

Tallinna Reaalkool

ATROPIINI MÕJU NÄRVISÜSTEEMILE
Uurimistöo

Märt Kose

11b

Juhendaja: õp Andres Raa

Tallinn 2008

Sisukord

SISSEJUHATUS.....	4
1. ERUTUSE EDASTAMINE NÄRVISÜSTEEMIS.....	5
1.1. Ioonid rakkude intra- ja ekstratsellulaarruumis.....	5
1.2. Membraani- ja aktsioonipotentsiaalid.....	8
1.3. Sünapsid.....	9
1.4. Atsetüülkoliin ja atsetüülkoliinireseptorid.....	10
1.5. Füsioloogiast ja biokeemiast üldisemalt.....	11
2. OGAÕUN JA ATROPIIN.....	13
2.1. Ogaõun.....	13
2.1.1. Ogaõunast üldiselt.....	13
2.1.2. Ogaõuna roll ajaloos ja kultuuris.....	14
2.2. Atropiin.....	16
2.2.1. Üldine määratlus.....	16
2.2.2. Atropiini toime ja kasutamine.....	16
3. LABORATOORSED TÖÖD.....	18
3.1. Materjal ja meetodika.....	18
3.1.1. Atropiini eraldamine ogaõunast.....	18
3.1.2. Katsed atropiini ja neostigmiiniga.....	19
3.2. Tulemused ja arutelu.....	20
3.2.1. Tropaanalkaloidide eraldamine.....	20
3.2.1.1. Tulemused.....	20
3.2.1.2. Arutelu.....	20
3.2.2. Konnade püük Petnica järvest ning närvide ja lihaste eraldamine lahkamise teel.....	20
3.2.2.1. Tulemused.....	20
3.2.2.2. Arutelu.....	20
3.2.2.3. Seadusandlus.....	21
3.2.3. Katsed konna närvi ja lihasega.....	21
3.2.3.1. Tulemused.....	21

3.2.3.2. Arutelu.....	21
KOKKUVÕTE.....	23
KASUTATUD MATERJALID.....	24
LOETUD KUID TEKSTIS MITTE REFEREERITUD MATERJALID.....	25
LISA 1 Elektriimpulsi mõõtmise skeem.....	26
LISA 2 Fotod uurimistöö teemast.....	27

Sissejuhatus

Uurimistöö autor viibis augustis 2007 Serbias, Petnica rahvusvahelises teaduskeskuses. Seal viidi läbi mitmeid erinevaid praktilisi töid ning valmistati iseseisvalt lühike uurimistöö enda valitud teemal. Autor valis sealseks teemaks ogaõuna ajaloo ja füsioloogilise toime ning atropiini mõju närvisüsteemile. Antud teema on huvitanud autorit laiemalt juba pikka aega, kuid teaduslikult eelnevalt teemasse süvenetud ei olnud. Samuti tuleb igal Tallinna Reaalkooli 11. klassi õpilasel koostada vastava õppeaasta teiseks pooleks uurimistöö enda valitud teemal. Antud uurimistöö ongi valminud tänu Serbias omandatud teadmistele, isiklikule huvile antud valdkonnas ning vajadusele koostada uurimistöö koolis. Antud uurimistöö eesmärkideks oli omandada lähemat teavet ogaõuna füsioloogia, ajaloo ja üldise kasutuse kohta; omandada meetod ogaõunast atropiini eraldamiseks; püüda kinni vähemalt üks konn, keda kasutades omandada oskusi konnast närvide ja lihaste eraldamiseks ning lähemalt tutvuda närvisüsteemis informatsiooni edastamisega. Uurimistöö põhieesmärk oli tuvastada atropiini mõju elektriimpulsi edastamisele närvis ja lihases. Autor soovib tänada juhendajaid Tallinna Reaalkooli bioloogiaõpetaja Andres Raad ning Petnica rahvusvahelise teaduskeskuse töötajaid PhD Aleksander Obradovici ja Luka Mihhailovichi.

Käesolev uurimistöö koosneb kolmest peatükist. Esimene peatükk annab ülevaate närvisüsteemis informatsiooni edastamise põhimõtetest, samuti teavet füsioloogiast ja biokeemiast üldisemalt ning ka konna kasutamisest katsesubjektidena. Teavet on omandatud mitmetest trükistest, raamatutest ja entsüklopeediatest, nii paber kandjail kui veebipõhisteist.

Teises peatükis käsitletakse ogaõuna, tema füsioloogilist toimet, üldist ajaloolist ja kultuurilist tausta. Samuti räägitakse ogaõunas sisalduvast tropanalkaloidist atropiinist, mis on leidnud kasutust mitmes valdkonnas, peamiselt küll meditsiinis.

Kolmas peatükk keskendub läbi viidud laboratoorsetele töödele, atropiini eraldamisele ogaõunast, katsesubjekti, järvekonna püüdmisele, järvekonnast närvi ja lihase eraldamisele ning neil läbi viidud katsetele atropiini ja neostigmiiniga. Veel on lisatud väljavõte Eesti Vabariigi loomakaitseadusest, tõendades, et antud uurimistöö ei ole vastuolus seadusega. Kolmandas peatükis sisaldub ka arutelu laboratoorsete tööde tulemuste kohta, püüdes eelnevais peatükkides toodud informatsiooni põhjal saada teada, miks lõppresultaadid just sellised on.

1. Erutuse edastamine närvisüsteemis

1.1. Ioonid rakkude intra- ja ekstratsellulaarruumis

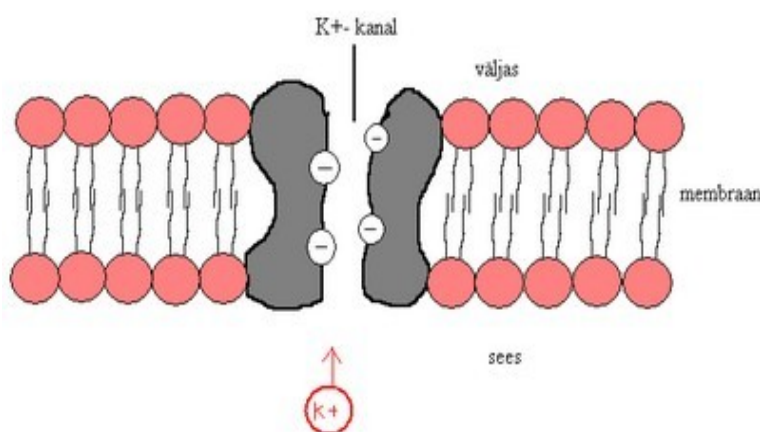
On üldteada, et organismid koosnevad rakkudest, millest paljudel on erinevad funktsioonid, näiteks lihasrakud, närvirakud jne. Rakudki erinevad üksteisest lisaks funktsioonile ka ehituselt.

Umbes poole loomse raku mahust moodustab tsütosool. Tsütosooli massist umbes 20% moodustavad valgud. Seega on tegemist pigem geeli kui vesilahusega. Tsütosooli veefaasis on lahustunud väikesed molekulid ning mis antud uurimuse seisukohast tähtsaim - anorgaanilised ioonid. Rakusisesed ioonid on alalises vahetumises raku ümritseva faasi – ekstratsellulaarruumiga. Ioonide kontsentratsioonid hoitakse ekstratsellulaarruumis üsna konstantsetena ja ka rakusisesel, intratsellulaarsetel kontsentratsioonidel on alati spetsiifilised, kuid väliskontsentratsioonidest erinevad väärtused. Arvukaim katioon välislahuses on Na^+ (145 mmol/l), raku sees on tema kontsentratsioon üle 10 korra väiksem. Arvukaim katioon intratsellulaarruumis on K^+ (155 mmol/l). (Dudel 1990: 3)

