

PREGLEDNI ČLANCI

**MOLEKULARNI MEHANIZAM CELIJSKIH OŠTECENJA
PRI AKUTNOJ HIPOKSIJI**

Ljubiša MIHAJLOVIĆ, Nevenka K. MIHAJLOVIĆ,
Aleksandar PETROVIĆ i Radmila PAVLOVIĆ

*Institut za biologiju sa humanom genetikom, Institut za histologiju i embriologiju
i Institut za medicinsku hemiju Medicinskog fakulteta u Nišu*

U uslovima hipoksije i ishemije zbog smanjene produkcije ATP-a javljaju se mnoge strukturne i funkcionalne promene naročito u visoko diferenciranim ćelijama bubrega, srca i CNS-a. Izvesno je da gubitak funkcije ćelijske membrane predstavlja primarni događaj u genezi ćelijskih oštećenja u ovim uslovima, ali definitivna osnova mehanizama zbog kojih nastaje membranska disfunkcija ostaje još uvek nejasna. Međutim, potrebno je naglasiti postojanje sledećih potencijalnih mehanizama: poremećaj jonske homeostaze, peroksidacija membranskih lipida, unakrsno povezivanje membranskih proteina i povećana razgradnja fosfolipida. Takođe, mnogobrojna eksperimentalna istraživanja podržavaju važnost produkcije slobodnih radikala nakon akutne hipoksije. Sve ove promene koje su u vezi sa reverzibilnim hipoksičnim i ishemičnim ćelijskim oštećenjima ako su kvalitativno ili kvantitativno adekvatne mogu proizvoditi ireverzibilna oštećenja. Zato bi u slučajevima hipoksije i ishemije srca, bubrega i CNS kao organa visoko zavisnih od aerobne produkcije ATP-a primena medikamentata koji doprinose očuvanju membranske stabilnosti, pored primene standardnih lekova, bila sasvim opravdana.

Ključne reči: hipoksija, jonski kanali, slobodni radikali

Uvod

Visoko diferencirane ćelije, kakve su ćelije proksimalnih tubula bubrega, miociti srca i neuroni CNS-a za ostvarivanje svojih specijalnih funkcija zavise od aerobne produkcije ATP-a. Kada je zbog hipoksije ograničeno dopremanje kiseonika i smanjena produkcija ATP-a ove ćelije veoma brzo ispoljavaju mnoge strukturne i funkcionalne promene.

Efekti hipoksičnih, a samim tim i ishemičnih oštećenja su reverzibilni ako je trajanje hipoksije ograničeno. Na primer, promene kontraktilnosti miokarda, membranskog potencijala, metabolizma i ultrastrukture na nivou ćelija su prolaznog karaktera ako se cirkulacija brzo obnovi. Međutim, kada

je hipoksija perzistentna zahvaćene (aficirane) ćelije postaju ireverzibilno oštećene, što znači da one postaju nekrotične uprkos reperfuziji sa arterijskim krvotokom. Po definiciji sve metaboličke promene povezane sa reverzibilnim hipoksičnim ćelijskim oštećenjima, ako su kvalitativno ili kvantitativno adekvatne (značajne, velike), mogu proizvoditi ireverzibilna oštećenja. Sa dužim periodom hipoksije takođe neke biohemijske promene se razvijaju i uzrokuju ireverzibilna oštećenja.

Prema današnjim nalazima dva fenomena pokazuju razliku između ireverzibilnog i reverzibilnog oštećenja u slučaju hipoksije. Jedan od njih je nesposobnost reverzije (ponovnog uspostavljanja) normalne funkcije mitohondrije, a drugi predstavlja oštećenja na nivou ćelijskih membrana, a naročito plazma membrane. Međutim, i u jednom i u drugom slučaju, prema novijim nalazima iz literature, glavne promene u uslovima hipoksije odvijaju se na nivou membrane, a jedan od bitnih faktora oštećenja membrane u ovim uslovima su molekuli sa povećanom aktivnošću kakvi su na primer slobodni radikali kiseonika i azota (*Rubin i Farber, 1994*).

