

615.9/547.288.2-1.173)-092.9

TOXICITA DICYKLOHEXYLAMIN NITRITU U POKUSNÝCH ZVÍŘAT

Podplukovník MUDr. Miroslav KREJCAR, major MUDr. Antonín JAKL, major MUDr. Vratislav HRDINA
tech. spolupráce R. TÁBORSKÁ, O. RENČÍN — Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav JEvP

Dicyklohexylaminnitrit (Dichan, VPI, Vapour Phase Inhibitor, DCHN) je jedním z vypařovacích antikorozivních prostředků, vhodných k ochraně kovových součástí strojů a bojové techniky. Používá se jej tím způsobem, že se kovové součásti balí do papíru, jehož vnitřní strana je opatřena povlakem DCHN. Ochranný papír má mít nejméně 11 g DCHN na m². Za těchto podmínek chrání spolehlivě 1—2 roky.

Podle zpráv z literatury je toxicita této látky poměrně malá (1, 2, 4). Řádově se podobá dusitanu sodnému, kterého se používá beze škod na

zdraví jako konzervačního prostředku při zpracovávání masa. Tenze par DCHN je nízká. Dýchací cesty není nutno proti nim chránit, protože množství vytvořených par, které by bylo možno vdechnout, je prakticky zanedbatelné. Teprve po déle trvající inhalaci může DCHN působit mírné podráždění nosu a hltanu. Určité nebezpečí spočívá v možnosti vdechnutí substance, která se při manipulaci snadno rozptyluje ve vzduchu. Při práci se substancí nebo při postřikování předmětů roztokem je proto třeba použít ochranné masky.

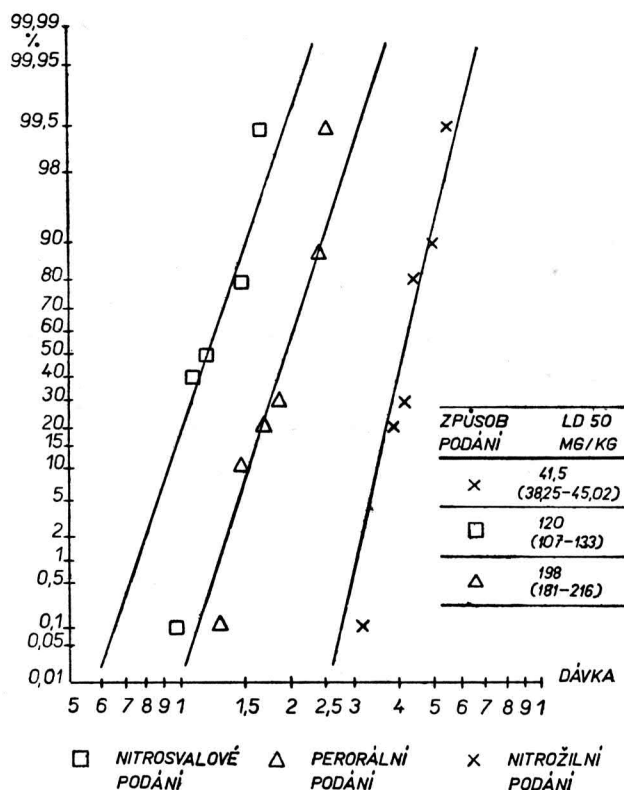
V pokusech na psech nebylo zjištěno ovlivnění dechu, krevního tlaku a pulsové frekvence. Nejsou známy ani údaje o možné kumulaci této látky. Kůži DCHN nedráždí a ve zjistitelném množství se kůží neabsorbuje.

Úkolem práce bylo stanovit toxicitu DCHN u pokusných zvířat při různém způsobu podání. Hlavní důraz byl položen na inhalační a perorální podání, protože tyto brány vstupu přicházejí při praktickém použití látky jako antikorozivního prostředku nejvíce v úvahu. Byla stanovena akutní toxicita DCHN u bílých myší při nitrožilním, nitrosvalovém a perorálním podání vodního roztoku a akutní inhalační toxicita aerosolu DCHN v propylenglykolu. U krys jsme sledovali i subakutní inhalační toxicitu par DCHN a jeho subakutní toxicitu při perorálním podávání. Histologické vyšetření provedl pplk. dr. Pospíšil.