Rakku ei tohi mingil juhul vaadata staatilise moodustisena, toimub lakkamatu ainete vahetus raku mitmesuguste siseruumide vahel ning raku ja teda ümbritseva keskkonna vahel. Rakku ümbritseb membraan. Plasmamembraanid (ja teised rakumembraanid) on permeaablid mitte ainult läbi lipiidmembraani difundeeruvatele ainetele, vaid ka paljudele ioonidele, suhkrutele, aminohapetele ja nukleotiididele. Need ained lähevad läbi membraani pooride kaudu, mille moodustavad membraanis paiknevad transportvalgud. Niisugust membraanivalku läbib veega täidetud vähem kui 1 nm-se diameetriga kanal, mida mööda võivad difundeeruda väikesed molekulid. Difundeeruvad ained liiguvad läbi kanali vastavalt oma kontsentratsioonigradiendile ja kui aineosakesed on laenguga, siis sõltub nende liikumine ka membraanipotentsiaalst. Seejuures on membraani erinevad kanalid suhteliselt selektiivsed nendest läbi voolavatele molekuliliikidele. Näiteks on membraanis kaaliumi-, naatriumi- ja kaltsiumikanaleid, mis valdavalt lasevad läbi ainult sellele kanalile spetsiifilisi ioone. (Dudel: 4)

Selektiivsuse annavad kanalile tema seinu katvad laengud ja sidumiskohad, mis membraani läbivate molekulide permeatsiooni kergendavad, teiste ainete läbimineku membraanist aga välistavad. Ioonide permeatsiooniga kaasnevad elektrivoolud, mida on võimalik mõõta isegi üksikkanalil. Ilmneb aga, et ionikanalid spontaanselt ning suure sagedusega lülituvad ümber avatud ja suletud asendisse. Näiteks võib läbi K^+ -kanali registreerida umbes 2 pA amplituudiga, keskmiselt mõni millisekund kestvaid voolutõukeid. Seega voolab kanali ühe niisuguse “avanemise” ajal temast läbi mõnikümmend tuhat iooni (vt. Joonis 1.). Valkude ruumilise kuju kiireid muutusi, mille

käigus nad omandavad erinevaid konformatsiooniseisundeid, on tuvastatud röntgeni- ja massbauerikiirgusuuringute ning ka tuuma magnetresonantsi mõõtmise teel. Proteiinid on järelikult ülidünaamilised pulseerivad moodustised ja valku läbiv kanal ei ole mitte jääk veega täidetud kanal, vaid kiiresti liikuvatest molekulirühmadest ja laengutest koosnev veega täidetud labürint. (Dudel: 6)



Joonis 1. Plasmamembraani lipiid-kaksikkihti sisestunud K^+ -kanalivalgu skeem. Kanali “seinas” on fikseeritud neli laengut. Allikas: (Dudel: 6)

Niisiis võivad mitmesugused ioonid difundeeruda läbi membraanikanalite ja selle tulemusena peaksid nende sise- ja väliskontsentratsioonide erinevused kaduma. Tegelikult jäävad sise- ja väliskontsentratsioonide erinevused siiski püsima, seega peavad nii ainete difundeerimine kui ka nende teised läbi membraani transportimise protsessid olema omavahel tasakaalus. Kõigepealt ionide difusioonitasakaalust. Laenguta molekulide difusiooni käitab kontsentratsioonide diferents, kui kontsentratsioonid võrdsustuvad, ei toimu enam mingit netotransporti (netotransport – aine sisse- ja väljavoolu vahe). Laetud osakesi mõjutab lisaks kontsentratsioonide erinevusele veel elektriväli. Kui näiteks pari kontsentratsioonigradienti volab rakust välja üks K^+ , siis viib ta endaga kaasa ka ühe positiivse elementaarlanegu. Raku sisemus muutub seeläbi ühe laengu võrra negatiivsemaks ja membraanil tekib elektripinge. Niisugune pinge, kus raku sisemus on negatiivne, pidurdab mõnevõrra järgmiste K^+ -de väljavoolamist, kui K^+ -del õnnestub siiski välja voolata, suurendab see membraani laengut veelgi. K^+ -netovool seiskub, kui areneva elektrivälja mõju kompenseerib kontsentratsioonide erinevuse poolt tekitatud difusioonirõhu. Kindlasti jätkub ionide liikumine läbi kanali ka siis, ent neid liigub mõlemas suunas võrdsel arvul. Mingi iooni kontsentratsioonide diferentsile rakumembraanil vastab seega teatav tasakaalupotentsiaal, mille juures antud iooni netovool läbi membraani lakkab. (Dudel: 6)

Tõepoolest, membraanipotentsiaal esineb kõigil rakkudel; püsisoojase organismi lihasrakul on selle väärtuseks umbes -90mV . Olenevalt tingimustest ja ionide kontsentratsioonivahekordadest on rakkude membraanipotentsiaalid -120 kuni -40mV . Näiteks -90mV suurune puhke- ehk rahuipotentsiaal tähendab seda, et K^+ -de voolamine läbi membraanikanalite on enam-vähem tasakaalus. See ei üllata, kuna rahuolekus on avatud K^+ -kanaleid ülekaalukalt kõige rohkem, see tähendab et membraan on kõige läbitavam K^+ -dele. Siiski sõltub membraanipotentsiaal ka teiste ionide vooludest. (Dudel: 7)

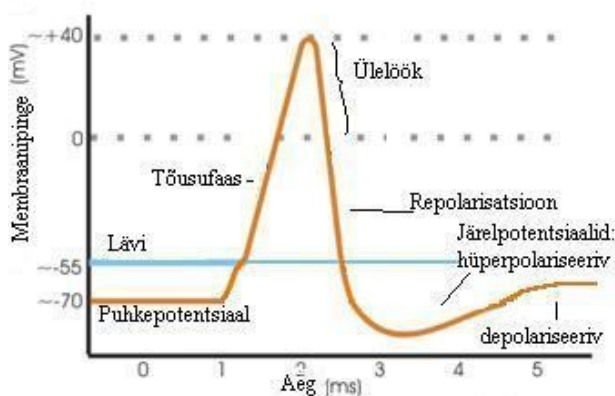
Eelnevalt kirjeldati passiivseid difusiooniprotsesse ning rakus ja rakuvälises lahuses valitsevate ionikontsentratsioonide korral tekkivad membraanipotentsiaali. Ioonide intratsellulaarsed kontsentratsioonid ei püsi stabiilsetena aga niisama. Difusiooni tagajärjel peaksid rakusisesed kontsentratsioonid, vähemalt Na^+ ja K^+ , lõpuks võrdsustuma rakuvälisega. Naturaalsete ionigradientide stabiilsus saavutatakse aktiivsete transpordiprotsessidega: membraanivalgud transpordivad ioone läbi membraani kontsentratsiooni- ja/või elektrilistele gradientidele vastupidises suunas, kasutades selleks metabolismienergiat. Tähtsaim aktiivse transpordi mehhanism on Na^+ - K^+ -pump, mis praktiliselt kõigil rakkude plasmamembraanidel viib Na^+ rakust välja ja toob K^+ rakku sisse, tagades sellega intratsellulaaruumis Na^+ väikese ning K^+ suure kontsentratsiooni. Iga saavutatud Na^+ kontsentratsioonigradienti membraanil rakendatakse rakkudes informatsiooni elektriliseks edastamiseks, aga ka teiste aktiivsetet transpordimehhanismide käigus hoidmiseks ja raku mahu reguleerimiseks. Seepärast ei üllata sugugi, et enam kui üks kolmandik rakkude energiatarvitusest kulub Na^+ - K^+ -pumba tööks, mõnedel väga aktiivsetel rakkudel aga võib selle pumba tööks kuluda kuni 70% kogu tarvitatud energiast. (Dudel: 7)

Na^+ - K^+ -transportproteiiniks on ATPaas, mis rakumembraani sisepinnal lõhustab ATP ADP-ks ja fosfaadiks. Ühelt ATP molekulilt saadud energiaga viib transportproteiin neto 3 Na^+ rakust välja ja toob samaaegselt 2 K^+ väljast rakku, järelikult eemaldab iga pumbatsükliga rakust ühe laengu. (Dudel: 7)