Gubitak integriteta ćelijskih membrana i jonski disbalans

Poremećaj membranskih funkcija, a naročito promena integriteta plazma membrane je veoma bitna i verovatno kritična komponenta pri akutnoj hipoksiji. Izvesno je da gubitak funkcije ćelijske membrane predstavlja primarni događaj u genezi ćelijskih oštećenja u ovim uslovima, ali definitivna osnova mehanizama zbog kojih nastaje membranska disfunkcija ostaje još uvek nejasna. Međutim, potrebno je naglasiti postojanje sledećih potencijalnih mehanizama: (A) poremećaj jonske homeostaze; (B) peroksidacija membranskih lipida, (C) unakrsno povezivanje membranskih proteina; i (D) povećana razgradnja fosfolipida.

(A) Žive ćelije egzistiraju u oštroj deskvilibrijumu sa spoljašnjom sredinom, a pasivnim i aktivnim mehanizmima održavaju brojne elektrohemijske gradijente karakteristične za razliku između intracelularnog i ekstracelularnog miljea. Poremećaj ovih gradijenata na plazma membrani je kritični događaj u letalnom oštećenju ćelije. Najveći gradijent u svim živim ćelijama je karakterističan za kalcijum, pri čemu je koncentracija kalcijumovog jona u ekstracelularnom fluidu milimolarnog reda (10 M), a u citosolu je 10.000 puta manja i reda je 10⁻⁷ M. Ovaj veliki koncentracioni gradijent se održava pasivnim nepropuštanjem kalcijuma kroz plazma membranu i njegovim aktivnim izbacivanjem iz ćelije, uz istovremeno preuzimanje ovog jona od strane mitohondrija i endoplazmatičnog retikuluma. Na velikom broju modela je pokazano da hipoksija uzrokuje narušavanje kalcijumovog gradijenta i njegovu intracelularnu akumulaciju (*Nicholson et al., 1977; Johnson et al., 1986, 1987; MađWietal., 1990; Pate/etal., 1991, 1992; Evtodienko et*

1995; McGeown et al., 1996; Gunasekara et al., 1996; Fegeri-Krieglstein, 1996; Sun et al., 1997; Lorenz i Paul, 1997). Međutim, danas postoji dilema oko načina povećanja intracelularnog slobodnog kalcijuma u stanjima hipoksije, tako da moguće načine predstavljaju:

(1) povećanje influksa kalcijuma zbog otvaranja voltažno zavisnih kalcijumskih kanala (depolarizacija) (Maduh et al., 1990) i agonist-operativnih kalcijumskih kanala (oslobađanje ekscitatornih aminokiselina) (Patel et al., 1991, 1992; Khodorov et al., 1996; Gunasekar et al., 1996).

(2) smanjenje efluksa kalcijuma usled inhibicije ATP-zavisnog is-pumpavanja iz ćelije (Johnson et al., 1986); i

(3) smanjeno preuzimanje od strane mitohondrija i endoplazmatičnog retikuluma i to naročito zbog promene mitohondrijskog membranskog potencijala (Scorrano et al., 1997; Simpson i Russell, 1996; Khodorov et al., 1996; Herrington et al., 1996). Akumulacija veoma aktivnog, slobodnog citosolnog kalcijuma može doprineti morfofiziološkim transformacijama koje vode ćeliju u smrt nakon oštre hipoksije.

Takođe, postoje podaci da je u stanjima hipoksije narušena ravnoteža i drugih jona, kao što su K^+ , Na^+ i Cl^- . Hipoksija suprimira protok kalijuma kroz celijsku membranu (Chao et al., 1996) redukujući njegov neto fluks (Wilson et al., 1997), a takođe menja funkciju nekoliko tipova K^+ kanala (Hyllienmark i Brismar, 1996) i to naročito u nervnim ćelijama. Hipoksija uzrokuje povećanje intracelularnog natrijuma (Carini et al., 1995; Russ et al., 1996; Kupriyanov et al., 1996). Takođe rezultati istraživanja ukazuju da je transport Cl^- elektrogen i odvija se preko Cl^- -stimulisane ATP-aze (Gerencser i Purushotham, 1995). Kao posledica narušavanja jonskog balansa nakon akutne hipoksije moguće je bubrenje ćelija i pojava edema u organima koji su u velikoj meri zavisni od aerobne produkcije ATP-a, pri čemu je glavni uzrok nepotpuna aktivnost $Na^+ K^+ - ATP$ -aze. Poznato je da u ishemičnim uslovima akumulacija natrijuma u ćeliji uzrokuje intracelularno nagomilavanje vode. U prilog tome govore rezultati histoloških ispitivanja hepatocita pacova posle trovanja KCN-om (5 mg/kg) u kojima su Ashton i sar. (1981) otkrili vakuolizirane mitohondrije nakon 20 minuta i mikrovakuolizaciju što je tipično za ishemične ćelijske promene.