I. Akutní toxicita dicyklohexylaminnitritu

Metodika

Akutní toxicita stanovena na bílých myškách váhy 19–28 g. Pro nitrožilní podání použito 1%



Graf 1

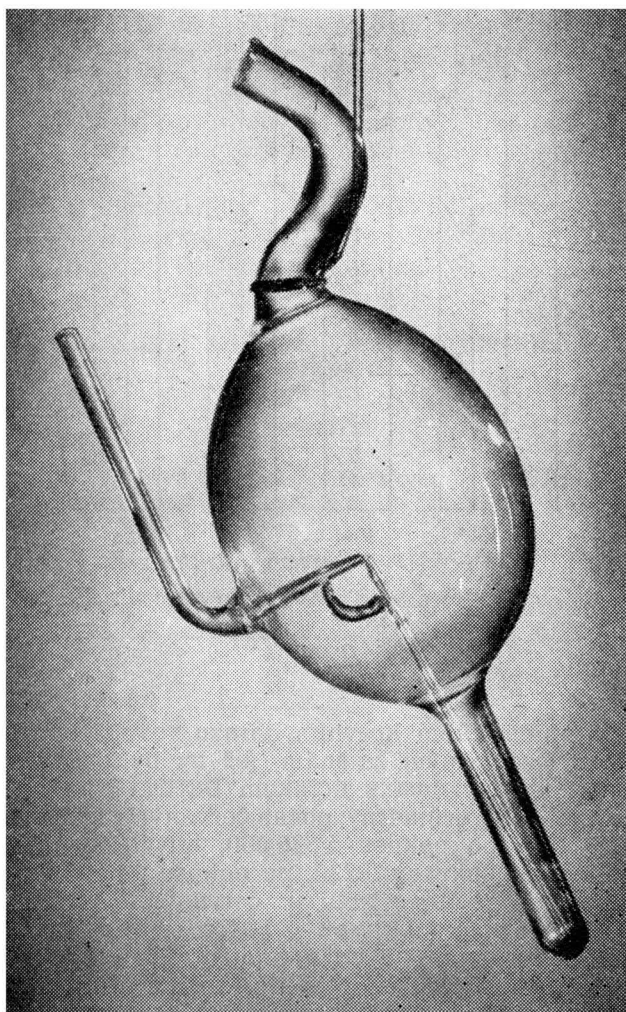
vodního roztoku, pro nitrosvalové 2% vodního roztoku. U perorálních otrav podáván 2% vodní roztok DCHN žaludeční sondou. Hodnoceno přežití do 24 hodin. LD 50 vypočtena metodou podle Litchfield-Wilcoxonova v Rothově úpravě.

Při stanovení akutní inhalační toxicity jsme použili skleněného zvonu, obsahu 25 l, v němž byl na gumové hadici od vrcholu zavěšen asi ve výši 15 cm nad podložkou skleněný nebulizér.

