
Sonja Čučulanović

Vitamin C i metilen plavo kao antidoti trovanja nitro-razređivačem

Nitro jedinjenja u organizmu oksiduju hemoglobin u methemoglobin. Vitamin C i metilen plavo mogu da redukuju Fe^{3+} u methemoglobinu i prevedu ga u Fe^{2+} oblik, u kom se nalazi u hemoglobinu. Metilen plavo se koristi kao antidot, ali u većim dozama i samo može da izazove methemoglobinemiju. Vitamin C se ne koristi kao antidot. U projektu je ispitivana mogućnost upotrebe vitamina C kao antidota u lečenju methemoglobinemije. Cilj projekta bio je da se utvrdi kako ove dve supstance u datim dozama utiču na koncentraciju methemoglobina u krvi. Korišćeni su beli miševi muškog pola istog uzrasta. Izlaganje otrovu trajalo je dve nedelje. Ispitivan je subhronični oblik trovanja. Iz krvi miševa, koja je uzeta iz srca, određene su koncentracije methemoglobina i hemoglobina. Na osnovu dobijenih rezultata zaključeno je da je data doza vitamina C snizila koncentraciju methemoglobina do gornje granice normalnih vrednosti, dok je doza metilen plavog povećala koncentraciju methemoglobina u odnosu na grupu miševa koja je bila izložena samo dejstvu nitro-razređivača.

Uvod

Nitro-razređivači svoju široku upotrebu nalaze u industriji i domaćinstvima. Oštrog su i neprijatnog mirisa. Zbog lake isparljivosti nitro-razređivača, najčešći put trovanja se ostvaruje preko respiratornog trakta. Nešto su ređa trovanja preko gastrointestinalnog trakta i putem kože. Nitro-razređivači su vrlo toksični. U nižim koncentracijama iritiraju kožu, oči i respiratorni trakt. U većim koncentracijama deluju na centralni nervni sistem, izazivaju konvulzije, nesvestice, komu, encefalopatiju, periferne neuropatije, mučninu, povraćanje, glavobolje, vrtoglavice, ataksije, srčanu aritmiju. Broj leukocita se povećava, a broj eritrocita i koncentracija hemoglobina se smanjuju (Milošević, Vitorović 1985).

Nitro-jedinjenja u organizmu oksiduju hemoglobin do methemoglobina i izazivaju methemoglobinemiju. Hemoglobin je sferoidni protein koji se sastoji iz globina, kao proteinskog dela, i četiri molekula hema u kojima

Sonja Čučulanović (1983), Smederevo, Miloša Velikog 29/46, učenica 3. razreda Gimnazije Smederevo

je gvožđe u oksidacionom stanju 2+. Hemoglobin, kao takav, sposoban je da preuzima i oslobađa kiseonik, odnosno prenosi kiseonik do tkiva. Kod methemoglobina gvožđe se nalazi u oksidacionom stanju 3+ u kojem ono veoma čvrsto vezuje za sebe kiseonik i time onemogućava njegov transport do tkiva (Majkić-Singh 1994). Methemoglobin je normalno u krvi prisutan u malim količinama, od 0.6 do 2.4 g/L ili oko 1.5% od ukupnog hemoglobina (Štraus 1988). Prisustvo methemoglobina u krvi objašnjeno je spontanom oksidacijom Fe^{2+} iz hemoglobina do Fe^{3+} , odnosno methemoglobina. To je reverzibilna reakcija, jer se methemoglobin uz pomoć NADH-methemoglobin-reduktaze u eritrocitima može ponovo prevesti u hemoglobin. Međutim, struktura hemoglobina može toliko da bude izmenjena da se Fe^{3+} stabilizuje i da povećane količine methemoglobina prevazilaze mogućnosti redukujućeg sistema eritrocita, tako da dolazi do methemoglobinemije (Martin, Mayes 1992). Methemoglobin se uz pomoć redukcionih sredstava može redukovati do hemoglobina. Redukciono sredstvo koje se koristi kao antidot je metilen plavo, ali u većim dozama i samo može da izazove methemoglobinemiju (Bogdanović 1975). Ono se daje sporo intravenski.