1.2. Membraani- ja aktsioonipotentsiaalid

Makroskoopiliselt vaadates raku ärritamine kutsub esile membraani ionide läbilaskvuse muutuse. Eristatakse kahte liiki ärritust, esiteks alaläviärritus: membraani seisundi muutus jääb kohalikuks ja lühiajaliseks, ionide sissevool rakuvälisest keskkonnast põhjustab membraanipotentsiaali mõningase vähenemise (depolarisatsioon), kuid see ei levi ärrituskohast kaugemale ning normaliseerub koos ärrituse lakkamisega. Teiseks lävi- ja üleläviärritus: aktsioonipotentsiaal tekib närviraku ärritamise tulemusel Na^+ - ja K^+ -ioonkanalite transientse avamise ja sulgumisega. Esmalt avanevad Na^+ -ioonkanalid, mille tulemusel toimub Na^+ -ioonide laviinitaoline sissevool närvirakku allapoole kontsentratsioonigradienti kuni saavutatakse Na^+ -ioonide tasakaalupotentsiaal $+30$ mV. Närvirakk depolariseerub (raku sisemembraanil tekib positiivne, välismembraanil aga negatiivne laeng). Na^+ -ioonide tasakaalupotentsiaal saavutatakse 1 millisekundi jooksul. Närviraku depolarisatsiooni saavutamisel sulguvad Na^+ -kanalid ning algab K^+ -ioonide väljavool rakust kuni saavutatakse K^+ -ioonide tasakaalupotentsiaal -75 mV, närvirakk repolariseerub ning K^+ -ioonide tasakaalupotentsiaal saavutatakse 2 ms jooksul. (Ööpik et al. 2003)

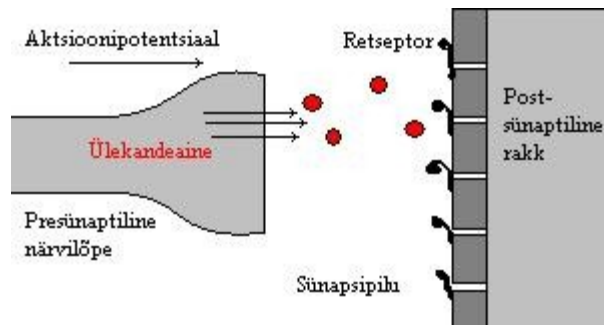
Närvirakkudes edastatakse informatsiooni aktsioonipotentsiaalidega (vt. Joonis 2.). Närviimpulss on suure kiirusega piki aksoneid leviv aktsioonipotentsiaalide laine. Toimub membraani transientne depolariseerumine, millele järgneb repolariseerumine tasakaalupotentsiaalini. Kui aksoni mingis piirkonnas tekib aktsioonipotentsiaal, siis selle piirkonnaga vahetult kulgnevas alas tekib lokaalne depolarisatsioon, mis on piisav uue aktsioonipotentsiaali algatamiseks. Signaali amplituud ei sumbu kuna kogu läbitava tee jooksul, toimub signaali pidev võimendamine. Närvirakk genereerib ühe aktsioonipotentsiaali ca iga 4 millisekundi tagant. Aktsioonipotentsiaal levib piki aksonit kiirusega kuni 100 m/s. (Dudel: 24)



Joonis 2. Aktsioonipotentsiaali kulgemine läbi aja. Allikad: (Wikipedia; Dudel: 24)

1.3. Sünapsid

Informatsiooni edasiandmine rakult rakule toimub morfoloogiliselt spetsiaalselt välja arendatud kontaktikohtades – sünapsides. Kuna üksteisega kokku puutuvate rakkude plasmamembraanid, eelkõige aga nende siseruumid ei lähe vahetult üksteiseks üle (välja arvatud paljud süntsüütiumid), ei saa ka aktsioonipotentsiaal niisama lihtsalt üle sünapsi levida. Vahele on lülitatud spetsiaalsed sünaptilise ülekande mehhanismid, kus keemiliste sünapsite puhul rakendatakse ülekandeainet ning elektrilistes sünapsides erilist voolujaotust. Keemilised sünapsid võimaldavad väga kompleksseid interaktsioone rakkude vahel ning just keemilistel sünapsitel võivad areneda spetsiifilised patoloogilised protsessid ja esmajoones just neisse sünapsitesse toimivad paljud farmakonid. (Dudel: 45)



Joonis 3. Keemilise sünaptilise ülekande skeem. Allikas: (Dudel: 45)

Joonisel näeme skeemi keemilise sünapsi tähtsamatest aspektidest. Aktsioonipotentsiaal depolariseerib närviraku presünaptilise lõpme. Seepeale väljutab närvilõpe lokaliseeritud teatava ülekandeaine (transmitteraine, ka vahendaja-aine ehk mediaatoraine) sünapsipilusse presünaptilise ja postsünaptilise raku vahel. Ülekandeaine difundeerub postsünaptilise raku plasmamembraanile, kus ühineb teda siduvate spetsiifiliste retseptoritega, mille peale membraanikanalid avanuvad. Läbi avanenud kanalite toimuvad ioonivoolud, mis mõjutavad postsünaptilise raku membraanipotentsiaali, näiteks depolariseerivad selle lävitasemeni ja vallandavad aktsioonipotentsiaali. (Dudel: 45)

1.4. Atsetüülkoliin ja atsetüülkoliiniretseptorid

Atsetüülkoliin (ACh) on üks peamistest transmitterainetest perifeerses ja kesknärvisüsteemis, ka on ta mediaatoraineks autonoomses närvisüsteemiks ning ta on ainus transmitter somaatilises närvisüsteemis. ACh kinnitub atsetüülkoliini retseptoritele, mida on kahte liiki: muskariinsed atsetüülkoliini retseptorid (mAChR) ja nikotiinsed atsetüülkoliini retseptorid (nAChR). nAChR peamiseks agonistiks¹ on lisaks atsetüülkoliinile ka nikotiin. nAChR aktiveerumisel agonisti toimet avanevad ioonikanalid ning toimub Na⁺- ning K⁺-ioonide rakkudevaheline transport. Nikotiinsetele atsetüülkoliini retseptoritele atropiin ei kinnitu. Muskariinsetele atsetüülkoliini retseptoritele mõjub muskariin rohkem kui nikotiin, mis väljendub ka nimes. mAChR on viit eri tüüpi: M₁, M₂, M₃, M₄ ja seni väheuuritud M₅, mis erinevad üksteisest paiknevuses organismis ning neil on ka erinevad agonistid ja antagonistid. Kõikides retseptorites on peamiseks agonistiks atsetüülkoliin ja antagonistiks² atropiin. (Wikipedia: Muscarinic acetylcholine receptor)

Tabel 1. Muskariinsete atsetüülkoliini retseptorite tüübid Allikas: Wikipedia

Tüüp	Funktsioon	Agonistid	Antagonistid
M ₁	Kõhu- ja süljenäärmete sekretsioon, postsünaptiline erutuspotentsiaal autonoomsetes ganglionides, KNS osa	Atsetüülkoliin, oksotremoriin, karbamüülkoliin, McNA343	Atropiin, skopolamiin, ditsükloveriin, tolterodiin
M ₂	Pulsi aeglustamine, homotroofne inhibitsioon, südamelihaste töö reguleerimine, KNS osa	Atsetüülkoliin, metakoliin, karbamüülkoliin	Atropiin, ditsükloveriin, tolterodiin, oksübutüniin
M ₃	Ühtlane lihaste kontraktsioon, endokriini ja endokriinainäärmete sekretsiooni tõstmine, KNS osa, vasodilatsioon, okserefleksi tekitamine	Atsetüülkoliin, karbamüülkoliin, oksotremoriin, pilokarpiin	Atropiin, ditsükloveriin, tolterodiin, oksübutüniin
M ₄	Liikuvuse suurendamine, KNS osa	Atsetüülkoliin, karbamüülkoliin, oksotremoriin	Atropiin, ditsükloveriin, tolterodiin, oksübutüniin