(B) Kada je u pitanju produkcija lipidnih peroksida, posle akutne hipoksije, postoje kontradiktorni rezultati. Tako, npr. Ardelt i sar. (1989) su posle trovanja miševa KCN-om (7 mg/kg, s.c.) našli značajno povećanje nivoa lipidnih peroksida u mozgu sa maksimumom posle 30 minuta, a 60-og minuta registrovana je vrednost skoro identična kontrolnom nivou. Prema ovim autorima lipidna peroksidacija, naročito u nervnim ćelijama je katalizovana oslobođenim gvožđem iz hemoglobina, transferina i feritina, čije otpuštanje

je indukovano tkivnom acidozom i slobodnim radikalima kiseonika. U prilog ovome govore rezultati radova *Isom-a* i *Borowitz-a* (1995) u *in vitro* uslovima (PC 12 ćelijska linija), kao i istraživanja u kojima su relativno uspešno korišćene neke supstancije kao potencijalni antidoti trovanja cijanidima. Tako, npr. *Levin* i sar. (1996) su zabeležili protektivno delovanje mesilata (inhibitora produkcije lipidnih peroksida) kod ćelija retinalnih ganglija izloženih NaCN-u (3 mM). Takođe, *Yamamoto* i *Tang* (1996), su u homogenatu mozga miša našli značajno povećanje lipidne peroksidacije (39%, 106%, 132%) posle primene KCN-a u dozama od 0.01, 0.05, i 0,1 mM, pri čemu je melatonin delovao inhibitorno na produkciju lipidnih peroksida. Međutim, ima autora (*NiknahadeX* al., 1995), koji nisu detektovali promenu nivoa lipidnih peroksida u hepatocitama nakon hipoksije, uz istovremeni izostanak protektivnog dejstva nekih fenolnih antioksidanata.

(C) Promena oksidoredukcijskog stanja ćelije u stanju hipoksije, usled acidoze i moguće produkcije slobodnih radikala može uzrokovati unakrsno povezivanje membranskih proteina obrazovanjem disulfidnih (S-S) veza. Rezultat toga je, agregacija membranskih proteina, pri čemu se menja aktivnost jonskih kanala i drugih proteina ćelijske membrane. Obrazovanjem mešanih disulfida u reakciji sa redukovanim glutationom (GSH) SH grupe membranskih proteina takođe mogu biti modifikovane u procesima koji zavise od hidrosil radikala. Modifikovani proteini membrane mogu biti alternativa lipidnoj peroksidaciji u mehanizmu ireverzibilnog oštećenja ćelijske membrane u ovim uslovima (*Rubin* i *Farber*, 1994).

(D) Povećana količina slobodnog citosolnog kalcijuma pri hipoksiji aktivira fosfolipaze (PLA2, PLC) (*IsomiBorowitz*, 1995), zbog čega je moguće razlaganje fosfolipida, što su i potvrdili *Yang* i sar. (1996) na nervnim ćelijama (PC 12) nakon primene KCN-a u dozi od 1,0-100 uM. Takođe, eksperimentalno je pokazano da je smrt hepatocita u kulturi povezana sa povećanim metabolizmom fosfolipida uz paralelnu njenu redukciju tretmanom sa glicinom, što je praćeno smanjenjem fosfolipidnog metabolizma (*Sakaida* et al., 1996). Navedena povećana hidroliza fosfolipida mogla bi stimulisati pasivnu neselektivnu propustljivost ćelijske membrane.

Slobodni radikali kiseonika

Pod normalnim uslovima terminalni enzim mitohondrijskog respiratornog lanca citohrom oksidaza, katalizuje potpunu četvoroelektronsku redukciju kiseonika u vodu. Rezultat je elektrohemijski gradijent na unutrašnjoj mitohondrijalnoj membrani. Međutim u izmenjenim uslovima moguća je parcijalna redukcija O₂, usled čega nastaju redukovani molekuli između kiseonika i vode, reprezentujući transfer različitog broja elektrona. To su: su-

peroksid anjon radikal (O_2^-) (jedan elektron); vodonik peroksid (H_2O_2) (dva elektrona) (tehnički nije Slobodan radikal); hidroksil radikal (OH) (tri elektrona).

