološki je nađen gnojni bronhitis i peribronhitis sa znatnom staničnom infiltracijom sluznica, edemom alveola, jakom kongestijom krvnih žila; pojedinačno su nađena i korpora amilacea. Na jetri je nađena slika akutne zastojne atrofije te sitno kapljčasta i velikokapljčasta steatoza parenhima. I u ovom je slučaju dakle, unatoč velike peroralne doze, plućna simptomatika bila u prvom planu.

Zanimljivo je da je Matthew na Kongresu evropskog udruženja Centara za borbu protiv otrovanja, prikazao slučaj otrovanja Paraquatom kod 15-godišnjeg dječaka, koji je nakon ingestije samo jednog gutljaja otrova zadobio tešku respiratornu insuficijenciju zbog razvoja proliferativnog alveolitisa i terminalnog bronhiolitisa. I u tom je slučaju bilo znakova oštećenja jetre, a i akutna renalna insuficijencija. Kod tog je dječaka pokušana terapija transplantacijom jednog pluća, ali su se i u transplantiranom pluću ubrzo pojavili znakovi oštećenja Paraquatom, pa je bolesnik umro dva tjedna nakon operacije. Autor pretpostavlja da bi hitno liječenje forsiranom diurezom, a nakon toga hemodijalizom ipak moglo imati stanovite vrijednosti.

Da bi procjenio opasnost koja prijeti radnicima za vrijeme primjene Paraquata i Diquata u poljoprivredi Gage je ispitivao učinke aerosola tih herbicida na eksperimentalnim životinjama s naročitim obzirom na utjecaj veličine čestica na toksičnost. U svrhu postizanja atmosfere »respirabilnih« čestica autor je konstruirao posebni raspršivač kojeg prikazuje na shematskim crtežima. Razina bez učinka »respirabilnog« aerosola Paraquata iznosila je kod štakora oko 0,1 μg na litru za opetovane 6-satne ekspozicije. Te vrijednosti za psa nisu istraživane, ali vjerojatno su pet puta veće nego vrijednosti za štakora, a upravo su te vrijednosti za psa važne s obzirom na ocjenu toksičnosti u čovjeka, jer su odnosi između respiratornih volumena, tjelesne težine i anatomije pluća sličniji kod čovjeka i psa. Prema tim zapažanjima moglo bi se pretpostaviti da prosječna koncentracija od 0,1 mg na m^3 ne bi bila opasna za profesionalnu ekspoziciju »respirabilnim« aerosolima Paraquata. Za »respirabilne« aerosole Diquata ta bi se koncentracija mogla povisiti na 0,5 mg na m^3 . Eksperimenti s akutnom toksičnošću jasno pokazuju da je učinak Paraquata nakon inhalacije kumulativan i da koncentracije više od 0,1 mg na m^3 smiju biti inhalirane kroz kratko vremensko razdoblje, ali su ponavljani eksperimenti pokazali da jednosatna dnevna ekspozicija koncentraciji od 0,65 μg na litru može biti toksičnija od 6-satne dnevne ekspozicije od 0,12 μg na litru. Prema svemu tome poželjno je da se kao gornja granica postavi 0,5 μg na m^3 za Paraquat, a 2,0 na m^3 za Diquat.

Tilling, W.: Paraquat-Intoxication, Dtsch med. Wschr., 93 (1968) 2439. – Mathew H.: Paraquat Poisoning Treated by Lung Transplantation, III Congreso de la Asociación Europea de Centros de Lucha contra las Intoxicaciones, Madrid, 27–30 Sep. 1968. – Gage, J. C.: Toxicity of Paraquat and Diquat Aerosols Generated by a Size-Selective Cyclone: Effect of Particle Size Distribution, Brit. J. industr. Med., 25 (1968) 304.

DUNJA BERIĆ

Toksička i kancerigena svojstva nitrozamina

Toksička i kancerigena svojstva dimetilnitrozamina otkrivena su već prije 15 odnosno 13 godina, ali je važnost tog otkrića uočena istom 1968. god. kad je uspješno dokazati da se ta grupa kancerigena spontano pojavljuje u konzervama koje sadrže jela konzervirana nitritima. U posljednje vrijeme objavljeno je već mnogo radova o toksičnosti i kancerigenim svojstvima nitrozo spojeva. Tako je pokazano da su nitrozo kancerigeni izvanredno aktivni kod velikog broja specijesa. Kod štakora mogu izazvati