S obzirom da metilen plavo ne nadražuje sluzokožu usne duplje htelo se ispitati da li je moguća njegova oralna upotreba. Vitamin C ima redukciona svojstva, ali se on ne koristi kao antidot, već je njegova upotreba preporučena kao preventiva. S obzirom na visok redukciono potencijal vitamina C, ispitivana je mogućnost njegove upotrebe kao antidota pri lečenju methemoglobinemije. Cilj rada bio je da se utvrdi kako metilen plavo i vitamin C, u datim dozama i načinima primene, utiču na koncentraciju methemoglobina u krvi.

Materijal i metode

Eksperiment je izveden na 12 odraslih belih miševa muškog pola, iste težine (20 g), koji su bili podeljeni u tri grupe. U prvoj grupi su bila četiri miša, koja su izlagana samo parama nitro-razređivača. U drugoj grupi bilo je pet miševa, koji su nakon izlaganja otrovu dobijali metilen plavo. U trećoj grupi bila su tri miša, koji su nakon izlaganja otrovu dobijali vitamin C. Svaka grupa je svakodnevno u toku dve nedelje bila izlagana parama nitro-razređivača u koncentraciji od 100 mL/m^3 u trajanju od sat i po vremena. Tokom izlaganja parama nitro-razređivača kavez u kojem su držani miševi bio je prekrivan metalnim pločama. Ploče su sprečavale isparavanje razređivača u spoljašnju sredinu. Ishrana miševa bila je uobičajena.

Doze metilen plavog i vitamina C preračunate su na masu miševa. Za preračunavanje u obzir je uzeta masa čoveka i doze za čoveka koja je u slučaju metilen plavog 0.01 – 0.015 g/kg i.v., a vitamina C 1000 mg *per os*. Dobijene vrednosti su uvećane sedam puta jer je metabolizam miševa toliko puta brži od čovekovog (Stojić 1999). Pošto se najviša koncentracija methemoglobina u krvi postiže 1-3 sata nakon izlaganja otrovu (Majkić-

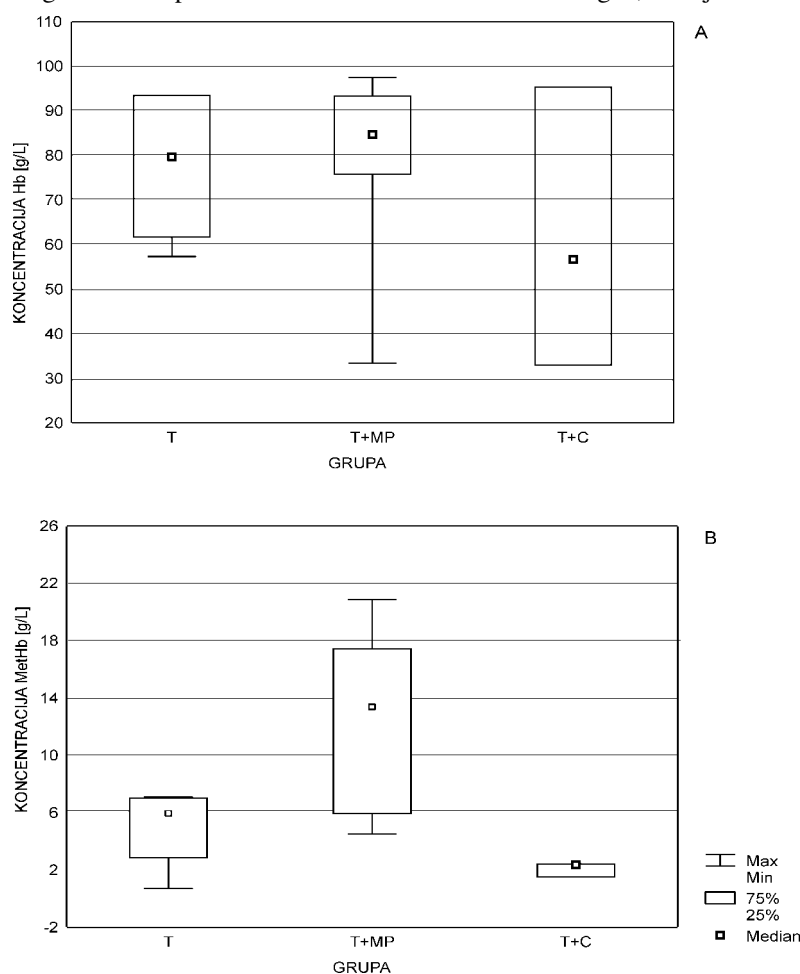
Singh 1994), metilen plavo i vitamin C su davani miševima u dozi 1 mg/kg *per os* po isteku tog vremenskog perioda.