1.5. Füsioloogiast ja biokeemiast üldisemalt

Loomade ja inimeste peal teaduslike eksperimentide läbi viimine pole vist kellelegi uudiseks. Selle vajalikkust mõistavad samuti enamus. Kuidas aga täpselt käib üks katseteseeria, ja miks just sedasi, ei ole enam kaugeltki kõigile selge. Algsed katsed elusate või eluta olendite peal viidi läbi enamasti selleks, et teada saada, mis peitub sisemuses. Teadmiste avardades hakati juba uurima keerukamaid süsteeme, näiteks kuidas üks või teine asi on seotud omavahel. Aja jooksul on uudishimust välja kasvanud palju teadusharusid, antud uurimustöö käsitleb lähemalt biokeemiat ja füsioloogiat. Füsioloogia on eksperimentaalteadus, mis on võrsunud inimese ja loomade uurimisest. Organismid koosnevad rakkudest, ning mitmesugustel loomadel on need väga sarnased ning enamasti uuritakse nende talitust amööbidel, selgrootute konnade ja teiste loomade kudedel, mitte inimesel. Uurimistöö ühe katsesubjekti, veekonna (*Rana ridibunda*), närvirakud on ehituselt ja talituselt väga sarnased inimese omadele.

“Biokeemia on teadus elava keemilisest koostisest, elusorganismi keemiliste komponentide muundumistest ja nende muundumiste seostest elusorganismide struktuuride spetsiifiliste funktsioonidega.” (Vikipeedia: Biokeemia)

“Kuni 16 sajandini mõisteti füsioloogia all kogu loodusteadust, nagu nimigi ütleb. Sealhulgas oli ka arstiteadus. Tänapäevani on erinevatel aegadel iseseisvunud sellest anatoomia, biokeemia, biofüüsika jt. Kaasajal füsioloogia on väga lai teadusharu, mis haarab enda alla palju alamdistsipliine. Tavaliselt eristatakse alamvaldkondi taksonoomilisest lähtekohast e. uurimisobjektist. Näiteks taimefüsioloogia, seente füsioloogia, viiruste füsioloogia. Need ei ole väga ranged jaotused, sest süstemaatika ise oma välisele rangusele vaatamata ei ole jäik. Teiselt poolt paljud füsioloogilised printsiibid, eriti alamatel tasemetel (membraanid, organellid, rakud) on sarnased kogu elusloodusele. Füsioloogia on teadus elusorganismide funktsioonidest - kuidas nad söövad, hingavad, liiguvad ja mida nad teevad, et ellu jääda. Rohkem teaduslike terminitega väljendades on füsioloogia teadus toidust ja toitumisest, seedimisest, hingamisest, gaaside transpordist veres, tsirku-latsioonist ja südame funktsioonidest, eritamist ja erituselundite tööst, lihastest ja liikumisest jne. Surnud elusorganismil on olemas struktuurid, mis neid või teisi funktsioone täidavad; elusal loomal need struktuurid töötavad.

Füsioloogia on ka teadus nende funktsioonide regulatsioonist - kuidas need on omavahel korrelatsioonis ja integreeritud sujuvalt talitlevaks organismiks. Organites toimuv rakkude koordineeritud talitus on aluseks looma käitumuslikele võimalustele. Füsioloogia ei ole üksnes funktsioonide kirjeldamine: ta esitab ka küsimusi: miks? ja kui-das? Kuidas saab koolibri süda lüüa lennu ajal kuni 20 korda sekundis? Kuidas putkad näevad ultraviolettkiirgust? Kuidas suudavad mõned kõrbeloomad elada, omamata juurdepääsu veele?

Füsioloogia haarab palju eluslooduse organisatsioonilisi tasemeid molekulidest organismideni. See ilmneb selgelt, kui analüüsida eluslooduse hierarhilisi tasemeid rakkudest ökosüsteemideni. Iga tase on spetsiifiline uurimisvaldkond ja omab tihti spetsiifilist lähenemismetoodikat, žargooni ja kirjandust. Siiski selleks, et mõista, kuidas kõrgemad tasemed funktsioneerivad, on vajalik uurida ka alamaid tasemeid kuni aatomiteni välja. Selleks, et aru saada, kuidas loomad funktsioneerivad, peame olema tuttavad nii tema struktuuriga (anatomia) ja elementaarsete füüsikaliste ja keemiliste printsiipidega. Ühtlasi tugineb füsioloogia tugevalt füüsika ja keemia seadustele.” (Tartes 2006 : 1)

2. Ogaõun ja atropiin

2.1. Ogaõun

2.1.1. Ogaõunast üldiselt

Ogaõun on üks mürgisemaid taimi maailmas. Tema looduslik kasvukoht on Põhja-Ameerikas. Eurooplastel oli esimene kokkupuude ogaõunaga, kui Uut Maailma avastama läinud inglased leidsid huvitava ja kauni välimusega taime, ning legendi järgi keetsid omale suppi taime viljadest. Suppi esimesena maitsnud kapten Jimson koos oma kaaslastega sattusid deliiriumisse ning seejärel surid. Sellest tuleneb ka taime ingliskeelne nimi, "Jimson weed". Tänapäeval on ogaõun kardetud isegi narkomaanide seas, sest tema toime on ettearvamatu ja enamasti mitte meeldiv.

"Ogaõuna (*Datura*) perekonda kuulub küll vähe liike, kuid sellele vaatamata on ta taksonoomiliselt väga keeruline. Seda tänu paljudele sünonüümidele ja vastukäivale kirjandusele. Segadust lisab asjaolu, et sama ladinakeelset nimetust on kasutatud eri liikide puhul. Ka biogeograafiliselt on perekond kurioosne: erinevate autorite järgi leidub Põhja-Ameerika lõunaosas ja ümberkaudsetel saartel 7-9, Mehhikos 5, Hiinas 1 ning laiemalt troopilises Aasias 1 liik, lisaks üks ühine Austraaliaga. Varem peeti ogaõuna Uue Maailma perekonnaks, levikukeskusega Mehhikos. Segadust on suurendanud inimene, kes neid taimi uutele aladele on kaasa võtnud. Varasemad andmed ogaõuna kohta Euroopas pole kinnitust leidnud. Nii on Kreeka arsti Dioskoridese töös "Materia medica" (1. sajand) ogaõunana kirjeldatud taim ilmselt hoopis karumustikas. Inglise botaanikaprofessor Mabblerley arvab ogaõuna perekonda 8 liiki, eraldades omaette 5-liigilise perekonda (*Brugmansia*) inglitrompetid.

Kui Andides kasvavad inglitrompetid on rippuvate õitega puud või põõsad, siis ogaõunad on Põhja-Ameerika lõunaosa üheaastased püstise kasvuga haruneva varrega ja püstiste õitega rohttaimed. Lehed on suured, terava tipuga ja teravahambulise või lõhestunud servaga. Õied asetsevad lehekaenlas üksikult, õietupp on mitmetahulise silindri kujuga, õiekroon 5-10 cm pikkune voltis servaga lehter. Suured mitut värvi (valgest violetseni) õied avanevad alles õhtul ning neid tolmeldavad ööliblikad. Viljakupar on suur ja ogaline ning jaguneb avanemisel neljaks (Vt Lisa2). Seemned on läikivad ja mustad. " (Laansoo 1998)

Kõige laiemalt on kogu maailmas levinud harilik ogaõun (*D. stramonium*), mida kasutati eksperimentide tarbeks antud uurimustöös. Teda võib leida nii Skandinaavias, Euroopas, troopilises Ida-Aafrikas, Austraalias kui Põhja-Ameerikas, välja arvatud arktilised alad. Vaatamata oma troopilisele päritolule tunneb see liik kogu maailmas end hästi teeäärsetel, prahipaikadel, vanadel varemetel ja inimasulate läheduses. Kuigi taim

ise on ebameeldiva lõhnaga, ahvatlevad huvitavad viljad lapsi siiski neid proovima. (Laansoo 1998)