tumore praktički svih organa, a što je najvažnije to se može postići čak i nakon jedne jedine doze. Neki su nitrozo spojevi teratogeni, a katkada izazivaju tumore kod mladih štakora ako se davaju gravidnim ženjkama. Neki od nitrozo kancerigena su i vrlo jaki mutageni. Prema svemu tomu eventualna pojava ovih biološki visoko aktivnih spojeva u hrani ili u drugim sistemima koji okružuju čovjeka, postaje problem od izvanredne važnosti. Do tada nepoznato stvaranje kancerigenih nitrozamina gotovo dramatski su pokazali u Norveškoj Koppang i sur. istražujući epidemiju teške bolesti jetre, koja se 1961. i 1962. pojavila kod preživača. Pokazalo se, naime, da je pojava te bolesti u vezi sa hranjenjem stoke jednom vrstom hrane izrađene od haringa konzerviranih natrijevim nitritom, pa se ubrzo dokazalo da se u toj konzerviranoj hrani stvorio nitrozamin. Kasnije se pokazalo da se slično oštećenje jetre može izazvati kod ovaca davanjem dimetilnitrozamina. Ovce su bile osjetljivije na akutne učinke dimetilnitrozamina, nego druge ispitivane životinje. Uzroci konzerviranih haringa sa ili bez poznatih toksičnih svojstava bili su analizirani na prisustvo dimetilnitrozamina i dietilnitrozamina. Šest uzoraka je nakon duže pohrane kod 2-4°C sadržavalo dimetilnitrozamina u koncentracijama od 30-100 ppm. Naprotiv kod šest uzoraka tog jela koji nisu bili toksični, dimetilnitrozamina se uopće nije mogla naći. Vjerojatno je vrlo značajno da se dimetilnitrozamin može stvarati u toj konzerviranoj hrani u tako velikim koncentracijama, jer je poznato da davanje 5 ppm pa i 2 ppm dimetilnitrozamina u hrani može kod štakora izazvati tumore jetre: od 68 štakora koji su kroz čitav život dobijali 5 ppm dimetilnitrozamina 5 (7%) je dobilo tumore jetre. Isto je tako vrlo vrlo vjerojatno da se i kod još nižih doza može izazvati, istina u nižoj incidenciji, tumore jetre. Ako je čovjek osjetljiv na kancerigenciju uzrokovanu nitrozaminima - a po svemu se čini da se to može pretpostaviti - očita je važnost svih gore spomenutih eksperimenata. Zanimljivo je da se nitrozamini mogu naći i u dimu cigareta, makar u izvanredno malim količinama. Spomenuta je kontaminacija brašna nitrozaminom. Međutim, sve su to izvanredno male količine, pa je njihovo biološko značenje nemoguće za sada točnije ocijeniti, jer se više eksperimentalnog rada mora izvršiti da se kod toga pronade odnos doza-reakcija. Pokazano je da se N-nitrozo spojevi mogu pojaviti i u ljudskom želucu nitrozacijom amina, a isto tako i u uskladištenoj hrani; nitrozamini se mogu stvarati in vitro iz sekundarnih amina i nitrata ako se pomiješaju sa želučanim sokom čovjeka. Međutim, kronično hranjenje štakora nitritima ne izazivlje tumore čak ni onda kad se istodobno daje dietilamin. Čini se zbog toga da se kancerigeni nitrozamini mogu stvarati interakcijom nitrata s aminima prisutnim u hrani, a opasne koncentracije nastaju u hrani s visokim sadržajem amina. Za sada, razumije se, opasnost po ljudsko zdravlje, koja bi mogla postojati zbog dodavanja nitrita u hranu, treba da se ocijeni u svijetlu velike vrijednosti nitrita kao konzervansa, naročito kao sredstva koje djeluje protiv klostridija. Dijabetogeni antibiotik streptozotocin, izoliran iz *Streptomyces achromogenes* je također nitrozamid koji izazivlje tumore bubrega kod štakora. Taj spoj je prvi poznati prirodni nitrozo kancerigen, ali postoji i niz sličnih prirodnih kancerigena koji se nađu u cikadama, a za koje se znade da imaju kancerigeno djelovanje. Kao i različite gljivice koje produciraju aflatoksin, tako su i streptomicete vrlo raširene u prirodi, pa se ne smije zanemariti mogućnost da bi i one mogle kontaminirati ljudsku hranu. Posebno je zanimljivo da je i ove godine pokazano da se biokemijski učinci vezani za kancerigeno djelovanje ubrzavaju kod štakora hranjenih dijetom siromašnom na proteinima, pa je moguće da malnutricija ima sinergističko djelovanje na nitrozaminsku kancerigenciju kod ljudi i životinja.