Po isteku dve nedelje krv je miševima uzeta iz srca. Iz pune heparisane krvi određivana je koncentracija ukupnog hemoglobina cijanhematičkom metodom i koncentracija methemoglobina (Štraus 1988).

Rezultati i diskusija

Normalne vrednosti hemoglobina u krvi kod miševa iznose 100-120 g/L (Stojić 1999). Na graficima (slika 1) prikazane su dobijene koncentracije hemoglobina i methemoglobina kod miševa iz različitih grupa.

Dobijeni rezultati pokazali su da je svih 12 miševa nakon dvonedeljnog izlaganja parama nitro-razređivača imalo smanjene koncentracije hemoglobina u krvi u odnosu na normalne vrednosti. Vrednost koncentracije hemoglobina u krvi bila je najviša kod grupe koja je bila izlagana samo parama nitro-razređivača i iznosi 78 g/L, a najniža kod



Slika 1.
Koncentracije hemoglobina (A) i methemoglobina (B) po grupama miševa: T – miševi izlagani samo parama nitro-razređivača T+MP – miševi koji su nakon trovanja dobijali metilen plavo T+C – miševi koji su nakon trovanja dobijali vitamin C

Figure 1.
Concentrations of hemoglobin (A) and methemoglobin (B) in experimental groups of mice: T – mice affected only by nitro solvent T+MP – mice that were given methylen blue after poisoning T+C – mice that were given vitamin C after poisoning

grupe koja je nakon trovanja dobijala vitamin C i iznosi 62 g/L. Miševi iz grupe koja je primala metilen plavo imali su 77 g/L hemoglobina u krvi. Najnižu koncentraciju methemoglobina u krvi imala je grupa miševa koja je nakon trovanja primala vitamin C i ona je iznosila 2 g/L MetHb. Najvišu koncentraciju methemoglobina imala je grupa koja je dobijala metilen plavo i ona je iznosila 12 g/L. U krvi miševa grupe izlagane samo nitro-razređivaču koncentracija methemoglobina je iznosila 5 g/L. Mann-Witney test pokazao je da statistički značajna razlika postoji između grupe koja je primala vitamin C i grupe koja je primala metilen plavo nakon trovanja ($p < 0.05$). Statistički značajne razlike nema između drugih grupa.

Methemoglobin nastaje oksidacijom hemoglobina, pa je odnos njihovih koncentracija obrnuto srazmeran. Očekivalo se da će koncentracije hemoglobina biti smanjene tamo gde su koncentracije methemoglobina povišene. Ipak, dobijeni rezultati pokazuju da se ta zavisnost koncentracija ne ostvaruje kod svih miševa. Objašnjenje ovoga može biti u različitom reagovanju miševa na stresne situacije kojima su bili izlagani i/ili neadekvatnom broju miševa po grupi.

