

## UTJECAJ HELATOGENIH SUPSTANCIJA NA RETENCIJU URANA U BUBREZIMA

KRISTA KOSTIAL, KATA VOLODER, V. B. VOUK,  
O. WEBER

*Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb*

*(Primljeno 25. XI 1962)*

Svrha je ovih pokusa bila da se dobije više podataka o depoziciji urana u bubrezima i o djelovanju kompleksona na tu depoziciju. Utvrđeno je da se primjenom kompleksona DTPA značajno smanjuje količina urana u bubrezima.

### UVOD

Poznato je da je uran element koji selektivno kumulira u bubrezima. Gotovo neposredno nakon aplikacije urana pada koncentracija tog elementa u krvi i raste koncentracija u bubrezima. Najviše koncentracije su primijećene  $3/4$ –3 sata nakon injiciranja urana (1). Princip terapije kod otrovanja stabilnim i radioaktivnim metalima sastoji se u tome da se primjenom kompleksona pokuša pospješiti eliminacija iz organizma. U slučaju terapije otrovanja uranom do sada ima u literaturi podataka o djelovanju bikarbonata i citrata (2) kojih djelovanje nije vrlo uspješno, jer se u organizmu metaboliziraju (3). I polifosfati su se pokazali uspješni u terapiji otrovanja uranom, ali ih je gotovo nemoguće primjenjivati zbog male terapijske širine.

Postojali su i pokušaji primjene terapije s EDTA, pa su neki istraživači ustanovili da se toksičnost urana nakon primjene EDTA (etilen-diamin tetraoctena kiselina) smanjuje tri puta (4, 5). Catsch (6) je primjenom EDTA doduše također uspio smanjiti toksičnost urana, ali samo dva puta, dok je primjenom DTPA (dietilentriamin pentaoctena kiselina) postigao znatno bolje rezultate.

Svrha je ovih pokusa bila da se dobije više podataka o deponiranju urana u bubrezima i o djelovanju nekih kompleksona na tu depoziciju. U pokusu smo primijenili pored DTPA i novosintetizirani spoj HDPP. Taj spoj ima visoku konstantu stabilnosti kompleksa s uranilnim ionom, pa smo pokušali ustanoviti mogućnost njegove primjene u terapijske svrhe (7).

## METODE

Eksperimenti su se vršili sa ženjkama bijelih štakora od 8 mjeseci.

Uran se primjenjivao kao otopina uranil nitrata ( $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). Apliciran je životinjama u dozi od 16 mg/kg (7,6 mg urana na kg tjelesne težine) u volumenu od 0,25 ml na 100 g tjelesne težine štakora.

Dietilentriamin pentaocenoj kiselini (DTPA) dodana je prije aplikacije ekvimolarna količina  $\text{CaCl}_2$ . Životinje su primale dozu od 1 mM/kg u volumenu od 0,25 ml na 100 g tjelesne težine.

Hidroksidifenileter fosfat (HDPP) je životinjama davan u dozi od 1 mM/kg u istom volumenu kao ostale supstancije. U preliminarnom pokusu ustanovljeno je da životinje podnose i znatno više doze te supstancije. Sve su supstancije primijenjene u obliku jednokratne intraperitonealne injekcije, a pH svih otopina kretao se između 5-7.

*Priređivanje biološkog materijala*

Štakori su ubijani u eter-narkozi. Nakon toga su im izvađena oba bubrega i odstranjena je čahura i masno tkivo. Bubrezi su prerezani i osušeni filtrir-papirom. Zatim je određena težina obaju bubrega na torzionoj vagi i bubrezi su usitnjeni sjeckanjem na manje komade. Bubrežno tkivo obaju bubrega istog štakora preneseno je u Kjeldalovu tikvicu i uz dodatak toliko obroka od po 5 ml dušične kiseline mineralizirano, da je konačna otopina bila potpuno bistra i bez tragova masti.