Čini se - po najnovijim radovima McGlashana i sur. - da i visoka incidencija karcinoma ezofagusa u nekim predjelima Afrike ima također veze s dimetilnitrozaminom. Taj je autor već ranije ukazao da je upravo u područjima u kojima je ta incidencija izrazito visoka, vrlo velika konzumacija alkoholnih destiliranih pića poznatih pod imenom Kachasu. U sadašnjem radu su autori pokazali da u tim pićima ima do 2 ppm dimetilnitrozamina ili sličnog nitrozamina. Upravo je to ona koncentracija kod koje se već očekuje kancerigeno djelovanje. Budući da dimetilnitrozamin ima najčešće kancerigeno djelovanje na jetru, čini se - po riječima autora - da će se kod karcinoma ezofagusa raditi ipak o nekom drugom nitrozaminu.

U isto vrijeme kad je objavljen ovaj rad iz Zambije u Vel. Britaniji, objavljen je o toksičnosti dimetilnitrozamina i drugi jedan rad u SAD u kojem se raspravlja

o toksičnosti dimetilnitrozamina samog i u kombinaciji s hidrazin sulfatom. Moćnost znatnog međusobnog djelovanja između dimetilnitrozamina i hidrazin sulfata ispitali su Greenblatt i sur. s obzirom na već objavljena zapažanja da nitrozamini supstituirani alkilnim skupinama daju međusobnu inhibiciju oksidacije kad se testiraju in vivo. Budući da pripremanje i upotreba hidrazin sulfata i dimetilnitrozamina pojedinačno ili obih zajedno u vojnoj ili civilnoj industriji može uključiti istodobnu ekspoziciju obim spojevima, poduzeta su toksikološka istraživanja primjenom tih spojeva pojedinačno ili zajedno. Proučavanje je upotpunjeno histološkom analizom nadenih promjena i usporedbom s primijenjenom dozom. Pokazalo se da su patološke promjene u jetri izazvane dimetilnitrozaminom ovisne o dozi: kod 2 mg na kg dolazilo je do amitotičkog dijeljenja parenhimnih stanica jetre i do opsežne binukleacije. Bilo je i lokaliziranih nekroza jetrenih stanica, ali bez naročito određenih lokalizacija, bez ikakva odnosa prema centralnim ili sublobularnim venama. S povišenjem doza bilo je i više patoloških promjena; tako je kod 15 mg na kg opažena destrukcija endotela centralnih i sublobularnih vena s ekstruzijom nekrotičkog jetrenog tkiva u lumene. Hidrazin sulfat se nije pokazao naročito hepatotoksičan za miševce. Oštećenja jetrenih stanica su se ograničila na oskudne individualne nekroze pojedinih stanica porazdijeljenih bez nekog određenog reda kroz parenhim jetre. Istom kod visokih doza od 150 do 200 mg na kg bilo je povećanja stanica i amitotičkih dijeljenja stanica uz masnu metamorfozu hepatocita (kod 200–350 mg). Kod kombiniranog davanja obih spojeva nije bilo ni sumacije ni smanjivanja gore opisanih djelovanja.

Leading Article: Nitrites, Nitrosamines, and Cancer, *Lancet*, 1 (1968) 1071. – *Mc Glashan, N. D., Walter, C. L., McLean, A. E. M.*: Nitrosamines in African Alcoholic Spirits and Oesophageal Cancer, *Lancet*, 2 (1968) 1017. – *Greenblatt, M., Raha, C., Roe, C.*: Dimethylnitrosamine and Hydrazine Sulfate. An Analysis of Combined Toxicity and Pathology in Mice, *Arch. Environ. Health*, 17 (1968) 315.