2.1.2. Ogaõuna roll ajaloo ja kultuuris

Nimi *Datura* tuleb hindukeelsest sõnast *dhât*, millega taime kutsusid röövlid ja kõrilõikajad. Indias ja Euroopas on vargad tihti kasutanud ogaõuna majarahva uimastamiseks. Indias on ogaõuna tuntud juba tuhandeid aastaid. Šiva preestrid saavutasid tema seemnete abil oraakliseisundi ning hävitava viljakusjumalanna Kali preestrid andsid teda ohverdatavatele. Usutakse, et ogaõun võrsus mediteerimise ajal hindujumala ja joovastavate uimastite isanda Šiva rinnast. Dhatur on ka Šiva teine nimi. Delfi preestrid andsid oma oraaklitele ogaõuna, et ennustamisele kaasa aidata. Prostituudid andsid ogaõuna oma klientidele, et need oleksid aktiivsemad algul, seejärel aga meelemärkuse kaotaksid, mistõttu neilt oleks lihtsam raha röövida. Ka noortele prostituutidele anti enne töö alustamist ogaõuna. Hiinlased söötsid ogaõuna pruudile pulmaõöl ja tihti on ogaõuna abil võrgutatud vastupunnivaid naisi. Roomas lisati ogaõuna veini sisse, et saavutada hallutsinogeenne seisund ja suurendada seksuaalsust. Taime on armurohuna kasutatud kõikjal.

Araabiast levis ogaõun Hispaaniasse ja sealt Lääne-Euroopa nõidade arsenal. Näiteks segati ogaõunast, tähnilisest aarumist (*Arum maculatum*) ja karumustikast nõiasalvi, mis imendus läbi naha ja limaskestade ning tekitas elavaid hallutsinatsioone. Nõiasalve määrati tihti suguelunditele, sest need imendusid hästi läbi limaskestade. Protseduur meenutab masturbatsiooni ning Mehhikos valmistataksegi rasvast ja ogaõuna seemnetest salvi, mille kasutajatel "pole meest enam vajagi". Keskaegne nõiajaht hävitas palju teavet ogaõuna kasutuse kohta. Ogaõun esindab metsikut, taltsutamatu ja agressiivset naiselikkust, mida katoliku kirik tahtis lämmatada.

Indias kasutavad Šiva kummardajad siiani kanepit ja ogaõuna üheskoos, mõlemad on Šivaga seotud pühad taimed. Ogaõuna kasutatakse tänaseni Indoneesias, Hiinas ja Aafrikas. *Ganja* (kanep) esindab naiselikkust, ogaõun mehelikkust ning üheskoos moodustavad nad täieliku, surematu terviku, esindades Šiva kosmilist ja loovad androgüünset energiat. Ogaõuna seksuaalse mõju tugevdamiseks segatakse teda kanepi, oopiumi, beetlipähkli ja vürtsidega. Segu süüakse, juuakse või manustatakse klistiirina. Õisi süüakse peenise tugevdamiseks. Nepaallased peavad ogaõuna šamaani võimsaimaks taimeks ning ohverdavad tema seemned Šivale. Ogaõuna seemnekupraid ohverdatakse Šiva kuu ajal, juulis-augustis.

Indiaanlased kasutasid ogaõuna vaimudega ühendusse astumiseks, müstilisteks lendudeks teistesse tõelisustesse või loomadeks muundumiseks, et hankida teateid kadunuilt või otsida nende hingi. Veel peeti ogaõuna indiaanlaste jõutaimeks, paljud

erinevad hõimud on osanud seda kasutada. Taime peeti ka jahirohuks, mis andis jahimeestele jõudu juurde ja peletas näljatunde. Seemneid ja lehti suitsetati armurohuna nagu tubakat, šamaanid kasutasid taime haiguste kindlakstegemiseks või “nägemiseks”. Paljudel Lõuna-Ameerika ja Põhja-Ameerika edelaosa indiaanihõimude initsiatsiooniriituses kasutatakse või kasutati vanasti ogaõuna. Seda on kasutatud ka laste karistamiseks või lapsemõrvadeks.

Ogaõuna toime sarnaneb väga karumustika omaga. Taim suurendab suguiha, lõõgastab silelihase spasme, leevendab tõhusalt astmat, on antihistamiinse toimega ja leevendab valu. Ta ei lase uinuda, kuid tekitab ajuseisundi, kus esineb unelaadseid elavaid nägemusi. Ogaõunast kasutatakse lehti ja õitsvaid võrseid, vahel ka vilju, küpseid seemneid ja võrseid. Teda müüakse standartiseeritud lehepulbrina (*Stramonii pulvis normatus*) ja homöopaatiliste preparaatidena, aianduspoodides on saadaval ka seemned. Ogaõuna kasutatakse mõningal määral hallutsinogeenina, kuid tema toime on ettearvamatu ja ohtlik ning seetõttu tuleks teda kasutada arsti järelevalve all. Kõige truuvalisemad on salvid, kuid ka need võivad põhjustada surma, eriti segus teiste taimedega. Atropiinimürgitus võib järgneda nii taime seespidisele kui välispidisele tarvitamisele. Väga suurtes annustes võib ogaõun põhjustada rahutust, hallutsinatsioone, meeltesegasust ja maaniaid, millele järgneb üleväsimustunne, südame, aju ja nägemisväime kahjustumine. (Salo 2006: 232)

2.2. Atropiin

2.2.1. Üldine määratlus

Atropiin, kuuludes antikolinergeenide hulka, on tropaanalkaloid, mida leidub mitmetes *Solanaceae* perekonna taimedes. Atropiin on kompetiivne antagonist, blokeerides muskariinsed atsetüülkoliini retseptorid atsetüülkoliini molekulidele nii, et atsetüülkoliin ei saa retseptoreid aktiveerida, seega ei avane ka vastavad ionikanalid. Üldiselt atropiin alandab kõigi parasümpateetilise närvisüsteemi poolt reguleeritavate lihaste ja näärmete "puhke- ja seedeaktiivsust". Atropiin on antikolinergiliste ainete peamine esindaja. Tropaanalkaloidide hulka kuulub ka kokaiin. (Wikipedia: Atropine)

Tropaanalkaloidide ühiseks jooneks on molekulides sisalduv tropaanrühm, mis on bitsükliline orgaaniline lämmastikühend. (Wikipedia: Tropane alkaloids)

2.2.2. Atropiini toime ja kasutamine

Atropiin ergutab esknärvisüsteemi, aktiveerib vaimset ja füüsilist tegevust, tõstatabtöövõimet ja vastupidavust. Ta lülitab südames välja liikuva närvi, mis juhib südamelöögi sagedust ja parandab juhtivust. Atropiin stimuleerib hingamist, ergutab hingamiskeskust, omab bronhe laiendavat toimet, alandab kogu hingamissüsteemi näärmete sekretsiooni. Atropiin pidurdab seedetrakti motoorset aktiivsust ja sekretsiooni peaaegu kõigis näärmetes: suljenäärmetes, seedetraktinäärmetes, kõhunäärmetes; toimib spasmolüütiliselt. Laiendab nahasooni, eriti näopiirkonnas, ning kaelapiirkonnas, ning vaatamata soonte laiendamisele, alandab higieritust, langetades higinäärmete sekretsiooni; suurtes doosides tõstab keha temperatuuri. Atropiin avardab silmapupilli, kutsub esile midriaasi, ning akkomodatsioonihalvatuse; omab tendentsi tõsta sisesilma rõhku. Atropiin imendub kiiresti seedetrakti, metaboliseerub maksas ja väljub neerude kaudu.

Atropiini sisaldavad ka mitmed ravimid, näiteks atropiinsulfaat, -tinktuur, atropiini kuivekstrakt, atropiiniküünlad "Anusol" ja "Betiol", -komplekspreparaadid "Besalol" ja "Bekarbon".

