

DESERTOMYCIN HATÁSA A BÉKA VÁZIZOM NÉHÁNY ELEKTROMOS ÉS MECHANIKAI SAJÁTSÁGÁRA

KERESZTES TAMÁS, GESZTELYI ISTVÁN¹, BÉKÉSI ISTVÁN²
és KÖVÉR ANDRÁS

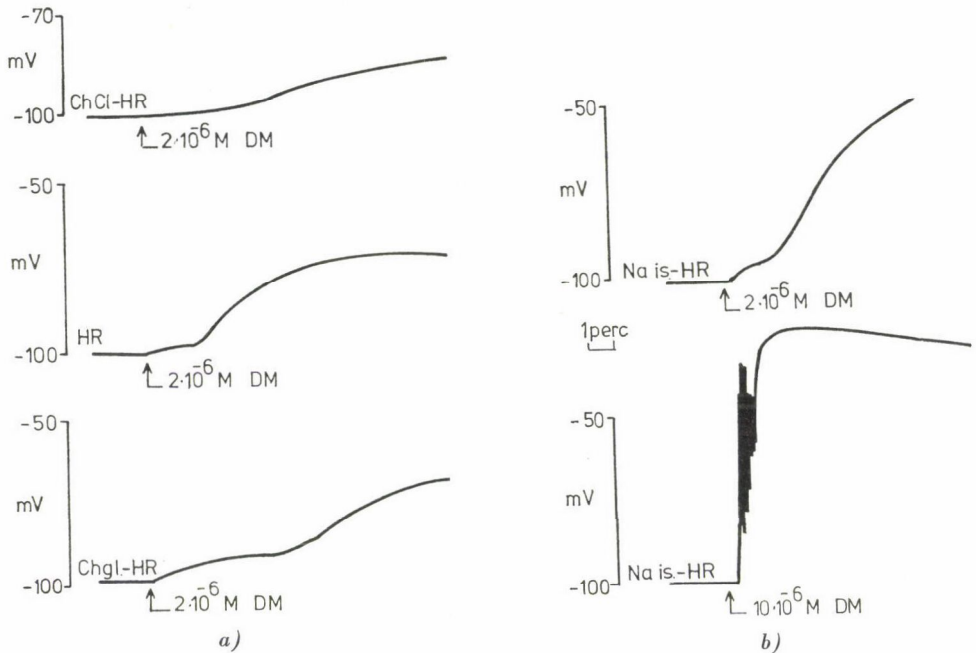
DOTE Központi Kutató Laboratórium, Debrecen, ¹Bessenyei György Tanárképző Főiskola,
Nyíregyháza, ²DOTE Biológiai Intézet, Debrecen

A desertomycint a sivatagi homokból izolált és új törzsként leírt *Streptomyces flavofungini* mint második antibiotikumot termeli a széles antifungális spektrumú flavofungin mellett (URI és mtsai 1958). A kristályos desertomycin bázisos karakterű amorf aglukont és szénhidrát komponensként mannózt tartalmaz. Molekulasúlya 1193, összegképlete: $C_{60}H_{109}N_2O_{21}$. A desertomycin egéren kifejezetten toxikus. Intravénás, intraperitoneális, subcutan alkalmazása esetén az antibiotikum LD 50-e 1,35, 2,6, 5,3 mg/kg. Antimikrobás hatásán kívül különböző tumorsejtekre citotoxikus hatást fejt ki.