Eksperimentalna ispitivanja (*Isom i Borowitz, 1995*), podržavaju važnost produkcije slobodnih radikala nakon akutne hipoksije. Mogući načini produkcije slobodnih radikala pri ovim uslovima su:

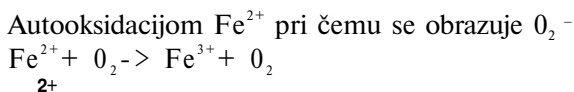
1) Povećana koncentracija slobodnog intracelularnog kalcijuma, enzimskim i neenzimskim putem indukuje stvaranje slobodnih radikala kiseonika (*Hall i Traystman, 1993; Gunasekaret al., 1996*). Hipoksijom povećano stvaranje reaktivnih kiseonikovih metabolita naročito je registrovano pri oštećenju nervnih celija (*Johnson et al., 1986, 1987; Isom i Borowitz, 1995*). Analogno ovim rezultatima *Borle i Barsic (1995)* su na hepatocitima posle hemijske hipoksije indukovane cijanidima našli povećanu količinu slobodnih radikala kiseonika i to čak 5 puta u odnosu na kontrolu, indukovanu povećanom količinom slobodnog intracelularnog kalcijuma ($1,5 \mu M$).

2) *Guidot i sar. (1995)* su pokazali da izolovane mitohondrije kvasca i pacova iz jetre i pluća putem svoje normalne respiracije eliminišu superoksid anjon radikal (O_2^-) koji je produkovan ekstramitohondrijalno. Nakon opsežnih eksperimentalnih ispitivanja isti autori predlažu hipotezu da je mitohondrija sa normalnom respiracijom bogata protonima koji neenzimskim načinom reaguju sa O_2^- čime se ovaj radikal uklanja iz citoplazme. U prisustvu cijanida kao metaboličkih blokatora ova sposobnost mitohondrije je blokirana.

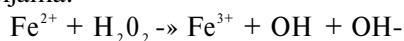
3) Zbog inhibicije citohrom oksidaze ostaje velika količina neiskorišćenog molekuskog kiseonika što je potencijalni izvor nepotpune redukcije ovog molekula posredstvom slobodnog gvožđa ili drugim mehanizmima.

4) Inaktivacija enzima antioksidativnog sistema, čime je celija onemogućena da ukloni već stvorene slobodne radikale kiseonika (*Ardelt et al., 1989*).

5) Nakon trovanja cijanidima usled acidoze favorizovano je oslobađanje jona gvožđa iz feritina, transferina i hemoglobina (*Zaleska i Floyd, 1985; Hall i Traystman, 1993*). U ovim uslovima hemoglobin može sam stimulisati stvaranje slobodnih radikala i lipidnu peroksidaciju, međutim, gvožđe oslobođeno iz feroproteina je mnogo aktivnije. Naime slobodno fero gvožđe (Fe^{2+}) koje se nalazi kao helator određenih precipitata, može obrazovati slobodne radikale na nekoliko načina:



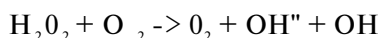
Fe^{2+} se takođe oksiduje u prisustvu H_2O_2 (Fentonova reakcija) pri čemu se obrazuje hidroksil radikal (OH) ili možda feri jon (Fe^{3+} -OH) u sledećim reakcijama:





OH^\cdot i Fe^{3+} -OH su ekstremno potentni oksidansi i mogu reagovati sa lipidima, DNK i proteinima.

