

Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Wydział Chemii



Magdalena Golasik

**Badanie toksykokinetyki tytanu
oraz obrazowanie jego wewnątrztkankowej dystrybucji**

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Wojciech Piekoszewski

Promotor pomocniczy: Dr Małgorzata Herman

Kraków, 2016

Unikatowe właściwości tytanu czynią z niego metal o niemal nieograniczonych możliwościach stosowania zarówno w przemyśle, w medycynie, jak i w przedmiotach codziennego użytku – pożywieniu, ubraniach, kosmetykach, kremach promieniochronnych i produktach higieny osobistej. Z uwagi na mnogość zastosowań każdy człowiek nieustannie styka się z tym pierwiastkiem i/lub jego związkami. Dodatkowe źródło ekspozycji na tytan stanowią implanty wykonane z jego stopów, które mogą ulegać biodegradacji w środowisku płynów ustrojowych. Osoby z wszczepionymi protezami są pozbawione naturalnych barier chroniących przed tytanem, a wiele implantów pozostaje w organizmie przez dłuższy czas (czasami przez całe życie). Produkty biodegradacji stopów tytanowych mogą migrować ogólnoustrojowo i kumulować się w różnych organach. Dystrybucja jonów tytanu oraz cząsteczek biomateriału uwolnionych z implantów jest wieloczynnikowym procesem, który dotychczas nie został wystarczająco dobrze poznany i opisany. Ciągła ekspozycja na ten ksenobiotyk z wielu źródeł, nawet w niewielkich ilościach, może doprowadzić do wzrostu jego zawartości w organizmie, czego efekty są na razie zbadane w ograniczonym zakresie. Dostępna literatura naukowa podaje prawie wyłącznie informacje na temat toksykologii tlenu tytanu(IV) w postaci mikro- oraz nanocząstek.

Nadrzędnym celem badań przeprowadzonych w ramach realizacji pracy doktorskiej była ocena zachowania tytanu w postaci jonowej w organizmie w oparciu o model zwierzęcy. W pierwszym z przeprowadzonych eksperymentów szczurom szczepu Wistar podawano jednorazowo, dożylnie roztwór cytrynianu tytanu(IV) w dwóch dawkach. Następnie w siedmiu punktach czasowych od momentu podania ksenobiotyku pobierano od zwierząt krew oraz wybrane narządy (wątroba, nerki, śledziona). Z kolei w drugim eksperymencie szczury otrzymywały ten ksenobiotyk za pomocą sondy żołądkowej codziennie przez trzydzieści dni. Po tym czasie pobrano od zwierząt krew i te same trzy organy, co w poprzednim eksperymencie, a także serce oraz płuca. Stężenie tytanu w uzyskanych tkankach wyznaczono za pomocą techniki atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w piecu grafitowym (GFAAS). Przed oznaczeniem analitu przeprowadzano wysokociśnieniową mineralizację próbek z wykorzystaniem energii mikrofalowej.

Do realizacji powyższych badań konieczne było opracowanie i zwalidowanie procedury oznaczania tytanu w próbkach biologicznych za pomocą techniki GFAAS. W tym celu zoptymalizowano program temperaturowy pieca grafitowego oraz dobrano odpowiednie

modyfikatory matrycy. Na podstawie wyznaczonych parametrów walidacyjnych stwierdzono, że opracowana procedura pozwala na otrzymanie wiarygodnych wyników z zadowalającą dokładnością i precyzją oraz może być z powodzeniem stosowana do planowanych badań toksykologicznych i klinicznych. Jej działanie sprawdzono poprzez analizę próbek mięsa zwierzęcego oraz tkanek miękkich, pobranych od pacjentów w momencie zakładania tytanowych implantów przykręgosłupowych, a także w czasie następnych operacji rewizyjnych. W związku z małą liczbą otrzymanych próbek klinicznych ciężko jest wyciągnąć ogólne wnioski z uzyskanych danych. Stwierdzono, że w badanej grupie pacjentów na skutek biodegradacji nastąpiło stopniowe uwalnianie tytanu z protez do przylegających mięśni. Zaobserwowane zmiany wskazują na konieczność monitorowania zmian poziomu tego metalu u osób po zabiegu implantacji.