Atropiini sisaldavaid ravimeid tarvitatakse mao ja kaksteistsõrmiksoole haavandite, krooniliste gastriitide, valulise jämesoolepõletiku, spastilise kõhukinnisuse, sapipõiepõletiku, kolangiidi, sapiteede diskineesia, millega kaasnevad sapikivihaigused, neerukoolikute ravis. Atropiini antikolinergilist mõju kasutatakse psühhiaatrias, kus kasutatakse atropiini väga kõrgeid doose, mis kutsuvad esile koomaseisundeid (nn atropiinikoomateraapia). Atropiinikoomat kasutatakse pideva skisofreenia korral tekkinud terapeutilisest resistentsusest jagu saamiseks ja epileptiliste psühhoside raviks. Atropiinne deliirium avaldab ravitoimet manikaaldepresiooni ja invalütsoonsete

psühhoosidega patsientide depressiivsete seisundite teraapias. Atropiini kasutatakse anestesioloogias ennetamaks maksas lihasrelaksantide ja narkootiliste ainete efekte (südame pahadus, oksendamine, hingamishäired), süljenäärmete sekretsiooni alandamiseks, üldnarkoosi taustal tekkivate bronho- ja larüngospasmide ennetamiseks, kõrgendatud reflektorsuse tsoonis erinevate ravi- ja profülaktiliste manipulatsioonide läbiviimisel. Silma praktikas kasutatakse atropiini iriitide, iridotsikliitide, keratiitide, uveiidide ja teiste teiste haiguste ravis ja diagnostikas. Üledoseerimisel võivad tekkida toksilised ilmingud, mis on tingitud kesknärvisüsteemi erutusest. (zerde.nm.ru)

3. Laboratoorsed tööd

3.1. Materjal ja meetodika

3.1.1. Atropiini eraldamine ogaõunast

Esimesena tuli eraldada atropiin ogaõuna taime osadest. Antud laboratoorne töö viidi läbi Petnica rahusvahelise teaduskeskuse laboris augustis 2007. Mitme läbi kaalutud variandi seast valiti alljärgnev lahustitel põhinev meetod, mis on välja töötatud Alžeeria ja Prantsusmaa teadlaste poolt (J. Braz. Chem. Soc. 2006), ning kohandatud vastavalt labori võimalustele.

Esmalt koguti Petnica teaduskeskusest 500m kaugusel asuvalt jäätmaalt 150 grammi toorest taimematerjali (lehti ja õisi) 10 erinevalt taimelt, mis kuivatati kuivatis kaks tundi 60 °C juures ning järele jäi ligikaudu 30 grammi kuivatatud materjali (Vt ka Lisa 2). Seejärel peenestati taimed käsitsi ning kaaluti välja 20 grammi materjali. See pandi kolbi, lisati 30 ml ammoniaaki (25% m/m) ja 300 ml etüülatsetaati. Segu jäeti seisma toatemperatuuril suletud kaanega 24 tunniks ning segati iga tunni tagant. Seejärel eraldati vedelik tahkest materjalist ning lisati veel 300 ml etüülatsetaati. Saadud vedelik filtreeriti filterpaberiga ning aurustati alandatud rõhu all trummelaaurustajas 40 °C juures. Saadud tahke aine lahustati destilleeritud veega ning lisati väävelhapet, et luua happeline keskkond (pH 3,5). Seejärel lisati petrooleetrit ja dietüületrit, et eemaldada lipofiilne, happeline ja neutraalne materjal. Lahusele lisati ammoniaaki (25% m/m), et muuta keskkond aluseliseks ning lisati kloroformi, et eemaldada ülejäänud ebavajalikud ained. Lisati destilleeritud vett, et lahuse keskkond neutraliseerida ja kuivatati naatriumsulfaadiga. Segu aurustati alandatud rõhu all trummelaaurustajas ning sadestunud alkaloidid eemaldati anumast 5 ml kloroformiga ning jäeti toatemperatuuril aurustuma 24 tunniks keedunõusse. Lõpuks lahustati sadestunud alkaloidid destilleeritud veega ning saadi 5ml alkaloidide vesilahust. Kromatograafia teel määrati kindlaks, et segu sisaldab 95% atropiini, 3% skopolamiini ning 2% muid aineid.

Antud laboratoorse töö käigus kasutati järgmisi seadmeid:

- Trummelaaurustaja Büchi rotavapor R-200
- Reguleeritava temperatuuriga kuivatusahi
- Gaasikromatograaf Agilent 6890N GC

3.1.2. Katsed atropiini ja neostigmiiniga

Järgnevad laboratoorsed viidi läbi Petnica teaduskeskuse keemialaboris augustis 2007. Järvekonn püüti samuti augustis 2007 Petnica järvest. Juhendaja Luka Mihhailovichi juhendamisel eraldati eelnevalt dietüüleetriga surmatud konnast lahkamise teel vastavad närvid ja lihas. Katsed viidi läbi järvekonnalt (*Rana ridibunda*) eraldatud istmikunärvil (*nervus ischiadicus*), sellest hargneval sääreluunärvil (*nervus tibialis*) (edaspidi käsitletakse mõlemaid koos lihtsalt närvina) ja sellega seotud vöötlihaskoel (säärelihas). Närv koos lihasega asetati traatidele, mis asusid elektrit mittejuhtival alusel paralleelselt. Kahe viimase traadiga olid ühendatud juhtmed elektristimulaatorist, mis oli seadistatud edastama 2V pingega 10ms kestvaid elektriimpulse. Esimesese kahe traadi külge ühendati juhtmetega ostsillograaf (vt joonis LISA1), et mõõta aktsioonipotentsiaalide kulgemist. Enne katseid tilgutati närvile ja lihasele füsioloogilist soolalahust (8,6g NaCl, 0,3g KCl, 0,33g CaCl₂, 1l H₂O kohta) ning lasti sellel 3 min seista enne esimeste katsete tegemist, et tagada konna närvile ja lihasele sobiv füsioloogiline keskkond. Esimene katseseeria viidi läbi närvi normaalses olekus. Elektristimulaatorist edastati 20 2V tugevust, 10ms kestvat impulssi, iga impulsi edastamise järel registreeriti ostsillograafiga närvist väljunud signaali tugevuse väärtus. Järgmisena tilgutati lihasele ning närvile atropiinilahust ning lasti sellel 5 min toimida. Seejärel edastati jälle 20 2V tugevust, 10ms kestvusega elektriimpulsi ning registreeriti ostsillograafiga väljunud signaali tugevuse väärtus. Peale teist katseseeriat tilgutati lihasele ja närvile esiteks füsioloogilist lahust, lasti sellel 3 min mõjuda ning seejärel tilgutati neostigmiini ning lasti sellel 3min mõjuda. Jällegi edastati 20 elektriimpulsi ning registreeriti ostsillograafiga närvist väljunud elektriimpulsi tugevus.

Antud laboratoorse töö käigus kasutati järgmisi seadmeid:

- Ostsillograaf Tektronix TDS 2012B
- Elektristimulaator, reguleeritud edastama 10ms kestvaid 2V tugevusi impulsse
- Ridva otsa kinnitatud kahv konna püügiks

3.2. Tulemused ja arutelu

3.2.1. Tropaanalkaloidide eraldamine

3.2.1.1. Tulemused

Valitud meetodiga eraldati alkaloidide ligikaudu 25mg 100g kuivatatud taimematerjali kohta.

3.2.1.2. Arutelu

Brasiilia keemiaseltsi väljaandes avaldatud meetodiga eraldasid artikli autorid Alžeerias kasvavateelt *Datura stramoniumi* taimedelt ligikaudu 200mg alkaloidide 100g kuivatatud taimematerjali kohta (J. Braz. Chem. Soc., 2006), mis on 8 korda rohkem, kui uurimistöö autoril õnnestus saavutada.

Autori arvates oli see tõenäoliselt tingitud asjaolust, et kogutud taimed ei olnud potentsiaalselt kõige alkaloidirikkaimas kasvustaadiumis. Põhjuseks võib olla ka lihtsalt erinevus Alžeeria ja Serbia *Datura stramoniumi* populatsioonides.