Mint ahogy ezen antibiotikum gyengén bázisos csoportot is tartalmaz (SZTARICSKAI és URI 1963), bár nem guanidin típusú antibiotikum — a hidrolízis termékek között BOGNÁR és mtsai (1968) glutaminsavat mutattak ki —, felmerült annak lehetősége, hogy a desertomycin esetében a primycinhez hasonlóan (GESZTELYI és mtsai 1980, KÖVÉR és mtsai 1976, KÖVÉR és mtsai 1979) a toxikus hatásokért egy makrolid szerkezethez kapcsolódó, jellegében változó, terciér vagy quaterner N csoport a felelős. E lehetőség tisztázása érdekében vizsgáltuk meg a desertomycin vázizomra kifejtett hatását. A kísérleteket béka (*Rana esculenta*) m. sartoriusain (elektromos sajátságok), ill. a m. semitendinosusokból izolált rostcsoportokon (mechanikai válaszok) végeztük. A membránpotenciál változásokat intracelluláris elvezetéssel, mikroelektród technikával követtük, az elektromos jeleket megfelelő erősítés után Radelkis vonalíró segítségével regisztráltuk. A mechanikai válaszok követéséhez függőleges helyzetű, 2,5 ml hasznos térfogatú szervfürdőben torziós írókarhoz rögzített semitendinosus rostcsoportokat használtunk. A különböző összetételű inkubációs oldatok tonicitását ozmóméter segítségével ellenőriztük és állítottuk be. Az oldatok pH-ját 5 mmol/l hisztidin-imidazol puffer biztosította. Minden oldat tartalmazott d-tubokuráret 35 mg/l koncentrációban. A membránpotenciál változások mérésekor az oldatok tonicitását sacharózzal $2,5 \times$ -esre növeltük a mechanikai reakciók elkerülése érdekében.

Először a különböző összetételű Na^+ -ot tartalmazó, vagy Na^+ -mentes, illetve a membránon jól (Cl^-), vagy nagyon kevésbé penetráló (glukonát, glutamát, izetionát) anionokat tartalmazó inkubáló oldatokban tanulmányoztuk a

desertomycin (DM) membránpotenciálra gyakorolt hatását (1. ábra). Az ábrán főként a 2×10^{-6} mol/l DM-re kapott jeleket hasonlíthatjuk össze. Megállapíthatjuk, hogy a DM a primycinhez hasonlóan Na^+ -mentes közegben is okoz depolarizációt. A depolarizáció minimálisan két fázisra különíthető el. Na^+ jelenlétében úgy tűnik a második fázis meredeksége lesz lényegesen kifejezettebb. Nem penetráló anionok jelenlétében (glutamát, vagy izetionát) mindkét fázis meredeksége nő. Mindezek arra utalnak, hogy a DM a primycinhez hason-

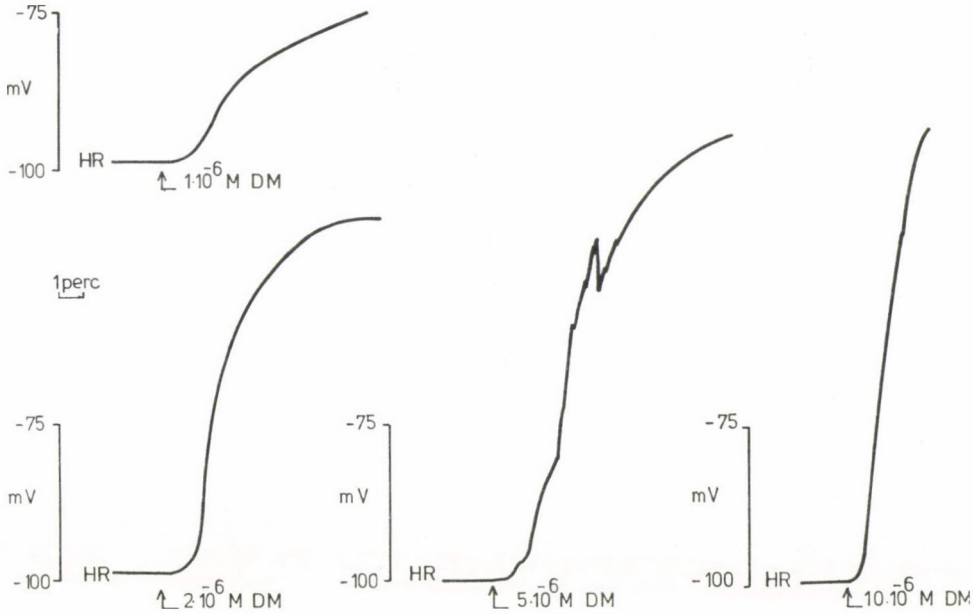


1. ábra. Desertomycin hatása a béka sacharózzal hipertóniássá tett közegben tartott sartorius izmának membránpotenciáljára. Az ordináták a depolarizáció mértékét mutatják. A vízszintes vonalszakasz a regisztrálás időbeli egységét jelöli. HR = sacharózzal hipertómitássá tett ($2,5 \times$) NaCl Ringer; ChCl-HR = mint előbb, de NaCl helyett kolin-kloriddal; Chgl-HR = mint előbb, de kolin-glutamáttal; Nais-HR = mint előbb, de Na-izetionáttal. A nyílak a DM tartalmú megfelelő oldatokkal végzett oldatcserének az idejét mutatják