Dane dotyczące zawartości tytanu w próbkach biologicznych pobranych od szczurów posłużyły do wyznaczenia podstawowych parametrów toksykokinetycznych, takich jak klirens, objętość dystrybucji kompartmentu centralnego, objętość dystrybucji kompartmentu obwodowego, pozorna objętość dystrybucji, biologiczny okres półtrwania oraz pole powierzchni pod krzywą stężenia tytanu w surowicy w czasie od $t=0$ do $t=\infty$. Na tym etapie badań ustalono, że toksykokinetyka jonowej formy tytanu jest liniowa i nie zależy od dawki. Najwyższy poziom ksenobiotyku zaobserwowano w nerkach w obu eksperymentach zwierzęcych. Stwierdzono także, że tytan słabo wchłania się z układu pokarmowego (dostępność biologiczna na poziomie około 3,8%), a także ulega stosunkowo szybkiej eliminacji z organizmu najprawdopodobniej z moczem. Z drugiej strony wykazano, że metal gromadzi się w niewielkich ilościach w nerkach, wątrobie, śledzionie oraz sercu po trwającym trzydzieści dni dożołądkowym podawaniu ksenobiotyku w formie rozpuszczalnej w wodzie soli.

Kolejnym zamierzeniem niniejszej pracy było zbadanie rozmieszczenia tytanu w postaci jonowej wewnątrz wątroby, nerek i śledziony. Technika, za pomocą której zrealizowano ten cel, była synchrononowa rentgenowska mikroanaliza fluorescencyjna (μ -SRXRF). Ocenie poddano efekty zarówno jednorazowego, jak i wielokrotnego narażenia na ten metal. Największą akumulację tytanu zaobserwowano w nerkach, natomiast w wątrobie i śledzionie zgromadziły się niewielkie ilości analitu. Stwierdzono zmienne rozmieszczenie metalu w częściach anatomicznych nerki w zależności od drogi wprowadzania go do organizmu oraz

długości jego trwania. W wyniku podawania szczurom soli tego metalu drogą pokarmową przez 30 dni nastąpiła jego akumulacja w korze nerki. Podobną dystrybucję analitu stwierdzono również w narządzie pobranym od zwierząt po 30 minutach od dożylnego podania cytrynianu tytanu(IV). Z kolei po 180 minutach nastąpiła migracja metalu do rdzenia nerki, co wskazuje na to, że ksenobiotyk prawdopodobnie jest usuwany wraz z moczem. Otrzymane mapy dystrybucji tytanu w próbkach wątroby uwidoczniły jego nierównomierne rozłożenie wewnątrz narządu w postaci pojedynczych punktów o wysokiej zawartości metalu. Najwyższą średnią masą powierzchniową analitu charakteryzowały się próbki wątroby pobrane od szczurów otrzymujących cytrynian tytanu(IV) drogą pokarmową przez 30 dni, co może wskazywać na stopniową akumulację ksenobiotyku. Ponadto w tym organie stwierdzono silną, dodatnią korelację pomiędzy tytanem i wapniem, co w połączeniu z kształtem punktów ich akumulacji może wskazywać na to, że powstały tam agregaty nieznanego związku chemicznego. Dodatkowo wykazano, że ten metal nie wpływa znacząco na dystrybucję wapnia, miedzi, żelaza, potasu i cynku we wszystkich analizowanych narządach.

Podsumowując, badania w przedstawionej pracy doktorskiej przyczyniły się do zdobycia wiedzy odnośnie toksykokinetyki tytanu w postaci jonowej oraz miejsc jego gromadzenia w organizmie na poziomie narządów i ich wewnętrznych struktur. Wyniki przeprowadzonych analiz wskazują, że tytan w postaci jonów ma mniejszą zdolność do akumulacji w organizmie w porównaniu z mikro- lub nanocząstkami ditlenku tytanu. Jednak biorąc pod uwagę dane uzyskane w eksperymencie z wielokrotnym, dożołądkowym podaniem rozpuszczalnej soli zawierającej badany metal, a także mnogość potencjalnych źródeł narażenia na ten ksenobiotyk, należy liczyć się z możliwością zwiększenia poziomu tytanu w organizmie. Warto jednak podkreślić, że tytan nie stanowi tak dużego zagrożenia dla zdrowia, jak inne metale (np. ołów, wanad, kobalt), tym niemniej wskazane są działania dążące do podniesienia świadomości przeciętnego człowieka na temat powszechnego narażenia na tytan, które może skutkować jego nadmierną akumulacją w organizmie. Zgodnie ze słowami Paracelsusa warto pamiętać, że „Wszystko jest trucizną i nic nie jest trucizną. Tylko dawka czyni, że dana substancja nie jest trucizną.”.