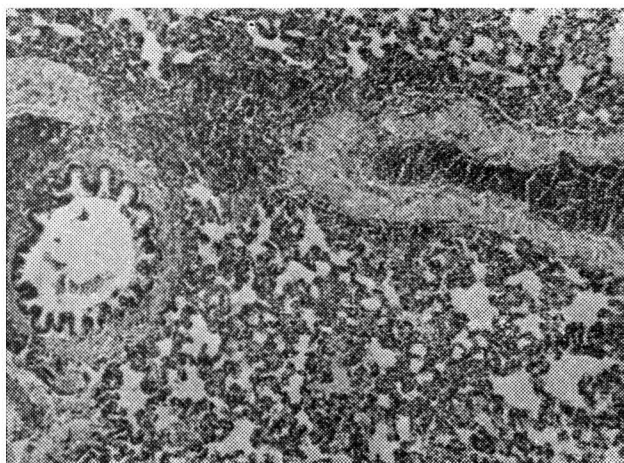
Volně na dně zvonu bylo umístěno 20 myšek. K tvorbě aerosolu bylo použito 5% roztoku DCHN v propylenglykolu. Tento roztok se rozpítlil kvantitativně, po rozprášení nezůstával žádný zbytek substance na stěnách nádoby. Byla vytvořena hustá homogenní mlha v celém prostoru zvonu. Dolní hrana zvonu byla zvednuta asi 3 mm nad podložku, takže aerosol mohl uniknout podle celého dolního okraje do digestoře. Myšky byly umístěny ve zvonu s aerosolem celkem po dobu 480 minut. Expozice byla přerušena pouze čtyřmi krátkými přestávkami, během nichž byl doplněn roztok DCHN v nebulizéru. Koncentrace DCHN v aerosolu činila 267 mg/m³ vzduchu (použitý průtok vzduchu 16 l/min., spotřeba DCHN 2050 mg). Za pět dní po expozici byly myšky utráceny a jejich orgány odebrány k histologickému vyšetření.

Výsledky a hodnocení

Dosažené hodnoty LD 50 při akutním nitrožilním, nitrosvalovém a perorálním podání vodního roztoku DCHN zachycuje graf 1.



Obrázek 1a



Obrázek 1 — Plíce: akutní překrvení velkých cév a sept, deskvamované epitelie v lumen bronchu. Malé zvětšení. Hematoxylin-eosin.

Akutní inhalační toxicita

Pobyt myšek v aerosolu 5% propylenglykolového roztoku DCHN po dobu 480 minut (délka pracovního dne) nezpůsobil žádné toxické příznaky. Myšky se chovaly zcela normálně a přežívaly. Při tom nebylo možno vyloučit i ingesci určité části látky olizováním srsti s ulpělými drobnými kapičkami. Zjištěné histologické změny na plicích dokumentuje obr. 1.

Na slezině byla patrna pouze lehká aktivace pulpy, na játrech a ledvinách velmi slabé překrvení parenchymu bez degenerativních změn. Histologický nález na těchto orgánech se prakticky nelišil od kontrol. Z nálezů vyplývá, že bylo zachyceno pouze nepatrné poškození plic, tj. orgánu, na který látka přímo působila.

II. Subakutní inhalační toxicita dicyklohexylamininitritu

Tato část pokusů měla prověřit nebezpečí intoxikace v okolí předmětů chráněných DCHN a stanovit aspoň přibližně stupeň odpařování DCHN z antikorozivních nátěrů.