DUNJA BERITČ

Kobaltova bolest srca

Kako je poznato iz dnevne štampe od kolovoza 1965. god. zabilježeno je mnogo slučajeva često letalnog, klinički i patološki karakterističnog sindroma akutne ili subakutne kardiohepatičke insuficijencije u nekim gradovima Kanade (Quebec), i države Nebraska (Omaha) u SAD. U početku je geneza tog oboljenja bila potpuno nejasna, jer su bili pogođeni gotovo isključivo muškarci srednje dobi, koji su, međutim, imali ipak jednu zajedničku osobinu – da su godinama pili pivo u velikim količinama. Svi su bolesnici obolili prilično naglo, pa je čak 20 od 48 prvih slučajeva zagonetne bolesti umrlo već unutar prvih mjeseci. Kod primitka u bolnicu kod većine ovih bolesnika bila je opažena dispneja, tahipneja, ortopneja, često tahikardija, cijanoza, hepatomegalija i galopni ritam, rjeđe zastoje promjene na plućima, kašalj, zastoj u jugularnim venama, subkteričke sklere, bolovi u trbuhu, mučnina i gubitak apetita. Aktivnosti transaminaza i mliječne dehidrogenaze u serumu bile su gotovo redovito povišene. U elektrokardiogramu zabilježene su sinustahikardije, niske voltaže te nespecifične promjene u zubcima P, T i ST segmentu, ali vrlo rijetko aritmija. Hemodinamski opažene su normalne vrijednosti, ali i snižene vrijednosti minutnog i udarnog volumena, koje su se nakon opterećenja povisivale. Sjenka srca u rendgenskoj snimci obično je bila proširena. U ožujku 1966. god. čitava grupa forenzičara, epidemiologa, bromatologa, toksikologa, patologa, policajaca i detektiva te jedan biolog-stručnjak za produkciju piva bili su angažirani da otkriju uzrok zagonetne bolesti. Virusna etiologija bila je ubrzo odbačena, ali se duže ispitivala mogućnost otrovanja arsenom, nekim pesticidom, aflatoksinima, alkaloidima sekalea, papainom, brominom i čitavim nizom metala i medikamenata. Zanimljivo je, a i dokaz visoke stručnosti da je na pravi put čitavu tu istragu doveo patološki anatom. Kod nekolicine umrlih opazilo se, naime, da štitnjače pokazuju promjene u smislu novog sindroma epitelijskih hiperplazija, koje su poznate kao posljedica kroničnog otrovanja kobaltom. Ubrzo se zatim ustanovilo da neke vrste piva u Quebecu i Montrealu sadrže kobaltove soli, koje se dodaju od ljeta 1965. za stabilizaciju pjene. Ubrzo je bilo objašnjeno zašto u Mon-

trcalu ipak nema oboljevanja; u Montrealu se kobalt dodavao samo u pivo koje je točeno na čaše, dok je u Quebecu kobalt dodavan i u boce i to u gotovo dvostruko većim koncentracijama, nego što se dodaje pivu na čaše. Čim se, nakon provedenih dokaza, prestalo dodavati kobalt u pivo, oboljevanja su naglo iščezla. Ipak, ostalo je i nakon toga nekoliko otvorenih pitanja: zašto oboljevaju samo neke osobe, a gotovo nitko od radnika iz pivovare u Quebecu, makar su ti radnici konzumirali čak izvanredno velike količine piva? Zašto neki medikamenti koji sadrže mnogo kobalta nisu izazvali nikakvih takvih posljedica? Jedna jedina tableta Roncovite sadrži npr. 15 mg kobaltovog klorida, dok je ta ista količina od 15 mg kobaltovog sulfata porazdijeljena na oko 22 litre piva u Quebecu. Senzibilizira li pivo ili alkohol srce na taj način, da i male, inače neškodljive količine kobalta izazivlju teška oštećenja?

Da bi se objasnila i potvrdila uloga toksičkog djelovanja samog kobalta, bez dodatnog ili sinergističkog djelovanja alkohola, Hall i Smith su davali grupi od devet kunića kroz devet do trinaest dana količinu od 15 do 25 mg kobaltova klorida na kg tjelesne težine u obliku 2,5% otopine, primijenjene supkutano. Kod toga su se razvile promjene na miokardu slične onima koje su se našle kod umrlih od kobaltove bolesti srca u Quebecu, Omahi i Löpenu, i to otprilike ista odlaganja lipoida, iste degenerativne promjene u mišićnim fibrilima te ista zadebljanja i propadanja mitohondrija. Vrijednost ovih nalaza donekle je ograničena činjenicom što su količine koje su dobivali kunići znatno veće od onih količina koje su uzimali ljudi oboljeli od kobaltove bolesti srca, čak i do stotinu puta veće, makar, s druge strane, treba napomenuti da su oboljeli ljudi uzimali kroz znatno duže vrijeme, sigurno i mjesecima ako ne i godinama kobaltom kontaminirano pivo.

