

Kazimierz Pasternak

Katedra i Zakład Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej w Lublinie

POZIOM MAGNEZU, CYNKU I MIEDZI W SUROWICY KRWI I TKANKACH MYSZY INTOKSYKOWANYCH MORFINĄ I ETANOLEM

WSTĘP

Prawidłowe funkcjonowanie organizmu zależy od wielu czynników, wśród których ważną rolę odgrywają biopierwiastki. Są one aktywatorami lub kofaktorami czynności enzymów lub spełniają inne ważne funkcje regulacyjne i metaboliczne.

Magnez jest kationem wewnątrzkomórkowym. Jest on aktywatorem ponad 300 enzymów głównych szlaków metabolicznych zarówno cytozolowych jak i mitochondrialnych. Produkcja ATP w mitochondriach związana jest z obecnością magnezu (2). Bierze on również udział w regulacji przewodnictwa nerwowego i pobudliwości nerwowo-mięśniowej, a także podkreślana jest rola magnezu w funkcjonowaniu centralnego układu nerwowego (5, 13, 19).

Spośród innych kationów ważną rolę w regulacji komórkowej spełniają cynk i miedź.

Cynk pełni wiele funkcji w komórce. Jest aktywatorem około 80 enzymów. Między innymi wchodzi w skład dysmutazy ponadtlenkowej pełniąc funkcję zmiataacza wolnych rodników. Odgrywa też rolę w funkcjonowaniu kwasów nukleinowych oraz biosyntezie białek. Podkreślany jest również jego wpływ na funkcjonowanie układu odpornościowego (8, 18). Ważnym kationem jest również miedź. Umożliwia ona działanie wielu enzymów miedziozależnych oraz prawidłowy przebieg wielu procesów metabolicznych. Miedź umożliwia prawidłowe funkcjonowanie dysmutazy ponadtlenkowej biorąc przez to udział w eliminacji wolnych rodników, tak szkodliwych dla komórki (1, 4).

Mając na uwadze tak rozległe i różnorodne działanie magnezu, cynku i miedzi postanowiono doświadczalnie wykazać jak na ich stężenie w surowicy krwi i

niektórych bardzo aktywnych metabolicznie tkankach wpływa morfina, etanol i oba te środki podawane razem.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na białych myszach obojga płci, wagi 25-35 g. Zwierzęta podzielono na cztery grupy liczące po dziesięć myszy. Grupa pierwsza była grupą kontrolną i otrzymywała w iniekcji dootrzewnowej 0,9 % roztwór NaCl. Grupa druga otrzymywała dootrzewnowo morfina, trzecia dożołądkowo etanol, natomiast czwarta grupa otrzymywała morfina i etanol łącznie. Etanol podawano w dawce 2 g/kg w postaci 20% roztworu. Morfina była stosowana według schematu: pierwszy dzień 2x15 mg/kg; drugi dzień 2x30 mg/kg; trzeci dzień 2x45 mg/kg; czwarty dzień 2x60 mg/kg; i piąty dzień 2x50 mg/kg (10). Zwierzęta wszystkich grup przed doświadczeniem i w czasie jego trwania były żywione identycznie suchą karmą LSM. Doświadczenia prowadzono przez pięć kolejnych dni. Następnie po dekapitacji pobierano krew na skrzep w celu uzyskania surowicy oraz tkanki takie jak mózg, wątroba, nerki. Pobrany materiał ważono a następnie suszono w temperaturze 80°C przez 72 godziny. Po wysuszeniu badany materiał spalano w 450°C a uzyskany popiół rozpuszczano w spektralnie czystym HCl rozcieńczonym wodą podwójnie destylowaną w stosunku 1:1. Stężenie magnezu, cynku i miedzi w materiale oznaczano metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej (AAS) (9, 15). Stężenia badanych pierwiastków określano po kalibracji przy użyciu wzorcowych roztworów chlorków magnezu, cynku i miedzi. Otrzymane wyniki analizowano statystycznie przy użyciu testu t-Studenta oraz Cochran i Coxa porównując grupy badane z kontrolną. Za statystycznie istotne przyjęto zmiany gdy $p < 0,05$.