Metodika

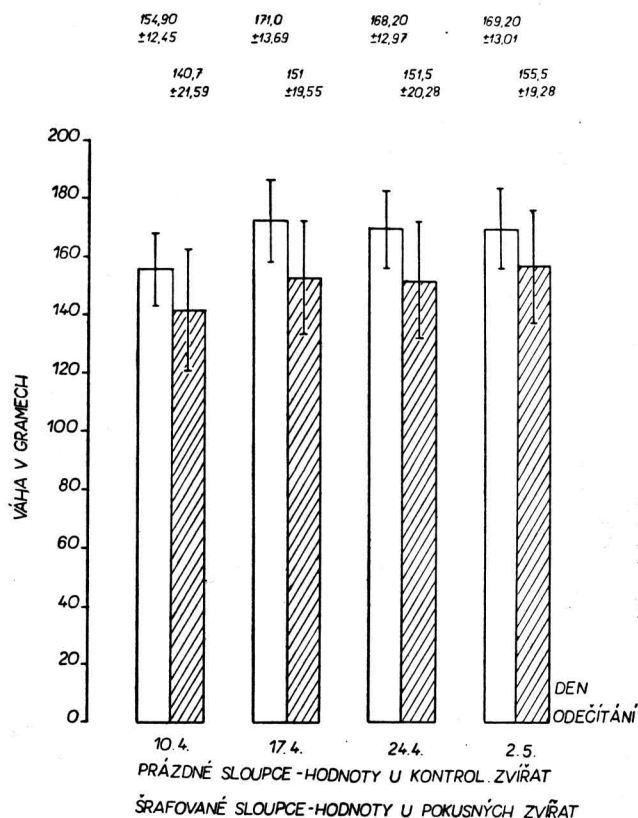
Na vnitřní stěně oboustranně otevřeného válce obsahu 500 ml a průměru 5,5 cm bylo rozprostřeno 100 mg DCHN v alkoholickém roztoku a alkohol odpařen, takže substance DCHN utvořila na stěně válce souvislý povlak (hustota povlaku DCHN byla přibližně 1,75krát vyšší než požadované minimum 11 g DCHN/m²). K takto připravovanému válci připojen hadicí velký exikátor s 10 krysami. Celý systém prodouván vzduchem o konstantním průtoku 5 l/min. ve směru skleněný válec-exsikátor s krysami denně po dobu 60 minut. Celková expozice trvala 21 dní. Tak bylo dosaženo toho, že se krysy po tuto dobu pohybovaly v atmosféře par DCHN, strhávaných při prodouvání z vnitřního povrchu skleněného

válce. Během expozice sledován jejich klinický stav, váha a krevní obraz. Mimo pokus chovány krysy v obvyklém prostředí ve viváriu. Po 21 dnech byly krysy utraceny a provedeno histologické vyšetření. Zbytek DCHN, který zůstal po této době na stěnách válce, byl rozpuštěn v alkoholu a odparek zvážen.

Výsledky a hodnocení

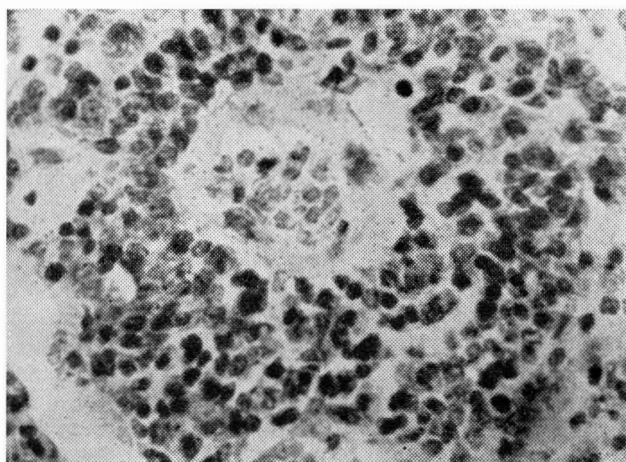
Žádné z pokusných zvířat neuhynulo. Během celého pokusu se krysy chovaly jako zcela normální zvířata (pohyblivost, vzhled, dýchání, přijímání potravy). Průměrná váha se zvýšila během doby expozice z původních 140 g na 155 g, což odpovídá přírůstku váhy ostatních krys ve viváriu.

SUBAKUTNÍ INHALAČNÍ OTRAVA DICYKLOHEXYLAMININITRITEM U KRYŠ



Graf 2

V numerickém krevním obraze rovněž nedošlo k podstatným změnám, jež by bylo možno uvést v souvislost s účinkem DCHN. Před pokusem činil průměrný počet červených krvinek 4,790 000, po pokusu 5,330 000, bílých krvinek bylo před pokusem 9220, po pokusu 14 140. Pozorované rozdíly jsou u červených krvinek v mezích počítací chyby, u bílých se analogické zvýšení projevilo i u zvířat kontrolních a je v mezích hodnot uváděných v literatuře pro normální krysy (5). Změny v počtu bílých krvinek nelze klást v souvislost s působením par DCHN i z toho důvodu, poněvadž jejich celkové množství, kte-



Obrázek 2 — Plice: plášťovitý infiltrát kolem menší artérie, složený převážně z pseudoeosinofilních leukocytů a lymfocytů. Střední zvětšení. Hematoxylin-eosin.

ré se během 21denního prodávání odpařilo, činilo jenom 10 mg, tj. 10 % celkového množství použitého DCHN.