Dok su se kliničke i mikroskopske promjene »miokardoze uzrokovane pivom« prilično detaljno ispitivale kod obdukcija, do sada su samo u dva rada iznesene ultrastrukturne promjene proučavane elektronskim mikroskopom, i to samo kod jednog slučaja. Auger i Chenard su prvi opisali te ultrastrukturne promjene 1967. godine, a u najnovijem radu je to učinio Wellmann. Taj je autor opisao promjene nastale kod 27-godišnjeg crnca, koji je umro od ove bolesti nakon što je imao klasične simptome: intraktabilnu kardiohepatičku insuficijenciju subakutnog početka i toka s dispnejom, tahipnciom, galopom i svim prije opisanim popratnim pojavama. Wellmann je našao elektronskim mikroskopom da je postojala opsežna miofibrilarna vakuolizacija hipertrofičnog srčanog mišića, a isto tako i teška centrolobularna hepatička kongestija. Vrlo teške promjene ustanovio je u mitohondrijima, pa su i sitne vakuole opažene u stanicama srčanog mišića bile zapravo uništeni, napuhnuti mitohondriji. Poblži sastav većih vakuola nije određen, ali mnoge od njih sadržavale su supstanciju koja citokemijski daje reakciju na lipide. Prema ovim nalazima autor zaključuje da miokardoza uzrokovana pivom zapravo nije ništa drugo nego zadnji stadij ili posebna varijanta alkoholne miokardiopatije. Čini se da nema sumnje da upravo kobaltove soli dodane pivu predstavljaju glavni etiološki faktor.

Sullivan, Parker i Carson su se htjeli posve uvjeriti u ulogu kobalta, pa su ispitivali koncentraciju kobalta u tkivu kod miokardiopatije uzrokovane pivom. Ti su autori našli povećani sadržaj kobalta u miokardu kod 26 umrlih od te bolesti, i to u prosječnoj koncentraciji od 0,48 μm na gram, što je oko deset puta veća koncentracija od one koje su našli kod kontrolnih tkiva i kod umrlih sa normalnim nalazom srca. Na tablici su ti autori pokazali, međutim, i smanjene koncentracije magnezija, cinka i mangana kod tih slučajeva, što je teško protumačiti naročito s obzirom na činjenicu da se neki od tih metala lako izgube u otopini formalina.

Od interesa je konačno napomenuti da su Crice i Heggteit pokazali na 57-godišnjem sastanku Međunarodne akademije za patologiju u Chicagu u ožujku 1968. godine da kobalt u srcu poremećuje energetske metabolizam stvarajući kompleksne soli sa alfa-lipoičnom kiselinom sprečavajući time oksidaciju alfa-ketoglutarata i piruvata, što dovodi do masne degeneracije i nekroze vlakana miokarda, dakle do procesa za koji se kaže da je sličan fulminantnom beri-beriju. U jednom proučavanju 24 belgijskih slučajeva miokardoze uzrokovane pivom, Kesteloot i sur. su našli značajne razlike u težini toka bolesti u usporedbi sa slučajevima iz Sjeverne Amerike. Kod belgijskih bolesnika zabilježeni su, naime, perikardijalni izljevi i česta policitemija. Makar je bolest u Belgiji trajala mjesecima, samo je jedan bolesnik umro. Roy

i sur. su opisali promjene u štitnjači kod 14 bolesnika umrlih za vrijeme epidemije u Quebecu. Samo kod tri slučaja nije bilo vidljivih promjena, dok je kod 11 preostalih nađena folikularna distorzija, zatim stanične promjene i deplecija koloida određivanog tehnikom skanovanja upotrebljavajući rezove bojadisane PAS-om. Deficit koloida iznosio je otprilike polovicu od normale. Sve te promjene autori pripisuju kobaltu.

Wellmann, K. F.: »Bière au cobalt« Bemerkungen zur »Quebecer Biertrinkermyokardose«, Dtsch. med. Wschr., 93 (1968) 500. – *Hall, J. L., Smith, E. B.*: Cobalt Heart Disease: An Electron Microscopic and Histochemical Study in the Rabbit, Arch. Path., 86 (1968) 403. – Quebec Beerdrinkers' Cardiomyopathy: Ultrastructural Changes in One Case, Canad. M. A. J., 97 (1967) 916. – *Wellmann, K. F.*: Beer Drinker's Myocardosis. Report of a Case with Electron Microscopic Observations, Amer. J. Clin. Path., 50 (1968) 444. – *Sullivan, J., Parker, M., Carson, S. B.*: Tissue Cobalt Content in »Beer Drinkers' Myocardiopathy«, J. Lab. Clin. Med., 71 (1968) 893. – *Crice, N., Heggveit, N.*: Cardiotoxicity of Cobalt, Exhibit, 57th Annual Meeting, International Academy of Pathology, Chicago, ožujak 1968. – *Kesteloot, P.*: An Enquiry into the Role of Cobalt in the Heart Disease of Chronic Beer Drinkers, Circulation, 37 (1968) 854. – *Roy, P. E., Bonenfant, J. L., Turcot, L.*: Thyroid Changes in Cases of Quebec Beer Drinkers' Myocardosis, Amer. J. Clin. Path., 50 (1968) 234.

DUNJA BERIĆIĆ