WYNIKI

Stężenie magnezu w surowicy krwi było najwyższe u zwierząt kontrolnych. W grupach badanych zarówno w przypadku stosowania morfiny, etanolu, jak i obu tych

TABELA 1
Stężenie magnezu w surowicy i wybranych tkankach intoksykowanych myszy

Grupa badana	Surowica $\bar{x} \pm SD$	Mózg $\bar{x} \pm SD$	Wątroba $\bar{x} \pm SD$	Nerka $\bar{x} \pm SD$
I Kontrola	6,65±0,84	9,51±2,31	16,0±2,42	12,44±1,26
II Morfina	4,98±1,12 **	8,28±1,78	16,4±2,61	10,93±0,82 **
III Etanol	3,98±0,89 **	7,60±1,94 *	19,14±3,11 *	11,26±0,91 *
IV Morfina + Etanol	4,16±1,43**	6,43±1,55 **	16,82±1,45 **	10,96±0,80 **

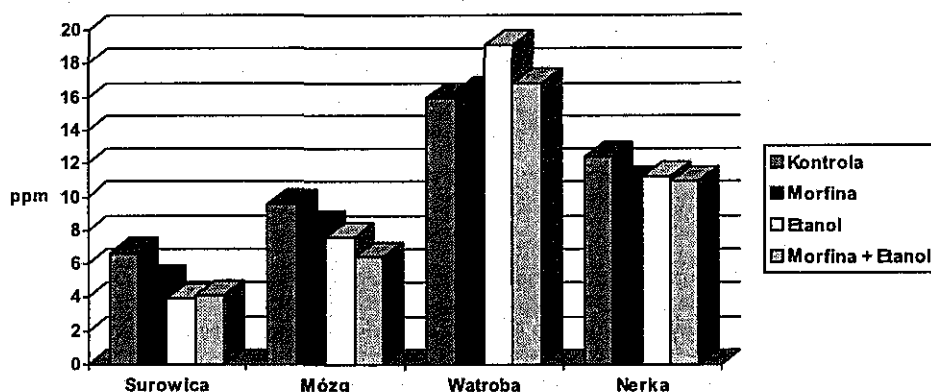
\bar{x} – średnia

SD – odchylenie standardowe

poziom istotności statystycznej * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$

środków łącznie stężenie magnezu w surowicy i tkankach zmieniało się znacznie. Zmiany te były istotne statystycznie i najsilniej wyrażone w grupie gdzie stosowano morfinę i etanol łącznie (tabela 1).

Najbardziej równomiernie pod wpływem badanych środków zmniejszało się stężenie magnezu w mózgu. Odmiennie wyniki otrzymano dla wątroby, gdzie pod wpływem badanych środków następował wzrost stężenia magnezu, który najsilniej zaznaczony był w grupie zwierząt otrzymujących etanol (ryc. 1).



Ryc. 1. Średnie stężenie magnezu w surowicy i tkankach intoksykowanych myszy.

Stężenie cynku w surowicy krwi było najniższe w grupie kontrolnej i wzrastało w grupach badanych (tabela 2).

TABELA 2
Stężenie cynku w surowicy i wybranych tkankach intoksykowanych myszy

Grupa badana	Surowica $\bar{x} \pm SD$	Mózg $\bar{x} \pm SD$	Wątroba $\bar{x} \pm SD$	Nerka $\bar{x} \pm SD$
I Kontrola	0,22±0,06	0,46±0,11	1,25±0,35	0,76±0,20
II Morfina	0,33±0,08 *	0,39±0,10	0,89±0,18	0,62±0,08 *
III Etanol	0,58±0,12 **	0,16±0,05 **	0,97±0,14 *	0,52±0,07 *
IV Morfina + Etanol	0,62±0,07 **	0,07±0,02 **	0,73±0,21 **	0,38±0,11 **