Poznata i često diskutovana reakcija je Haber-Weiss-ova reakcija. Bez obzira što je ona reakcija drugog reda u vodenom rastvoru čak i blizu nule u bioloskim sistemima u prisustvu gvožđa u tragovima ili drugih tranzicionih metala Haber-Weiss-ova reakcija je značajno brža. Fe katalizovana Haber-Weiss-ova reakcija je:



6) Ksantin dehidrogenaza/ksantin oksidaza katalizuju transformaciju hipoksantina u ksantin i mokraćnu kiselinu u kataboličkom putu purinskih nukleotida. U normalnim fiziološkim uslovima ovu reakciju katalizuje uglavnom ksantin dehidrogenaza i ona ne produkuje slobodne radikale. Međutim, u izmenjenim uslovima favorizovana je ksantin oksidaza koja generiše superoksid anjon radikal i vodonik peroksid (*Sarnesto*, 1996). U eksperimentima na hepatocitama, *Niknahad* i sar. (1995) su pokazali da hipoksija indukuje povećanu transformaciju ksantin dehidrogenaze u ksantin oksidazu. Takođe, posredstvom povećane količine slobodnog citosolnog kalcijuma aktivira se već prisutna ksantin oksidaza u ćelijama (*McCord*, 1985).

Pored svih navedenih razloga koji idu u prilog povećanom stvaranju slobodnih kiseonikovih radikala, u stanjima hipoksije zbog inhibicije aerobne respiracije moguća je i smanjena produkcija ovih molekula. Naime, postoje podaci (*Ikeda* i *Long*, 1990), da se pod normalnim uslovima, u mitohondrijalnoj oksidativnoj fosforilaciji približno 1 % od ukupnog elektronskog protoka, koristi za obrazovanje superoksid anjon radikala (O_2^\cdot) koji se u normalnim okolnostima eliminiše superoksid dismutazom (SOD) i glutationom. U akutnoj hipoksiji, zbog inhibicije elektronskog protoka, ova produkcija O_2^\cdot je delimično ili u potpunosti inhibirana.

Slobodni radikali azota

Ovde treba pomenuti i slobodne radikale azota, pre svih azotov oksid (NO). Prema eksperimentalnim nalazima *Suna* i sar. (1995) na miševima, NO ima protektivno delovanje kod trovanja cijanidima. Ova tvrdnja se zasniva na eksperimentalnim nalazima da isosorbid dinitrat (ISDN) svoje protektivno delovanje ostvaruje produkcijom NO. Takođe, navedeni autori iznose pretpostavku da je NO jednim delom uključen i u mehanizam antidotskog delovanja standardnog antidota, natrijum nitrita.

Međutim, *Gunasekar i sar* (1996), na osnovu *in vitro* ispitivanja na granularnim celijama cerebeluma, iznose tvrdnju da cijanidi posredstvom aktivacije N-metil-D-aspartatnog (NMDA) receptora i influksa kalcijuma stimulišu obrazovanje ekvivalentne količine NO-a i ROS-a (kiseonikovi radikali), pri čemu oni indukuju lipidnu peroksidaciju i ćelijska oštećenja.

Zaključak

Navedeni podaci iz literature pokazuju da je efekat hipoksije veoma kompleksan i da je u osnovi vezan sa padom produkcije ATP-a koji je neophodan za održanje stabilnosti ćelije. Usled toga su u ovim uslovima integritet ćelijske membrane i ravnoteža oksidoredukcijskih sistema ozbiljno narušeni. Zato bi u slučajevima hipoksije i ishemije srca, bubrega i CNS kao organa visoko zavisnih od aerobne produkcije ATP-a, primena medikamentata koji doprinose očuvanju membranske stabilnosti, pored primene standardnih lekova, bila sasvim opravdana (*Mihajlović*, 2001).

Literatura

Ardelt, B.K., Borovitz J.L. and/sow, G.E. (1989). Brain lipid peroxidation and antioxidation protectant mechanisms following acute cyanide intoxication. *Toxicology*, 5, 147-154.

Ardelt, B.K., Borowitz, J.L., Maduh, E.U., Swain, S.L. and horn, G.E. (1994). Cyanide-induced lipid peroxidation in different organs: Subcellular distribution and hydroperoxide generation in neuronal cells. *Toxicology*, 8, 127-137.

Ashton, D., Ven Reempts, J. and Wauquier, A. (1981). Behavioural, electroencephalographic and histological study protective effect of etomidate against histotoxic dysoxia produced by cyanide. *Arach. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 25412, 196-213.

Borle, A.B. and Barsic, M. (1995). Chemical hypoxia increases cytosolic Ca and oxygen free radical formation. *Cell-Calcium.*, 17(4), 307-315.

