

KRISTA KOSTIAL, V. B. VOUK i LJERKA PUREC

UTJECAJ OLOVNIH IONA NA LUČENJE
ACETILHOLINA*

Iako o djelovanju olova na organizam postoje brojni podaci u literaturi (1), pitanje djelovanja olova na sinaptičku transmisiju nije još razjašnjeno.

U ovom saopćenju iznosimo rezultate nekih eksperimenata, koji pokazuju, da slobodni ioni olova smanjuju lučenje acetilholina i utječu na sinaptičku transmisiju.

Služili smo se metodom perfuzije gornjeg vratnog simpatičkog ganglija mačke (2). Perfuzija ganglija vrši se ezeriniziranom (1 : 100 000) Ringer-Lockeovom otopinom. Uz određene uvjete stimulacije preganglionarnog nervnog vlakna (frekvencija 2 sec^{-1} , trajanje jednog impulsa 1 msec, supramaksimalna napetost) u trajanju od 5 minuta s prekidom od najmanje 5 minuta prije iduće stimulacije, uzorci perfuzata skupljeni za vrijeme stimulacije sadržavaju podjednake količine acetilholina (3).

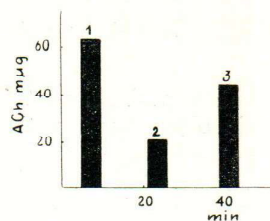
Kad smo perfuzionoj tekućini dodavali olovo u obliku nitrata (0,5 do 8,0 mikrograma/ml Pb^{++}), znatno se smanjila količina izlučenog acetilholina. Što je koncentracija olovnih iona bila veća, lučenje acetilholina bilo je slabije. Sl. 1 prikazuje rezultat eksperimenta, u kojem je perfuzionoj tekućini bilo dodano olovo u koncentraciji od 1,0 mikrogram/ml. Količina izlučenog acetilholina pala je nakon dodatka olova na 35% početne vrijednosti (Sl. 1, stupac 2.) Čini se, da je djelovanje olovnih iona samo djelomično reverzibilno, jer je i nakon uklanjanja olova iz perfuzione tekućine lučenje acetilholina još uvijek ostalo nešto smanjeno.

Za vrijeme perfuzije ganglija registrirali smo i kontrakcije membrane niktitans. Sl. 2 prikazuje stepen blokade sinaptičke transmisije uz različite koncentracije olova u perfuzionoj tekućini. U tom smo eksperimentu postigli potpunu blokadu transmisije pri koncentraciji olova od 2 mikrograma/ml.

* Saopćenje na XI. internacionalnom kongresu za medicinu rada, Napulj, rujan 1954.

Povećavši frekvenciju stimulacije (4 sec^{-1} i 10 sec^{-1}) uspjeli smo ponovo uspostaviti sinaptičku transmisiju (Sl. 2, g i h).

U nekim smo pokusima registrirali kontrakcije membrane niktitans uz stimulaciju preganglionarnog i postganglionarnog nervnog vlakna. Kako se vidi iz sl. 3, prisutnost olovnih iona u perfuzionoj tekućini ne odražava se na kontrakcijama membrane niktitans, ako se stimulira postganglionarno nervno vlakno.



Sl. 1. Djelovanje olovnih iona na lučenje acetilholina. Svaki stupac prikazuje količinu acetilholina (u milimikrogramima) izlučenog u 5 minuta pri stimulaciji preganglionarnog vlakna sa 2 sec^{-1} , 12 V, 1 m. sec. 1. Perfuzija ganglija ezeriziranom Ringer-Lockeovom otopinom; 2. Ringer-Lockeova otopina + 1,0 mikrogram/ml Pb^{++} ; 3. Ringer-Lockeova otopina bez olova. Mačka narkotizirana eterom i kloralozom (0,1 g/kg). Acetilholin određen biološkom metodom mjerenja krvnog tlaka na cviscriranoj mački.

Fig. 1. Influence of lead ions on the release of acetylcholine. Each column represents the amount of acetylcholine (in micrograms) released during a 5 min period of stimulation of the preganglionic fibres 2 sec^{-1} , 12 V, 1 msec. 1. perfusion with eserinated Ringer-Locke's solution; 2. Ringer-Locke's + 1.0 micrograms/ml Pb^{++} ; 3. Ringer-Locke's without lead. Cat anaesthetised with ether and chloralose (0.1 g/kg). Acetylcholine assayed on blood pressure of eviscerated chloralosed cats.

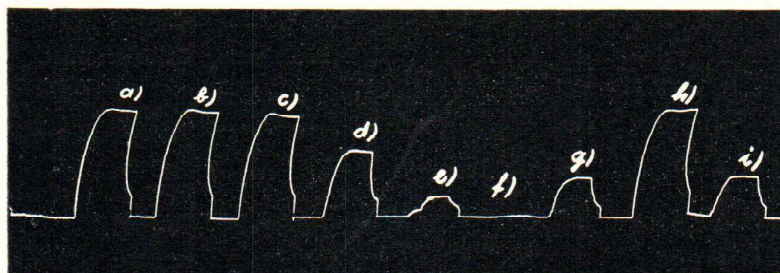
Iz tih se rezultata vidi, da slobodni ioni djeluju neposredno na lučenje acetilholina i na sinaptičku transmisiju. To, dakako, ne isključuje mogućnost, da ioni olova djeluju i na vodljivost nervnog vlakna, kao što su *Castillo* i *Hufschmidt* (4) opazili za neke druge teške metale.

Pretpostavljamo, da slobodni ioni olova slično djeluju i na holinergične završetke motornog vlakna u neuromuskularnoj vezi, premda sigurno postoje znatne strukturne razlike.