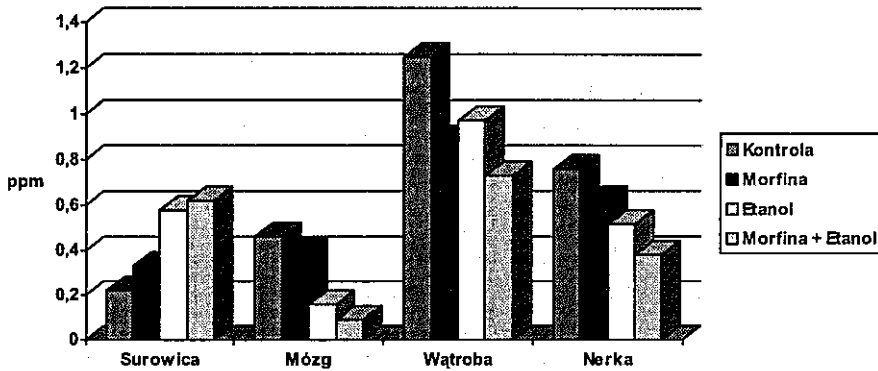
\bar{x} – średnia

SD – odchylenie standardowe

poziom istotności statystycznej * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$

W mózgu, wątrobie i nerce stężenie cynku było natomiast najwyższe u zwierząt grupy kontrolnej i zmniejszało się w grupach otrzymujących morfinę, etanol lub oba te środki łącznie. Różnice między grupami badanymi i kontrolną były statystycznie znamienne.

Zmiany stężenia cynku pod wpływem badanych środków ilustruje rycina 2.



Ryc. 2. Średnie stężenie cynku w surowicy i tkankach intoksykowanych myszy.

Stężenie miedzi w surowicy krwi było najniższe u zwierząt grupy kontrolnej i wzrastało pod wpływem stosowanych środków w grupach badanych (tabela 3).

TABELA 3

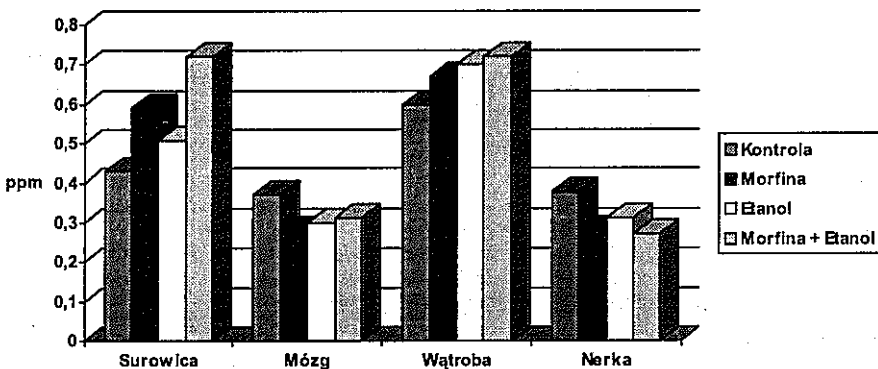
Stężenie miedzi w surowicy i wybranych tkankach intoksykowanych myszy

Grupa badana	Surowica $\bar{x} \pm SD$	Mózg $\bar{x} \pm SD$	Wątroba $\bar{x} \pm SD$	Nerka $\bar{x} \pm SD$
I Kontrola	0,43 \pm 0,10	0,37 \pm 0,10	0,60 \pm 0,15	0,38 \pm 0,12
II Morfina	0,59 \pm 0,11 *	0,28 \pm 0,08	0,67 \pm 0,12	0,28 \pm 0,07 *
III Etanol	0,51 \pm 0,11 **	0,30 \pm 0,07 *	0,70 \pm 0,10 *	0,31 \pm 0,08
IV Morfina + Etanol	0,72 \pm 0,14 **	0,31 \pm 0,05 *	0,72 \pm 0,14 *	0,27 \pm 0,08 *

\bar{x} – średnia

SD – odchylenie standardowe

poziom istotności statystycznej * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$



Ryc. 3 Średnie stężenie miedzi w surowicy i tkankach intoksykowanych myszy.

W mózgu i nerce następowało obniżenie stężenia miedzi we wszystkich grupach badanych. Odmienne wyniki uzyskano w przypadku wątroby, gdzie pod wpływem stosowanych środków obserwowano wzrost stężenia miedzi. Zmiany były istotne statystycznie przy $p < 0,05$ dla większości tkanek.