Samas saab kinnitada, et alkaloidide eraldamine siiski üldjoontes õnnestus, mis tõestab, et Petnica teaduskeskuse lähistel kasvavad ogaõuna taimed sisaldavad neid. Samuti omastas uurimistöö autor vastava meetodika nii teoreetiliselt kui ka praktiliselt.

3.2.2. Konnade püük Petnica järvest ning närvide ja lihaste eraldamine lahkamise teel

3.2.2.1. Tulemused

Petnica järvest püüti üks järvekonn (*Rana ridibunda*), kellelt eraldati lahkamise teel üks istmikunärv (*nervus ischiadicus*), sellest hargnev sääreluunärv (*nervus tibialis*) ja sellega seotud vöötlihaskude (säärelihas).

3.2.2.2. Arutelu

Atropiini mõju testimiseks oli tarvis püüda konni, et neilt eraldada vastavad närvid ning lihas, mille peal katseid läbi viia. Konnade püük toimus seisva veega

Petnica paisjärves, mis asus pika ajaloo teaduskeskuse kõrval (Vt ka Lisa 2). Püügivahendiks oli ridva otsas olev kahv. Et püük toimus suve lõpus, ning eelnevalt oli teaduskeskuses olnud kümneid praktikume, kus kasutati samuti konni erinevates katsetes, tõdes uurimistöö autor loodusliku valiku toimimist. Järve olid jäänud suured ja tugevad konnad, nõrku ja noori peaaegu et ei esinenud, sest nad olid katsete tarvis ära püütud. Samuti oli märgata, et suuremad konnad eemaldusid kiirelt, kui neile kahvaga läheneda. Loodusliku valiku teooria lühidalt öelduna on, et tugevam ja targem jääb ellu.

3.2.2.3. Seadusandlus

Eesti Vabariigi loomakaitseseaduse § 34. ütleb, et “(3) Loomkatse ei ole looma tapmine, hukkamine või märgistamine käesolevas seaduses sätestatud lubatud vahendiga ja meetodil.” Seega peale konna eetriga surmamist toimunud närvi eraldamine ei lähe seaduse järgi loomkatse alla ning seaduse vastu uurimistöö käigus ei eksitud. Samuti tasub märkida, et katsed konnaga viidi läbi Serbia riigi territooriumil, kus ei kehti Eesti Vabariigi seadused.

3.2.3. Katsed konna närvi ja lihasega

3.2.3.1. Tulemused

Normaalolekus närvis edastatud närviimpulsite tugevuseks mõõdeti $66,3 \pm 3,7$ mV. Atropiiniga mõjutatud närvis edastatud närviimpulsite tugevuseks mõõdeti $31,1 \pm 5,1$ mV. Neostigmiiniga mõjutatud närvis mõõdeti närviimpulsite tugevuseks $26,8 \pm 2,8$ mV.

3.2.3.2. Arutelu

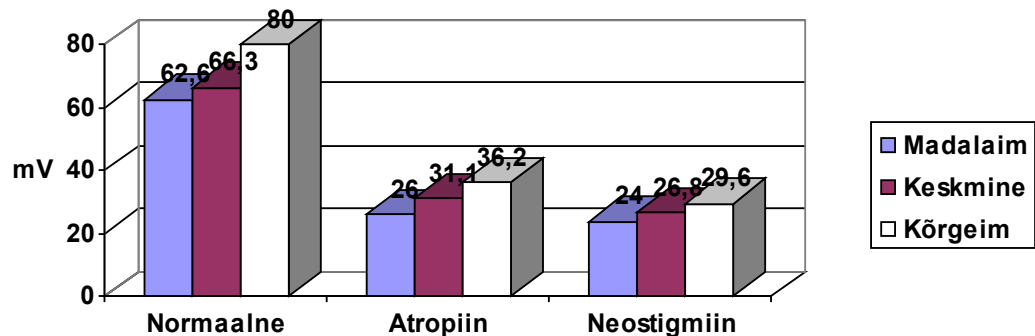
Esimene katseseeria viidi läbi närvi ja lihasega, millele oli tilgutatud ainult füsioloogilist lahust, et tagada närville ja lihasele sobiv füsioloogiline keskkond. Katseseeria andis kontrolltulemuse, millega hiljem atropiini ja neostigmiiniga mõjutatud närvi edastatud impulse võrrelda. Atropiini lisamise järel vähenes stimuleeritavast närvist ja lihasest tulev signaal märgatavalt, ligikaudu kaks korda (vt Tabel 2). Atropiin on antikolinergeen, mis tähendab, et ta kinnitub atsetüülkoliini retseptoritele ning blokeerib need nendele retseptoritele kinnituvale transmitterainele, atsetüülkoliinile. Atsetüülkoliin on transmitteriks keemilises sünapsis, mis edastab närvirakkude vahel erutust kindlas suunas. Atsetüülkoliini ülesandeks on avada postsünaptilises rakusioonikanalid, mille kaudu presünaptilisest rakust pärinevad ioonid sisenevad

postsünaptilisse rakku, depolariseerivad selle lävitasemeni ning vallandavad seal lõpuks aktsioonipotentsiaali. Kui aga osa retseptoreist on blokeeritud retseptori antagonisti, antud juhul atropiini poolt, siis avaneb vähem ioonikanaleid, mille tõttu depolarisatsioon lävitasemeni kestab kauem ning närviimpulss levib aeglasemalt ning nõrgemalt ning kui enamus retseptoreid on blokeeritud, võib sumbuda alaläviärritusena.

Atropiin on antagonistiks muskariinsetes atsetüülkoliini retseptorites, mis üldiselt vastutavad üldise kesknärvisüsteemi töö, sülje- ja kõhunäärmete sekretsiooni, südamerütmi aeglustamise, silma akkomodatsiooni (silma lääts regulatsioon kujutise teravustamiseks), vasodilatsiooni, silelihaste kontraktsiooni ning okserefleksi esilekutsumise eest, lisaks ka mõned muud protsessid, kuid neis vähemal määral. Järelikult pärsib atropiin neid kõiki protsesse. Seda kinnitab ka eelnevalt peatükis 2.2.2. toodud informatsioon, kus on kirjeldatud atropiini füsioloogilist toimet.

Neostigmiin on koliinesteraasi (atsetüülkoliini lagundav ensüüm) inhibiitor, pärssides sünaptilise atsetüülkoliini lagundamist ja suurendades atsetüülkoliini hulka, mis vastavate retseptoriteni jõuab. Neostigmiini kasutatakse mõnikord atropiinimürgituse vastu tema pulssi alandava toime tõttu. (Wikipedia: Neostigmine) Neostigmiin küll suurendab atsetüülkoliini hulka sünaptilises, aga ta ei vabasta blokeerunud atsetüülkoliiniretseptoreid, seetõttu tundus huvitav proovida, kas ta taastab esialgse erutuse tugevuse. Katsed näitasid, et ta hoopis vähendas seda, mis on väga ootamatu. Põhjused on ebaselged, tõenäoliselt oli tegu konkreetsest närvist ka lihast tuleneva probleemiga.

Tabel 2. Elektriimpulsite tugevused



Kokkuvõte

Töö käigus omandati teadmisi närvisüsteemi üldise talituse kohta ning täpsemalt erutuse edastamisega seotud protsesside kohta. Samuti tutvuti ogaõuna, tema füsioloogilise toime ja ajaloolise taustaga. Selgus, et atropiini eraldamine ogaõunast Brasiilia keemiaseltsi ajakirjas avaldatud lahustite meetodiga on küll võimalik, ent eraldatud kogus oli ligi kaheksa korda väiksem oodatust, ilmselt tänu ogaõuna taimede mitte kõige alkaloidrikkaimale kasvustaadiumile. Samuti selgus, et looduslik valik Petnica järve konnade seas toimib efektiivselt. Katsed närvi ja lihasega näitasid, et atropiiniga närvi mõjutamise tagajärjel väheneb edastatud elektriimpulsi tugevus oodatult ligi kaks korda, ning peale neostigmiiniga mõjutamist vähenes veelgi mõnevõrra, mis on vägagi üllatav tulemus, sest neostigmiin koliini esteraasi inhibiitorina peaks suurendama aktsioonipotentsiaali abil informatsiooni edastamise kiirust ja eeldatavalt ka tugevust. Samuti analüüsiti saadud tulemusi, kasutades eelnevalt omandatud teadmisi nii atropiini, tema füsioloogilise toime kui ka närvisüsteemis informatsiooni edastamise kohta. Täiendavad katsed on vajalikud, kusjuures konnade hulka, kellelt närve ja lihaseid eraldada, tuleb suurendada, samuti varieeruvust konnade vahel. Samuti tasub kaaluda erinevate meetodite katsetamist ogaõunast atropiini eraldamiseks.