lóan a nyugalmi K^+ csatornák blokkolása útján fejti ki elsődlegesen hatását, s a két fázis feltehetően a felszíni membrán és a T-tubulusok membránja ún. K^+ csatornáinak — időben a diffúziós viszonyok miatt — különböző megközelíthetőségével, gátolhatóságával függ össze. Ezen ábrán az 1×10^{-5} mol/l DM Nais-HR-ben kifejtett hatását is bemutatjuk. A depolarizáció mindkét fázisa nagymértékben felgyorsul, egymástól szinte nem különül el, s a depolarizáció kifejlődésének meghatározott szakában repetitív elektromos aktivitás jele is megfigyelhető. A viszonylag gyors tevékenység nem analóg az akciós

potenciál jellegű kisülésekkel, már a vonalíró feloldó képessége, tehetetlensége miatt sem, de az utóbbiak jelenlétére utal.

A következőkben sacharózzal hipertóniássá tett NaCl Ringerben különböző koncentrációban alkalmazott DM hatását mutatjuk be (2. ábra). Az első és második ábra összehasonlítása során megállapíthatjuk, hogy ugyanazon DM

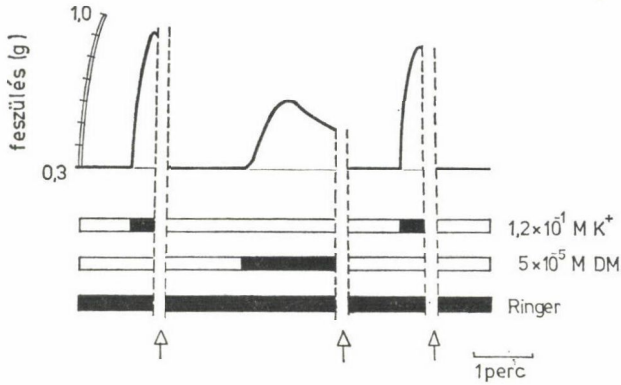


2. ábra. Desertomycin membránhatásának koncentráció-függése sacharózzal hipertóniássá tett Ringerben tartott béka sartorius izmon. Az ordináták a membránpotenciál változás mértékét mutatják. A vízszintes vonalszakasz a regisztrálás egységét jelzi. A nyilak az oldatcsere idejére utalnak

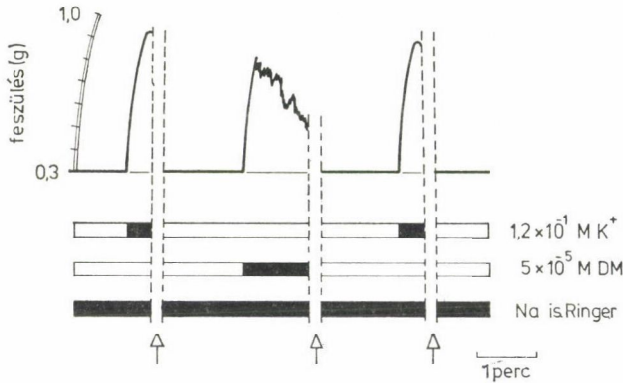
koncentrációra eltérő nagyságú válaszok nyerhetők. A jelen esetben észlelt eltérések oka, hogy az izmok, ill. a békák különböző szállítmányokból (s más évszakban gyűjtött) származnak és csak az azonos szállítmányhoz tartozó békák mutatnak ugyanabban az évszakban hasonló érzékenységet. A második ábrán már 1×10^{-5} mol/l koncentrációjú DM-re hasonló meredekségű és nagyságú depolarizációt észleltünk mint az előző ábrán 2×10^{-6} mol/l DM esetében.