Graficznie zmiany w stężeniach badanych pierwiastków przedstawia rycina 3.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Morfina i etanol wywierają na organizmy żywe różnorakie działanie zależne między innymi od dawki (6,10, 20). Stosowane łącznie nasilają swoje działanie. Efekt ten daje się obserwować również w przypadku badanych pierwiastków.

Organizmy żywe posiadają dość duże możliwości adaptacji do niekorzystnych warunków. Odbywa się to między innymi na drodze przesunięć tkankowych ważnych dla funkcjonowania związków. Bez szkody dla organizmu jest to możliwe tylko w pewnych granicach. Wiadomo, że jednym z efektów działania etanolu jest zwiększenie wydalania magnezu przez nerki (5). W doświadczeniu na myszach zarówno morfina, etanol, jak i oba te środki stosowane łącznie powodowały obniżenie stężenia magnezu w surowicy krwi. Obniżenie stężenia magnezu w surowicy krwi będzie wiązało się ze zwiększeniem pobudliwości nerwowo-mięśniowej, niepokoju i drażliwości (14, 17). Podobnie jak w surowicy krwi morfina i etanol powodują obniżenie stężenia magnezu w mózgu i nerce. Wątroba natomiast we wszystkich badanych przypadkach wykazywała wzrost stężenia magnezu. Takie przesunięcia tkankowe magnezu związane były z nasileniem procesów detoksykacyjnych w wątrobie i związaną z tym koniecznością zapewnienia odpowiedniego stężenia magnezu (3, 11, 16). U narkomanów zażywających przewlekłe różne środki narkotyczne wykazano również zmiany w stężeniu magnezu, cynku i miedzi w surowicy krwi (12).

W przeprowadzonych doświadczeniach morfina, etanol i oba te środki stosowane łącznie powodowały wzrost stężenia cynku w surowicy krwi. W badanych tkankach następowało natomiast obniżenie stężenia tego pierwiastka. Takie zmiany stężenia cynku mogą tłumaczyć obniżenie odporności i zaburzenia w procesach eliminacji wolnych rodników (1, 4, 8, 18).

Stężenie miedzi pod wpływem badanych środków (morfiny i etanolu) wzrasta w surowicy krwi i wątrobie. W mózgu i nerce obniża się. Nie jest jasny mechanizm tych przesunięć. Można jedynie sugerować, że wiąże się to z współzależnością z innymi pierwiastkami (4, 7).

Trzeba podkreślić, że morfina i etanol zaburzają homeostazę zarówno magnezu jak również cynku i miedzi. Powoduje to w efekcie wtórne zaburzenia w metabolizmie i funkcjonowaniu komórek. Efekt zmian i przesunięć tkankowych badanych pierwiastków jest najsilniejszy w przypadku łącznego działania morfiny i etanolu. W tym przypadku zaburzenia metaboliczne będą również silniej wyrażone.

WNIOSKI

1. Morfina i etanol wpływają na zmianę tkankowych stężeń magnezu, cynku i miedzi.
2. Zmianom stężeń badanych pierwiastków w tkankach towarzyszą zmiany ich stężeń w surowicy krwi.
3. Morfina i etanol stosowane łącznie powodują największe zmiany w stężeniach magnezu, cynku i miedzi zarówno w surowicy krwi, jak i badanych tkankach intoksykowanych myszy.

Streszczenie

Badania dotyczyły wpływu 5-dniowej intoksykacji morfiną lub/i etanolem na stężenie magnezu, cynku i miedzi w surowicy krwi, mózgu, wątrobie i nerce myszy. Stężenie badanych pierwiastków określano metodą absorpcyjnej spektrofotometrii atomowej. Stwierdzono, że morfina lub/i etanol w sposób istotny wpływają na stężenie i rozmieszczenie magnezu, cynku i miedzi w surowicy krwi oraz badanych tkankach intoksykowanych myszy.