Zjištěné histologické změny na plicích zachycuje obr. 2. Změny stejného charakteru, ale o něco menšího rozsahu, byly nalezeny i u krys kontrolních. Účinek DCHN tedy zřejmě navazoval na předchozí chronický zánět.

Na ostatních vyšetřovaných orgánech (játra, slezina, ledviny) nebyly nalezeny žádné podstatné změny, které by bylo možno spojovat s působením par DCHN. Stejně jako u akutní inhalační otravy vyvolaly tedy páry DCHN i v tomto případě mírné poškození pouze při přímém účinku na plicní parenchym.

III. Subakutní perorální toxicita dicyklohexylaminnitritu

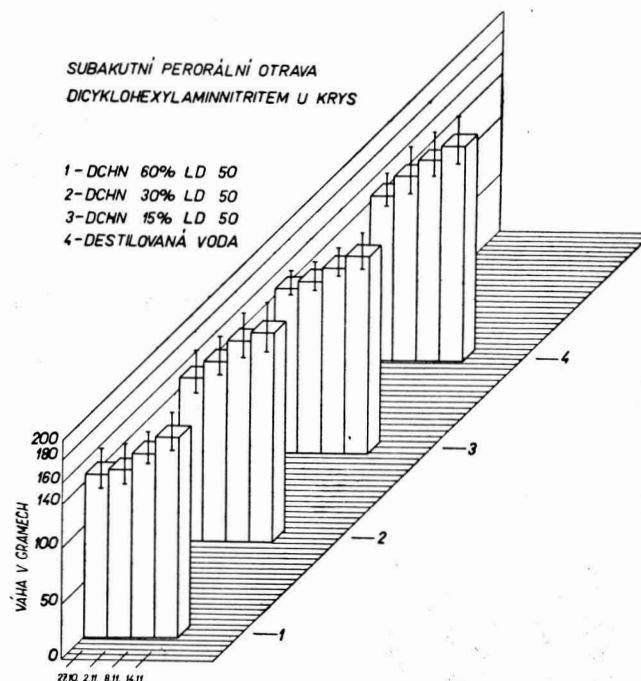
Metodika

Použito čtyř skupin po 10 krysách obojího pohlaví (v každé skupině vždy 50 % samců a 50 %

samic), váhy 120—180 g. Třem pokusným skupinám podáván ob den kuličkovou sondou 5% roztok DCHN v destilované vodě. Kontrolní čtvrté skupině podávána ve stejných časových intervalech jen destilovaná voda. V jednotlivých pokusných skupinách bylo použito dávek odvozených z hodnoty LD 50, zjištěné při akutní perorální otravě u myši. V první skupině činila tato dávka 120 mg/kg (60 % LD 50), ve druhé 60 mg/kg (30 % LD 50) a ve třetí 30 mg/kg (15 % LD 50). U všech krys sledována jednou za týden váha, ve skupině I, III a IV kontrolován ve stejných intervalech numerický krevní obraz. Pokus probíhal 21 dní. Po této době byly krysy utraceny a provedeno histologické vyšetření.