Carini, R., Autelli, R., Bellomo, G., Dianzani, M. U. imd Albano, E. (1995). Sodium mediated cell swelling is associated with irreversible damage in isolated hepatocytes exposed to hypoxia or mitochondrial toxins. *Biochem Biophys Res Commun*, 206(1), 180-185.

Chao, K. F., Liu, S. H. and Lin-Shiau, S. Y. (1996). Suppression of potassium currents by cyanide on the mouse motor nerve terminals. *Neurosci Lett*, 203(2), 105-108.

Evtodienko, I. V., Teplova, V. V., Sidash, S. S. and Voitchak, L. (1995). Redistribution of Ca⁺ ions in Ehrlich ascites carcinoma cells under the action of deoxy glucose inhibitors of the intracellular Ca⁺ - transporting system. *Biokhimiia*, 60(8), 1336-1343.

Feger, D. and Kriegelstein, J. (1996). Determination of intracellular Ca²⁺ concentration can be a useful tool to predict neuronal damage and neuroprotective properties of drugs. *Brain Res.*, 732, 87-94.

Gerencser, G. A. and Purushotham, K. R. (1995). A novel Cl⁻-pump: intracellular regulation of transport activity. *Biochem Biophys Res Commun*, *215*, 994-1000.

Gronadzinska, J., Slodowska, M. and Wasowicz, W. (1988). Glutathione peroxidase activity, lipid peroxides and selenium, concentration in various rat organs. *Biomed. Biochem. Acta*, *47*, 19-24.

Guidot, D. M., Repine, J. E., Kitlowski, A. D., Flores, S. C, Nelson, S. K., Wright, R. M. and McCord, J. M. (1995). Mitochondrial respiration scavenges extramitochondrial superoxide anion via a nonenzymatic mechanism. *J. Clin. Invest.*, *96*(2), 1131-1136.

Gunasekar, P. G., Sun, P. W., Kanthasamy, A. G., Borowitz, J.L. and Isom, G. E. (1996). Cyanide induced neurotoxicity involves nitric oxide and reactive oxygen generation after N-methyl-D-aspartate receptor activation. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *277*, 150-155.

Hall, E. D. and Traystman, R. J. (1993). Secondary tissue damage after CNS injury. The Upjohn Company. Kalamazoo. Michigan 49001.

Herrington, J., Park, Y.B., Babcock, D.F. and Hille, B. (1996). Dominant role of mitochondria in clearance of large Ca²⁺ loads from rat adrenal chromaffin cells. *Neuron*, *16*(1), 219-228.

Hyllienmark, L. and Brismar, T. (1996). Effect of metabolic inhibition on K⁺ channels in pyramidal cells of the hippocampal CA1 region in rat brain slices. *J. Physiol. Lond.*, *496*, 155-164.

Ikeda, Y. and Long, D. M. (1990). The molecular basis of brain injury and brain edema: the role of oxygen free radicals. *Neurosurgery*, *27*, 1-11.

Isom, G. E. and Borowitz, J. L. (1995). Modification of cyanide toxicodynamics: mechanistic based antidote development. *Toxicology Letters*, *83/83*, 795-799.

Johnson, J. D., Meisenheimer, T. L. and Isom, G. E. (1986). Cyanide-induced neurotoxicity: role of neuronal calcium. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *84*, 464-469.

Johnson, J. D., Conroy, W. G. and Isom, G. E. (1987). Alteration of cytosolic calcium levels in PC 12 cells by potassium cyanide. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *88*, 217-224.

Khodrov, B., Pinelis, V., Vergun, O., Storozhevykh, T. and Vinskaya, N. (1996). Mitochondrial denegerization underlies neuronal calcium overload following a prolonged glutamate challenge *FEBS-Lett*, *397*, 230-234.

Kupriyanov, V. V., Yang, L. and Deslauriers, R. (1996). Cytoplasmic phosphates in Na⁺+K⁺ balance in KCN-poisoned rat heart: a ⁸⁷Rb⁻, ²³Na⁻, and ³¹P-NMR study. *Am. J. Physiol.*, *270*, 1303-1311.

Levin, L. A., Clark, J. A. and Johns, L. K. (1996). Effect of lipid peroxidation inhibition on retinal ganglion cell death. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, *37*, 2744-2749.