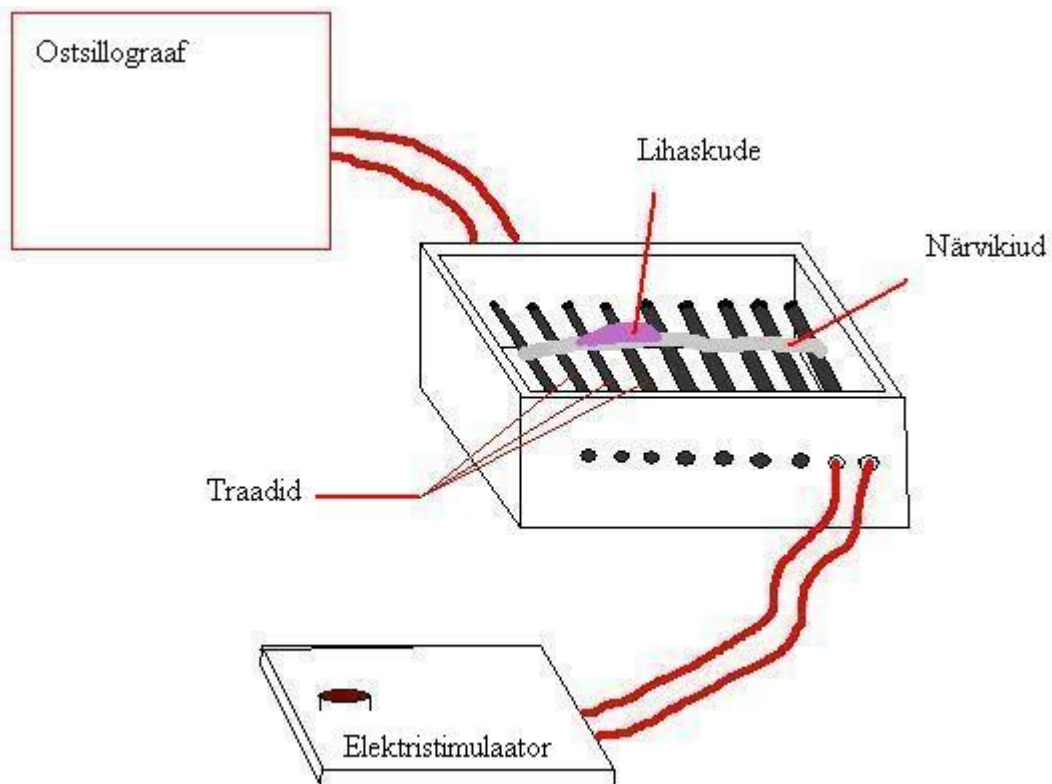
Kasutatud materjalid

1. Djilani, A., Legseir, B., Soulimani, R., Dicko, A., Younos, C. (2006) New extraction method for alkaloids. –Journal of the Brazilian Chemical Society vol 17. no 3.
2. Интернет офис НПО "СЕРДЕ", энциклопедия лекарственных трав.
<http://www.zerde.nm.ru/krasavka.htm>
- Laansoo, U. (1998) Kas ogaõun on õun? –Horisont, nr. 1-1998
3. Loomakaitseadus (RT I 2001, 93, 566) § 34
4. Nienstedt, W., Hänninen, O., Arstila, A., Björkqvist, S-E. (2007) Inimese füsioloogia ja anatoomia. Medicina, Tallinn
5. Piippo, S., Salo, U. (2006) Meelte ja tunnete taimed. Werner Söderström Osakeyhtiö, Helsinki
6. Schmidt, R. F., Thews, G. (1997) Inimese füsioloogia, Tartu
7. Tartes, U.(2006) Loomade ökofüsioloogia loengud, Sissejuhatus.
<http://www.zbi.ee/alo/loengud/pdf/sissejuhatus.pdf>
8. Ööpik, V., Medijainen, L., Timpmann, S. (2003) Närvisüsteemi üldine ehitus ja struktuur. Kättesaadav: <http://www.ut.ee/KK/spfysiol/narvisysteem.html>
9. Vikipeedia: Biokeemia. <http://et.wikipedia.org/wiki/Biokeemia>
10. Wikipedia:
 - 10.1. Muscarinic acetylcholine receptor
http://en.wikipedia.org/wiki/Muscarinic_acetylcholine_receptor
 - 10.2. Atropine
<http://en.wikipedia.org/wiki/Atropine>
 - 10.3. Neostigmine
<http://en.wikipedia.org/wiki/Neostigmine>

Loetud kuid tekstis mitte refereeritud materjalid

11. Datura FAQ (1998) Erowid.com
http://www.erowid.org/plants/datura/datura_faq.shtml
12. Datura Extractions and Effect (2002) Erowid.com
<http://www.erowid.org/experiences/exp.php?ID=11686>
13. Goodsell, D. S. (2005) Acetylcholine receptor.
http://www.pdb.org/pdb/static.do?p=education_discussion/molecule_of_the_month/pdb_71_1.html
14. Heath, A. J. (2002) Monograph on atropine. International programme on chemical safety evaluation.
15. Jaakma, Ü. (2006) Lisamaterjale füsioloogia laboratoorsete tööde kohta. Erutuvad koed. Konna süda ja vereringe Kättesaadav: <http://www.eau.ee/~yjaakma/fysviited.php>
15. Kiili, J. (1996) Kahepaiksed ja roomajad. Tallinna Pedagoogikaülikool, Tallinn
16. Mänd, R. (1998) Elukunstnikud. Huma, Tallinn
17. Zilmer, M., Karelson, E., Vihalemm, T. (2001) Meditsiiniline biokeemia I. Biokeemia insituut, Tartu
18. Ringer's solution. <http://www.whonamedit.com/synd.cfm/2119.html>
19. Wikipedia:
 - 19.1. Acetylcholine
<http://en.wikipedia.org/wiki/Acetylcholine>
 - 19.2. Acetylcholine receptor
http://en.wikipedia.org/wiki/Acetylcholine_receptor
 - 19.3. Action potential
http://en.wikipedia.org/wiki/Action_potential
 - 19.4. Agonist
<http://en.wikipedia.org/wiki/Agonist>
 - 19.5. Anticholinergic toxidrome
http://en.wikipedia.org/wiki/Toxidrome#Anticholinergic_toxidrome
 - 19.6. Chemical synapse
http://en.wikipedia.org/wiki/Chemical_synapse
 - 19.7. Choline acetyltransferase
http://en.wikipedia.org/wiki/Choline_acetyltransferase
 - 19.8. Inverse agonist
http://en.wikipedia.org/wiki/Inverse_agonist
 - 19.9. Receptor antagonist
http://en.wikipedia.org/wiki/Receptor_antagonist

Lisa 1 Elektriimpulsite mõõtmise skeem (Koostanud Märt Kose)



Lisa 2 Fotod uurimistöö teematikaga



Datura stramonium, avanenud "õun" detsember 2007, erakogu



Taimematerjali kuivatamiseks kasutatud ahi, august 2007, erakogu



Labor, kus laboratoorsed tööd läbi viidi, august 2007, erakogu



Petnica järv, kust püüti katsesubjekt järvekonn, taamal on näha osa Petnica teaduskeskuse tuledest, detsember 2007, erakogu