Výsledky a hodnocení

V první pokusné skupině uhynuly 3 krysy (33 %) po třetí dávce DCHN. Ostatní zvířata pře-



Graf 3

Tabulka 1. „Viv perorálně podávaného DCHN na krevní obraz krys“

Dicyklohexylaminnitrit	Průměrný počet bílých a červených krvinek se směrodatnou odchylkou			
	před pokusem	za 1 týden	za 2 týdny	za 3 týdny
120 mg/kg	18 250 ± 2 717 5,326 000 ± 360 000	9 160 ± 2 537 5,879 000 ± 463 500	16 000 ± 5 088 5,992 500 ± 679 000	17 550 ± 4 881 6,627 500 ± 668 800
30 mg/kg	18 580 ± 2 241 5,554 000 ± 403 000	11 010 ± 3 569 5,574 000 ± 449 500	16 533 ± 5 353 6,584 000 ± 491 100	16 000 ± 2 523 5,920 000 ± 459 900
destilovaná voda	11 640 ± 2 558 5,092 000 ± 574 100	13 780 ± 6 468 5,056 000 ± 295 100	16 966 ± 4 663 5,222 000 ± 596 100	15 962 ± 4 125 5,365 000 ± 590 900

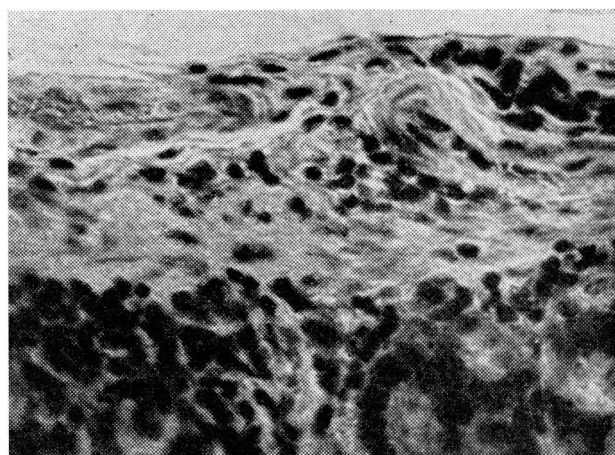
žila. Během celého pokusu se chovala normálně (pohyblivost, celkový vzhled, dýchání, příjem potravy).

Ve všech pokusných skupinách došlo prakticky ke stejnému zvýšení váhy.

Nepatrný rozdíl mezi pokusnými a kontrolními krysami není statisticky průkazný.

Toxickému účinku DCHN v první skupině (dávka 120 mg/kg) odpovídá i zjištěná změna v počtu bílých krvinek. Po týdenním podávání DCHN došlo zde k poklesu průměrného počtu leukocytů, který je ve srovnání s výchozí hodnotou statisticky významný. Rozdíl proti kontrolám je však nesignifikantní. Tento pokles se do konce pokusu prakticky vyrovnal.

Pozorované rozdíly v počtu červených krvinek jsou v mezích počítací chyby. Analogický pokles



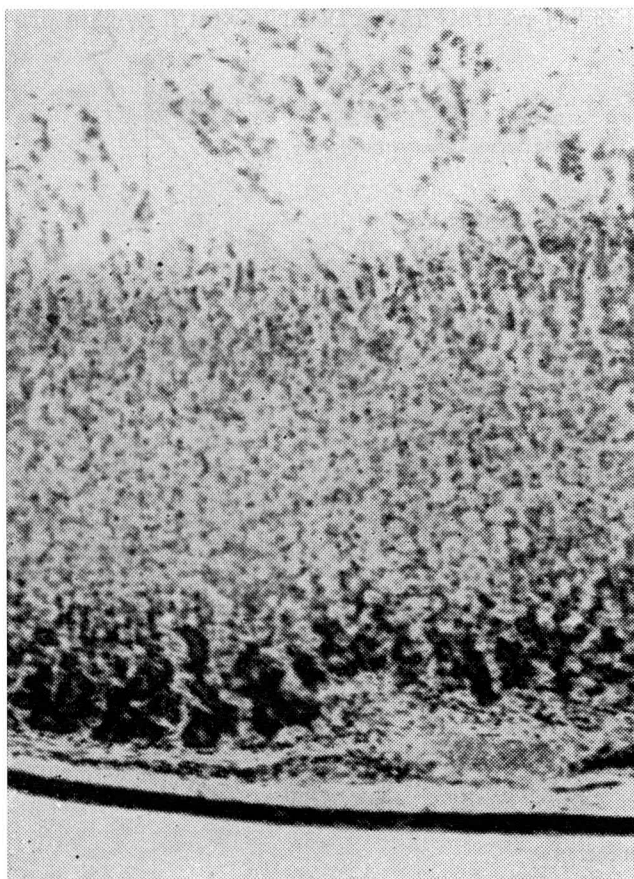
Obr. 4 — Vliv perorálně podávaného DCHN na krevní obraz krys.

pouze o něco menším rozsahem změn. Na ostatních orgánech, které nebyly v přímém styku s látkou, byl nálezn negativní.