Lorenz, J.N. and Paul, R.J. (1997). Dependence of Ca²⁺ channel currents on endogenous and exogenous sources of ATP in portal vein smooth muscle. *Am. J. Physiol.*, *272*, 987-994.

Maduh, E. U., Turek, J. J., Borowitz, J. L., Rebar, A. and Isom, G. E. (1990). Cyanide induced neurotoxicity: calcium mediation morphological changes in neuronal cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, *103*, 214-221.

McCord, J. M. (1985). Oxygen derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.*, *32*, 315-317.

- McGeown, J. G., Drummond, R. M., McCarron, J. G. and Fay, F. S.* (1996). The temporal profile of calcium transients in voltage clamped gastric myocytes from *Bufo marinus*. *J. Physiol. Lond.*, *497*, 321-336.
- Mihajlović, Lj.* (2001). Mehanizam toksičnog dejstvovanja u Wistarpacova i zaštitno dejstvo antioksidanata i antagonista kalcijuma. Doktorska disertacija. Biološki fakultet. Beograd.
- Nicholson, C, Bruggencate, G. T., Steinberg, R. and Storkle, H.* (1977). Calcium modulation in brain extracellular microenvironment demonstrated with ion-selective micropipettes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *74*, 1287-1290.
- Niknahad, H., Khan, S., O and Brien. P. J.* (1995). Hepatocyte injury resulting from inhibition of mitochondrial respiration at low oxygen concentrations involves reductive stress and oxygen and oxygen activation. *Chem. Biol. Interact.*, *98*, 27-44
- Pare!, M. N., Ardelt, B. K., Yim, G. K. W. and horn, G. E.* (1991). Cyanide induces Ca⁺ dependent and independent release of glutamate from mouse brain slices. *Neurosci. Lett.*, *131*, 42-44.
- Patel, M. N., Yim. G. K. W. and Isom, G. E.* (1992). Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors prevent cyanide induced neuronal injury in primary hippocampal cultures. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, *115*, 124-129.
- Russ, U., Balsler, C., Scholz, W., Alhus, U., Lang, H J., Weichert, A., Scholkens, B. A. and Gogelcin, H.* (1996). Effects of the Na⁻ H⁺ - exchange inhibition Hoe 642 on intracellular pH, calcium and sodium in isolated rat ventricular myocytes. *Pflugers. Arch.*, *433*, 26-34.
- Sakaida, I., Nagatomi, A. and Okita, K.* (1996). Protection by glycine against chemical ischemia produced by cyanide in cultured hepatocytes. *J. Gastroenterol.*, *31*, 684-690.
- Sarnesto, A., Under, N. and Raivio, K. O.* (1996). Organ distribution and molecular forms of human xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase protein. *Laboratory Investigation*, *74*, 48-56.
- Scorrano, L., Petronilli, V. and Bernardi, P.* (1997). On the voltage dependence of the mitochondrial permeability transition pore. A critical appraisal. *J. Biol. Chem.*, *272*, 12295-12299.
- Simpson, P. B. and Russell, J. T.* (1996). Mitochondria support inositol 1,4,5-triphosphate-mediated Ca⁺ waves in cultured oligodendrocytes. *J. Biol. Chem.*, *271*, 33493-33501.
- Sun, P., Borowitz, J. E., Kanthasamy, A. G., Kan, M. D., Gunasekar, P. G. and horn, G. E.* (1995). Antagonism of cyanide toxicity by isosorbide dinitrite: possible role of nitric oxide. *Toxicology*, *104*, 105-111.
- Sun, P., Rane, S. G., Gunasekar, P. G., Borowitz, J. L. and Isom, G. E.* (1997). Modulation of the NMDA receptor by cyanide: enhancement of receptor-mediated responses. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, *280*, 1341-1348.
- Wilson, R. W., Wareing, M. and Green, R.* (1997). The role of active transport in potassium reabsorption in the proximal convoluted tubule of the anaesthetized rat. *J. Physiol. Lond.*, *500*, 155-164.
- Yamamoto, H. and Tang, H. W.* (1996). Preventive effect of melatonin against cyanide-induced seizures and lipid peroxidation in mice. *Neurosci Lett.*, *207*, 89-92.
- Yang, C.W., Borowitz, J. E., Gunasekar, P. G. and Isom, G. E.* (1996). Cyanide-stimulated inositol 1, 4, 5-triphosphate formation: an intracellular neurotoxic signaling cascade. *J. Biochem. Toxicol.*, *11*, 251-256.