Amennyiben a depolarizáció megfelelő meredekségű, s elér egy kritikus küszöbértéket, akkor az elektromos választ mechanikai reakció is követi. A 3. ábrán a NaCl Ringerben, a 4. ábrán Na-izetionát Ringerben 5×10^{-6} mol/l koncentrációban alkalmazott DM-re kifejlődő mechanikai válaszokat mutatjuk be. Kontrollként mindkét ábrán az izotóniás KCl-al nyert válaszokat is feltüntettük. Az egyes összehúzódások között 20 perc mosási periódusokat tartot-

tunk és az inkubáló folyadékot a 0., 2., 8. percben 8–10 ml mosóoldattal lecsereeltük. A két ábra összehasonlításakor szembeűnő, hogy a 4. ábrán a mechanikai válasz kifejlődése meredekebb, s első sorban az elernyedés folyamán fibrillációnak megfelelő gyors válaszok ülnek rá az alapválaszra. Mindkét



3. ábra. Desertomycinnel (5×10^{-6} mol/l) NaCl Ringerben kiváltott összehúzódás. Az ábrán az $1,2 \times 10^{-1}$ mol/l K^+ hatását is feltűntettük. A nyilak a 20 perces időközöket jelzik, mikor regisztrálás nem történt. Az ordináta a feszülés mértékét, az abszcisszákat az időt jelzik, s a fekete szakaszok a kezelések módját és időtartamát mutatják



4. ábra. Desertomycinnel (5×10^{-6} mol/l) Na-izetionát Ringerben kiváltott összehúzódás. Egyebekben lásd a 3. ábra szövegét

ábrán megfigyelhető azonban, hogy miután az izomösszehúzódás maximumot ért el, az összehúzódást elernyedés követi, függetlenül attól, hogy ilyenkor egyidejűleg a DM által létrehozott depolarizáció nem csökken, sőt esetleg még fokozódik (amennyiben nem érte el még a telítési szintet). Ezen adatok egyrészt azt bizonyítják, hogy a DM a membrán elektromos tulajdonságainak módosítása útján depolarizációt vált ki, s az utóbbi következményesen a kontraktilis rendszer (kontrakciós-relaxációs ciklus) átmeneti aktiválódását okozza,

másrészt, hogy az izomrostokon belül a Ca^{2+} -ot akkumuláló szarkoplazmatikus retikulum DM hatására nem károsodik. Így a depolarizációval triggerelt Ca^{2+} mobilizációt vagy másképpen az intracelluláris Ca-szint emelkedést követően a Ca^{2+} a tároló helyekbe felvételre kerülhet és az izom elernyedhet.

Összefoglalóan megállapíthatjuk, hogy a DM a primycinhez hasonlóan elsődlegesen a nyugalmi K^+ csatornák blokkolása útján fejtheti ki membránhatásait, amelyeket azután következményesen és időben mindazon események kísérnek, melyek a Na-csatornák potenciálfüggő aktiválódásával, a trigger Ca^{2+} felszabadulásával, az elektro-motoros, elektro-szektoros stb., csatlások aktiválódásával kapcsolatosak. A két antibiotikum membránhatásának fenti meglepő hasonlósága felveti a kérdést, hogy a kémiai szerkezetben milyen kémiai csoportazonosságok lehetnek felelősek a toxikus hatások azonosságáért, s mely különbségek azok, amelyek a két antibiotikum oldékonyságában és biológiai (antimikrobás, antifungális, citotoxikus stb.) hatásaiban meglévő eltéréseket magyarázzák. Adataink valószínűsítik, hogy különösen az azonosságokban a N-csoport jelenlétének meghatározó szerepe lehet.

IRODALOM

- BOGNÁR, R., SZTARICKAI, F., SOMOGYI, L., PUSKÁS, M., MAKLEIT, S.: *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **56**, 53–60 (1968).
- GESZTELYI, I., KÓNYA, L., KÖVÉR, A.: *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* **55**, 1–11 (1980).
- KÖVÉR, A., GESZTELYI, I., KÓNYA, L., SZABOLCS, M.: *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* **54**, 405–414 (1979).
- KÖVÉR, A., GESZTELYI, I., KÓNYA, L., DARÓCZI, A.: *Stud. Biophys. (Berlin)* **56**, S37–38 (1976).
- SZTARICKAI F., URI J.: *Magyar Kémiai Folyóirat* **69**, 384–387 (1963).
- URI, J., BOGNÁR, R., BÉKÉSI, I., VARGA, B.: *Nature* **182**, 401 (1958).