Histologický nálezn u tří uhynulých krys první skupiny se prakticky nelišil ani od nálezu u ostatních krys téže skupiny, ani od zvířat skupiny druhé a třetí.

Souhrn a závěr

1. Byla stanovena akutní toxicita dicyklohexylamininitritu u myši. Hodnota LD 50 podle Litchfielda-Wilcoxonova činí při nitrožilním podání 41,5 mg/kg (38,25—45,02), při nitrosvalovém 120 mg/kg (107—133) a při perorálním 198 mg/kg (181—216). Inhalace 5% propylenglykolového roztoku DCHN ve formě aerosolu nezpůsobila u myši žádné projevy otravy při pobytu zvířat v atmosféře s koncentrací 267 mg/m³ vzduchu po dobu 8 hodin [pracovní den].
2. Subakutní inhalační otrava parami DCHN nevyvolala u krys žádné prokazatelné toxické změny, jestliže byla zvířata exponována 60 minut denně po dobu 21 dní v exsikatoru při průtoku vzduchu 5 l/min. param, strhovaným z povlaku DCHN na stěně předřazeného válce. Množství takto odpařeného DCHN činilo 10 % původně nanesené látky.
3. Při subakutním perorálním podávání DCHN se ukázalo, že teprve dávka 120 mg/kg působí toxické změny, projevující se uhynutím části pokusných zvířat (33 %), poklesem průměrného počtu bílých krvinek a lehkými histologickými změnami žaludeční sliznice. Nižší dávky nezpůsobily žádné prokazatelné projevy otravy.
4. Všechny provedené pokusy svědčí pro relativně nízkou toxicitu dicyklohexylamininitritu a nevylučují jeho použití jako antikorozivního prostředku.



Obrázek 3 — Žaludek: silnější deskvamace epitelu na povrchu sliznice, překrvení subserózních cév, lehká leukocytární infiltrace sliznice. Přehledné zvětšení. Hematoxylin-eosin.

průměrného počtu leukocytů se objevil ve třetí skupině (dávka 30 mg/kg). Hodnoty červených krvinek kolísají opět v mezích počítací chyby. Nebylo cílem této práce tyto změny podrobněji studovat.

Typické histologické změny na žaludku u pokusných zvířat první skupiny ukazuje obr. 3, změny ve skupině třetí dokumentuje obr. 4. Nálezy u třetí skupiny se lišily od kontrolních krys

5. Při manipulaci se substancí nebo při postřikování kovových předmětů roztokem je vhodné použít gumových rukavic, zástěry a holinek a dýchací cesty chránit ochrannou maskou. Navrhovaná bezpečnostní opatření lze považovat za maximální a bylo by možné se jim vyhnout takovým technickým vybavením pracovní místnosti, které by vyloučilo proniknutí dicyklohexylaminnitritu do dý-

chacích cest nebo zažívacího traktu. Samozřejmým doplňkem těchto opatření je dodržování pravidel osobní hygieny.

Pisemnictví

1. Baker H. R.: Ind. Engng. Chem. 46: 2592, 1954.
2. Mc Omie W. A., Hamilton H. Anderson: Univ. of California Publ. Pharmacol. 2: 231, 1949.
3. Řehák V1.: Tankista 1, 27, 1956.
4. Informační brožura fy Shele, 1952.
5. Schermer S.: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. J. A. Barth, Leipzig 1954.