Sniženje koncentracije methemoglobina do gornje granice dozvoljenih vrednosti u grupi koja je dobijala vitamin C pokazuje mogućnost njegove upotrebe kao antidota. Vrlo visoke koncentracije methemoglobina u krvi kod grupe koja je dobijala metilen plavo mogu biti posledica činjenice da ovo jedinjenje, kada se primeni u većim dozama, i samo može da dovede do methemoglobinemije. Moguće je da doza metilen plavog, koja je davana kao antidot, nije bila prilagođena miševima. Drugo objašnjenje može biti da metilen plavo ne može da se primeni *per os* u lečenju methemoglobinemije.

Zaključak

Ispitujući mogućnosti upotrebe metilen plavog i vitamina C kao antidota pri trovanju parama nitro-razređivača, utvrđeno je da vitamin C snižava koncentraciju methemoglobina u krvi miševa. Svakodnevnom upotrebom vitamina C nakon trovanja, koncentracija methemoglobina je vraćena na normalne vrednosti, što je u skladu sa polaznim pretpostavkama. Na osnovu dobijenih rezultata zaključeno je da je metilen plavo, davano miševima *per os* u datim dozama, povećalo koncentraciju methemoglobina u njihovoj krvi u odnosu na grupu koja je izlagana samo parama nitro-razređivača. Toksično dejstvo metilen plavog može biti posledica bilo neprilagođene doze, bilo neadekvatnog načina primene.

Literatura

Bogdanović S.B. 1975. *Farmakologija*. Beograd: Naučna knjiga

Majkić-Singh N.T. 1994. *Medicinska biohemija*. Beograd: Društvo biohemičara Jugoslavije

Martin D.W. Yr., Mayes P.A. 1992. *Harperov pregled biohemije*. Beograd: Savremena administracija

Milošević M.P., Vitorović S.Lj. 1985. *Osnovi toksikologije*. Beograd: Naučna knjiga

MR 1966. *Medicina rada*. Beograd-Zagreb: Medicinska knjiga

Stojčić V.R. 1999. *Veterinarska fiziologija*. Beograd: Naučna knjiga

Štraus B. 1988. *Medicinska biokemija*. Zagreb: Jugoslovenska medicinska naklada

Sonja Čučulanović

Vitamin C and Methylen Blue as Nitro-solvent Antidotes

Nitro compounds in body oxidize hemoglobin to methemoglobin. Vitamin C and methylen blue are reducing compounds used to reduce Fe^{3+} , from methemoglobin, to Fe^{2+} , found in hemoglobin. Although methylen blue is used as an antidote, if given in larger concentrations it can cause methemoglobinemia. The aim of this project is to find out how these two substances, given in specific doses, can change the level of methemoglobin in blood and to find out whether vitamin C can be used as an antidote in subchronical form of poisoning by nitro solvent.

Male white mice were used in the experiment. They were exposed to poison for an hour and a half per day, during two weeks. After that period methylen blue and vitamin C were given to mice. Used doses of these substances, calculated considering dosage for humans and average human weight, were 1mg/kg. Knowing that mice have a seven times faster metabolism than humans, calculated doses were multiplied by seven. After two weeks, blood was taken from their hearts and the concentrations of methemoglobin and hemoglobin were determined (Straus 1988). Normal concentration of methemoglobin in blood is 0.6-2.4 g/L. The lowest concentration of methemoglobin was 2 g/L found in mice that were given vitamin C. The highest one was determined in mice that were given methylen blue – 12 g/L. Mice that were affected only by nitro-solvent had 5 g/L of methemoglobin.

The results are shown in Figure 1. It can be seen that the given dose of vitamin C decreased the concentration of methemoglobin to the upper points of its normal level. According to this vitamin C can be used as a possible antidote in subchronical form of poisoning by nitro solvent. On the other hand, the dose of methylen blue increased the concentrations of methemoglobin in blood compared to the group of mice affected only by nitro-solvent. This can be explained either by the fact that methylen blue was given in much larger concentrations than needed or inadequate method of application.