*Fluorometrijsko određivanje urana u biološkom materijalu*

Dušično kisela otopina nakon spaljivanja biološkog materijala otparena je do suha na platinskom tanjuriću pa je priređena talina u natrijum-fluoridu. Tako pripremljena talina stavljena je u fluorometar i očitana je intenzitet fluorescencije. Iz baždarne krivulje očitana je količina urana i preračunata na količinu biološkog materijala.

## REZULTATI

Rezultati su prikazani na tablici 1, i to zasebno za svaku grupu životinja.

Životinje su bile podijeljene u četiri grupe, svaka po šest štakora. Sve su životinje primile po dvije intraperitonealne injekcije u razmaku od 5 minuta. Kontrolna grupa štakora (A) primila je dvije intraperitonealne injekcije fiziološke otopine. Kontrolna grupa (B) primila je na-

kon aplikacije uranil-nitrata injekciju fiziološke otopine. Životinje iz grupe (C) i (D) primile su nakon uranil-nitrata kompleksone DTPA odnosno HDPP. Sve su životinje ubijene tri sata nakon injekcije uranil-nitrata.

Koncentracija urana u bubrežima štakora kontrolne grupe (A) bila je ispod mogućnosti mjerenja. Na tablici su dane pojedinačne vrijednosti, srednje vrijednosti koncentracije urana za svaku grupu životinja i standardne devijacije srednje vrijednosti.

Tablica 1  
*Retencija urana u bubrežima štakora nakon primjene kompleksona*

Grupa štakora	Broj životinja	Ukupna količina urana u bubrežima - $\mu\text{g}$	Težina bubrega g	Koncentracija urana u bubrežima $\mu\text{g/g}$	Težina štakora g
(B) Kontrolna	6	455,0 $\pm$ 116	1436	316	206
(C) DTPA	6	191,5 $\pm$ 30	1542	124	205
(D) HDPP	6	850,0 $\pm$ 131	1481	573	206

Brojke označavaju srednje vrijednosti odnosno standardnu devijaciju srednje vrijednosti.

Vidimo da je koncentracija urana kod životinja tretiranih sa DTPA neposredno nakon intraperitonealne injekcije uranil-nitrata znatno niža nego kod kontrolnih netretiranih životinja. Ta je razlika statistički značajna ( $t = 2,2$ ;  $P = 0,05$ ).

Kod životinja tretiranih sa HDPP koncentracija urana u bubrežima bila je signifikantno viša nego u kontrolnoj grupi ( $t = 2,84$ ;  $0,02 > P < 0,01$ ).

Iz podataka o težini štakora, koji su prikazani u posljednjoj rubrici na tablici 1, i podataka o koncentraciji urana u bubrežima štakora pojedinih grupa možemo izračunati primljene doze kao i postotak retencije injicirane doze u bubrežima. U grupi životinja koje nisu bile tretirane kompleksonima (B) iznosio je postotak retencije oko 28%. U grupi životinja tretiranih sa DTPA postotak retencije iznosio je svega 12,3%, dok je u grupi životinja tretiranih sa HDPP retencija urana u bubrežima bila vrlo visoka i iznosila je oko 55% injicirane doze.

Značajnost razlika testirali smo »t« testom.

#### DISKUSIJA

Naši rezultati pokazuju da 3 sata nakon intraperitonealne aplikacije uranil-nitrata nalazimo u bubrežima otprilike 28% injicirane doze urana.

Budući da znamo da koncentracija urana u krvi, neposredno nakon injiciranja vrlo brzo pada, i u isto vrijeme s tim raste koncentracija u bubrezima, možemo period od 3 sata smatrati periodom u kojem očekujemo najviši procent retencije u bubrezima (1). Nakon tog perioda uran se postepeno mobilizira iz bubrega i izlučuje u urin. Procent retencije u našim pokusima odgovara literaturnim podacima iz pokusa nekih drugih autora (1).