Zaleska, M. and Floyd, R. A. (1985). Regional lipid peroxidation in rat brain *in vitro*: possible role of endogenous iron. *Neurochem Res.*, 10, 397-410.

MECHANISME MOLECULAIRE DES ENDOMMAGEMENTS CELLULAIRES LORS L'HYPOXIE AIGUE

Ljubiša MIHAJLOVIĆ, Nevenka K. MIHAJLOVIĆ,
Aleksandar PETROVIĆ et Radmila PAVLOVIĆ

Institut pour la biologie avec la genetique humain, Institut pour la histologic et embryologie et Institut pour la chimie medicale de la Faculte de Medecine de Niš

Dans les conditions de l'hypoxie et l'ischémie a cause de la production reduite de ATP on apparait de nombreux changements structuraux et fonctionnels surtout dans ies cellules hautement differenciees des reins, du coeur et de CNS. Il est certain que la perte de la fonction de la membrane cellulaire presente un evenement primaire dans la genese des endommagements cellulaires dans ces conditions mais la base definitive du mecanisme qui provoque la disfonction reste encore vague. Pourtant il est necessaire d'accentuer l'existence des suivantes mecanismes potentiels: perturbation de la homeostase ionique, peroxydation des lipides de membrane, liaison croisee des protides de membranes et decomposition aggrandie des phospholipides. Aussi, les nombreuses recherches experimentales soutient l'importance de la production des radicals libres apres l'hypoxie aigue. Tous ces changements qui sont en liaison avec les endommagements hypoxiques, reversibles et ischémiques cellulaires s'ils sont qualitativement et quantitativement adequats peuvent produire des endommagements irreversibles. C'est pourquoi dans les case de l'hypoxie et l'ischémie du coeur, des reins et de CNS comme organes hautement dependants de la production aerobie ATP l'application des medicaments qui contribuent au maintient de la stabilite de membrane outre l'application des remedes standards, etait tout a fait justifiee.

Les mots des: Hypoxie, canaux ioniques, radicals libres

MOLECULAR MECHANISM OF THE CELL DAMAGES IN THE ACUTE HYPOXIA

Ljubiša MIHAJLOVIĆ, Nevenka K. MIHAJLOVIĆ,
Aleksandar PETROVIĆ and Radmila PAVLOVIĆ

*Institute for Biology with Human Genetics, Institute for Histology and Embryology and the Institute for Medicine Chemistry
of the Faculty of Medicine, Niš*

Under the conditions of hypoxia and ischemia due to the reduced ATP production there are many structural and functional changes especially in the highly differentiated cells of the kidneys, the heart and the CNS. It is certain that the loss of func-

tion of the cell membrane represents a primary event in the cell damage genesis under the given conditions, but the definite basis of the mechanism due to which the membrane dysfunction emerges still remains obscure. However, the existence of the following potential mechanisms should be stressed, namely, of the ionic homeostasis disturbance, the membrane lipid peroxidation, cross-connection of the membrane proteins and an increased decomposition of the phospholipids. Likewise, much of the experimental research supports the importance of the free radical production after the acute hypoxia. All the changes that are related to the reversible hypoxic and ischemic cell damage, if they are qualitatively or quantitatively adequate, can produce irreversible damages. That is why in the cases of hypoxia and ischemia of the heart, the kidneys or the CNS as the organs that are highly dependent upon the aerobic production of the ATP the application of the medicaments contributing to the preservation of the membrane stability, in addition to the standard drug application, would be completely justified.

Key words: Hypoxia, ionic channels, free radicals

Autor: Ass. dr sci Ljubiša Mihajlović, molekularni biolog, Institut za biologiju sa humanom genetikom Medicinskog fakulteta u Nišu, kućna adresa: Niš, Triglavska 7/2.

(Rad je Uredništvo primilo 28. januara 2002. godine)

INHIBITOR ANGIOTENZIN - KONVERTAZE - EFIKASAN U LEČENJU SVIH OBLIKA
HIPERTENZIJE I KONGESTIVNE SRČANE INSUFICIJENCIJE

ENALAPRIL

(enalapril)
- tablete -

 **ZDRAVLJE**
LESKOVAC