Kazimierz Pasternak

Magnesium, zinc and copper level in blood serum and tissues of morphine and ethanol intoxicated mice

Summary

The effect of 5-day morphine and/or ethanol intoxication on total magnesium, zinc and copper content in blood serum, and in brain, liver and kidney tissues in mice was studied. Concentrations of these elements were determined using atomic absorption spectrophotometry. In general, morphine and/or ethanol were found to have a significant effect on change of magnesium, zinc and copper concentrations, as well as on distribution of these elements in blood serum and in tested tissues of intoxicated mice.

Key words: morphine / ethanol / mice / magnesium / zinc / copper

PIŚMIENNICTWO

1. Amstad P., Moret R., Cerutti P.: *Glutathione peroxidase compensates for hypersensitivity of Cu, Zn – superoxide dismutase overproducer to oxidant stress*. J. Biol. Chem. 1994, 269, 1606-1609.
2. Bandrowicz-Pikuła J., Pikuła S.: *Wewnątrzkomórkowe białka wiążące ATP*. Postępy Bioch., 1997, 43 (2), 111-119.
3. Bogucka K.: *Homeostaza jonów magnezu w komórkach zwierzęcych*. Postępy Bioch., 1996, 42 (2), 178-185.

4. Bremner I., Beattie J.H.: *Copper and zinc metabolism in health and disease speciation and interactions*. Proc. Nutr. Soc., 1995, 54, 489-499.
5. Durlach J.: *Magnez w praktyce klinicznej*. PZWL, Warszawa, 1991.
6. Harris R.A., Loh H.H., Way L.: *Effect of divalent cations, cation chelators and ionophore on morphine analgesia and tolerance*. J. Pharm. Exp. Ther. 1975, 195, 488-498.
7. Kabata-Pendias A., Pendias H.: *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. PWN Warszawa, 1993.
8. Kwiatkowski J.M.: *Dysmutaza ponadtlenkowa – struktura, funkcja i filogeneza*. Postępy Bioch., 1988, 4, 311-333.
9. Marczenko Z.: *Spektrofotometryczne oznaczanie pierwiastków*. PWN, Warszawa 1974.
10. Männistö P.T., Borisenko S.A., Rauhala P., Tuomainen P., Tuominen, R.K.: *Variation in tolerance to the antinociceptive, hormonal and thermal effects of morphine after a 5-day pre-treatment of male rats with increasing doses of morphine*. Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 1994, 349, 161-169.
11. Mullins P.G.M., Vink R.: *Chronic alcohol exposure decreases brain intracellular free magnesium content in rats*. Neurochemistry. 1995, 6, 1633-1636.
12. Pasternak K., Floriańczyk B.: *Magnesium, copper and zinc concentration in blood serum of drug addicts*. Magnesium Bull., 1996, 18, 71-73.
13. Pasternak K., Floriańczyk B.: *Metale życia*. Wyd. Folium. Lublin, 1995
14. Pertoianu A., Barquete J., Plentz E.G., Bastis C., Maia D.Y.: *Acute effects of alcohol investigation on the human serum concentration of calcium and magnesium*. J. Int. Med. Res. 1991, 19, 410-413.
15. Pinta M.: *Absorbcyjna spektrometria atomowa*. PWN Warszawa 1974.
16. Reinhart R.A.: *Magnesium metabolism. A review with special reference to the relationship between intracellular content and serum levels*. Arch. Int. Med. 1988, 148, 2415-2420.
17. Rude R.K., Singer F.R.: *Magnesium deficiency and excess*. Ann. Rev. Med. 1981, 32, 245-259.
18. Struniolo G.C., Dinca R., Montino M.C., Sanzari M., Maran D., Valerio G., Ramagnoni F., Naccarato R.: *Zinc metabolism and immune function in healthy elderly people*. Clin. Nutr., 1994. 13, 280-285.
19. Szyszka A., Kaźmierczak E.: *Elektrofizjologiczne właściwości magnezu*. Kard. Pol., 1993, 2, 131-133.
20. Williamshemby L., Grant K.A., Gatto G.J., Porrino L.J.: *Metabolic mapping of the effects of chronic voluntary ethanol consumption in rats*. Pharmacol. Biochem. Behav. 1996, 54, 415-423.