Kompleksone smo aplicirali neposredno nakon injiciranja urana, kako bismo postigli optimalne uvjete djelovanja kompleksona. Poznato je, naime, da je aplikacija kompleksona u roku od 30 minuta nakon injiciranja znatno uspješnija negoli kasnija primjena s obzirom na pospješnje izlučivanja urana iz organizma. Niska koncentracija urana u bubrezima životinja tretiranih sa DTPA pokazuje da je znatno smanjena retencija urana u bubrezima pod djelovanjem DTPA, i to bilo time što DTPA pospješuje eliminaciju urana iz organizma, ili time što mijenja distribuciju urana u organizmu. Dosadašnji rezultati govore u prilog prve hipoteze (6).

Visoka koncentracija urana u bubrezima životinja tretiranih sa HDPP može se vjerojatno tumačiti time što se kompleks HDPP s uranovim ionom teško topi u vodi i vjerojatno nije difuzibilan niti se može brzo izlučivati iz organizma. Ako je ta pretpostavka tačna, onda se HDPP ne bi mogao upotrebljavati u terapijske svrhe, jer ne zadovoljava jedan od uvjeta potrebnih da se jedan kompleks može uspješno primjenjivati u terapijske svrhe (8).

#### ZAKLJUČAK

Ustanovljeno je da 3 sata nakon intraperitonealne aplikacije uranil-nitrata štakorima (7,6 mg U/kg) koncentracija urana u bubrezima iznosi otprilike 28% injicirane doze. Primjenom kompleksona DTPA (dietilen triamin pentaoctene kiseline) značajno se smanjuje koncentracija urana u bubrezima tretiranih životinja (12%). Primjenom HDPP (hidroksidifenileter fosfat) koncentracija se povećava (55%).

\*

Zahvaljujemo inž. F. Krašovcu koji nam je omogućio testiranje svog nosintetiziranog kompleksona HDPP, kao i inž. M. Piršu koji je izvršio fluorometrijsko određivanje urana u bubrezima, te Upravi Instituta »Jožef Štefan« u Ljubljani koja je omogućila tu suradnju.

#### Literatura

1. Neuman, U. F.: Pharmacology and Toxicology of Uranium Compounds, Vol. 2, p. 701, New York 1949.

2. *Neuman, W. F. et al.*: Pharmacology and Toxicology of Uranium Compounds, Vol. 1, p. 976, New York 1949.
3. *Hodge, H. C., Maynard E., Downs, E. A. i W. L.*: J. Pharmacol. exp. Ther. 101 (1951) 17.
4. *Dagirmanjian, R. i Maynard, E. A.*: J. Pharmacol. exp. Ther. 113 (1955) 13.
5. *Dagirmanjian, R., Maynard, E. A. i Hodge, H. C.*: J. Pharmacol. exp. Ther. 117 (1956) 20.
6. *Catsch, A.*: Klinische Wochenschrift, 37, (1959) 657.
7. *Krašovec, F.*: Institut »Jože Stefan« Ljubljana, usmena informacija.
8. *White Rosenthal, M.*: Radioisotopes in the biosphere, p. 541, Center for Continuation Study, Minneapolis 1960.

#### Summary

#### THE INFLUENCE OF CHELATING AGENTS ON URANIUM RETENTION IN THE KIDNEY

In rats treated with uranyl nitrate (7,6 mg per kilogramme of body weight) 28 per cent of the applied dose was found in the kidney three hours after the intraperitoneal injection. In animals receiving diethylenetriamine penta-acetic acid (DTPA) by intraperitoneal injection (1 mM per kilogramme of body weight) immediately after the treatment with uranyl nitrate a significant reduction of the uranium content of the kidneys was observed. Only 12 per cent of the injected dose was found in the kidneys. The application of hydroxydiphenylether phosphate (HDPP), however, caused the opposite effect, resulting in a 55 per cent retention of uranium by the kidney. The possible mechanism of this action is discussed.

*Institute for Medical Research,  
incorporating the Institute of  
Industrial Hygiene, Zagreb*

*Received for publication  
November 25, 1962*