Opširniji prikaz djelovanja olovnih iona na sinaptičku transmisiju objavit ćemo na drugom mjestu.

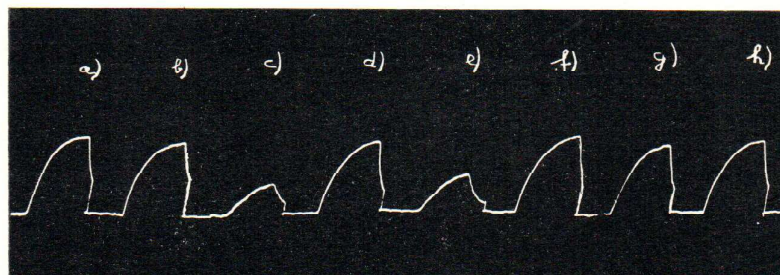
Toksikološki odjel
Instituta za medicinska istraživanja
Jugoslavenske akademije, Zagreb

Radnja primljena
24. XII. 1954.



Sl. 2. Kontraksije membrane niktitans. Stimulacija preganglionarnog nervnog vlakna (2 sec⁻¹, 12 V, 1 msec), u trajanju od 45 sec; a) perfuzija ganglija Ringer-Lockeovom otopinom; b) Ringer-Lockeova otopina + 0,13% NaNO₃; c) Ringer-Locke + 0,5 mikrograma/ml Pb⁺⁺; d) Ringer-Locke + 1,0 mikrogram/ml Pb⁺⁺; e) Ringer-Locke + 1,5 mikrogram/ml Pb⁺⁺; f) Ringer-Locke + 2,0 mikrogram/ml Pb⁺⁺; g) Ringer-Locke + 2,0 mikrogram/ml Pb⁺⁺, frekvencija 4 sec⁻¹; h) Ringer-Locke + 2,0 mikrogram/ml Pb⁺⁺, frekvencija 10 sec⁻¹. Mačka anestezirana eterom i kloralozom.

Fig. 2. Contractions of the nictitating membrane. Stimulation of the preganglionic fibres at 2 sec⁻¹, 12 V, 1 msec for 45 sec; a) perfusion with Ringer-Locke's solution; b) Ringer-Locke's + 0,13% Na NO₃; c) Ringer-Locke's + 0,5 micrograms/ml Pb⁺⁺; d) Ringer-Locke's + 1,0 micrograms/ml Pb⁺⁺; e) Ringer-Locke's + 1,5 micrograms/ml Pb⁺⁺; f) Ringer-Locke's + 2,0 micrograms/ml Pb⁺⁺; g) Ringer-Locke's + 2,0 micrograms/ml Pb⁺⁺, frequency of stimulation 4 sec⁻¹; h) Ringer-Locke's + 2,0 micrograms/ml Pb⁺⁺, frequency of stimulation 10 sec⁻¹. Cat anaesthetised with ether and chloralose (0,1g/kg).



Sl. 3. Kontraksije membrane niktitans. Stimulacija preganglionarnog (a, c, e i g) i postganglionarnog vlakna (b, d, f i h): 2 sec⁻¹, 12 V, 1 msec. u trajanju od 45 sec. Perfuzija Ringer-Lockeovom otopinom (a, b, g i h) i Ringer-Lockeovom otopinom + 6 mikrograma/ml Pb⁺⁺ (c, d, e i f). Mačka anestezirana eterom i kloralozom.

Fig. 3. Contractions of the nictitating membrane. Stimulation of preganglionic (a c, e, g) and postganglionic fibres (b, d, f, h) at 2 sec⁻¹, 12 V, 1 msec for 45 sec. Perfusion with Ringer-Locke's solution (a, b, g, h) and Ringer-Locke's + 6,0 micrograms/ml Pb⁺⁺ (c, d, e, f). Cat anaesthetised with ether and chloralose (0,1g/kg).

Literatura

1. Vidi na pr.: *Cantarow, A. i Trumper, M.*: Lead Poisoning, Baltimore 1944.
2. *Perry, W. L. M.*: J. Physiol, 119 (1953) 439
3. *Hutter, O. F. i Kostial, Krista*: J. Physiol. 124 (1954) 234.
4. *del Castillo-Nicolau, J. i Hufschmidt, H. J.*: Nature 167 (1951) 146.

*Summary*THE INFLUENCE OF LEAD IONS ON THE RELEASE
OF ACETYLCHOLINE

To test the effect of lead ions upon the output of acetylcholine perfused preparations of cat's superior cervical ganglion were used. The preganglionic nerve was stimulated with supramaximal shocks at a frequency of 2 per sec for 5 min. Addition of lead nitrate (1,0 microgram/ml) to the perfusion fluid (Ringer-Locke's solution containing 1 : 100 000 eserine sulphate) reduced the amount of acetylcholine in the perfusate to about 35% of its original value (Fig. 1). With higher concentrations of lead ions even less acetylcholine was released on preganglionic stimulation. The effects were only partly reversible.

When nictitating membrane contractions were recorded addition of lead ions to the perfusion fluid caused complete block of ganglionic transmission (in concentrations from 2,0 to 8,0 micrograms/ml) while stimulating the preganglionic nerve fibres (Fig. 2). The reaction of the nictitating membrane to stimulation of post-ganglionic fibres stayed unaltered (Fig. 3).

It may be supposed that lead ions have a similar influence on cholinergic nerve endings at the neuromuscular junction, in spite of differences between these two structures.

*Toxicology Department,
Institute of Industrial Hygiene, Zagreb*

*Received for publication
24. XII. 1954.*