

615.777/595.7/-099-036.1-08:616-092.9

MOŽNOSTI TERAPIE AKUTNÍ INTOXIKACE POTKANA VYBRANÝMI PŘEDSTAVITELI ORGANOFOSFOROVÝCH INSEKTICIDŮ

Pplk. MUDr. Jiří KASSA, CSc., plk. doc. MUDr. Jiří BAJGAR, DrSc.
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové
(rektor: plk. prof. MUDr. Josef Fusek, DrSc.)

Úvod

Organofosforové sloučeniny patří mezi velmi často používané insekticidy (OFI) v zemědělství, domácnostech i veterinární medicíně (5, 14, 19). Organofosfáty používané jako insekticidy jsou toxické především proti hmyzu. Jejich toxicita vůči teplokrevným organismům je zhruba o tři řády nižší než toxicita vysoce toxických organofosforových sloučenin (OF), mezi něž patří i některé bojové otravné látky (nervově paralytické látky) (1). Přesto při velmi častém a ve světě velmi rozšířeném používání OFI nejsou profesionální, náhodné, ale i suicidální otravy nijak vzácné.

O možnosti výskytu humánních otrav OFI svědčí mj. i statistika výskytu otrav v Zimbabwe a Srí Lance (4, 7). Dvanáct procent všech otrav a 84 % všech otrav

pesticidy v Zimbabwe představovaly právě otravy OFI. V 8 % byly tyto otravy smrtelné. De Silva se svými spolupracovníky analyzoval otravy OFI ve Srí Lance. Nejčastější příčinou byl sebevražedný úmysl. V 10 % opět skončily tyto otravy smrtí.

Mezi relativně často používané OFI patří i trichlorfon (Dipterex, O-O-dimethyl-[1-oxy-2,2,2-trichlorethyl] fosfonát). Trichlorfon je bílý krystalický prášek dobře rozpustný v organických sloučeninách, s výbornými insekticidními účinky (je vůči hmyzu vysoce toxický) a relativně nízkou toxicitou vůči teplokrevným organismům (LD_{50} při perorální otravě potkana se pohybuje kolem 600 mg/kg - 5,13). Používá se především k ničení much v uzavřených místnostech, k ničení hmyzu ohrožujícího kulturní plodiny (například vinnou révu a ovocné stromy) a konečně v boji proti ektoparazitům

i endoparazitům domácích užitkových zvířat (ovcí, skotu) (5, 13).

Naopak fosdrin (Mevinfos, O,O-dimethyl-O-[l-carbomethoxyvinyl] fosfát), bezbarvá kapalina dobře rozpustná ve vodě, patří mezi nejtoxičtější OFI vůči teplokrevným organismům (LD_{50} při perorální otravě potkana se pohybuje kolem 4-6 mg/kg). Proto se od jeho používání postupně upouští, přestože má velmi dobré insekticidní vlastnosti především proti sajícímu a kousajícímu hmyzu (13).

Časté možnosti otrav OFI jsou důvodem věnování trvalé pozornosti účinné terapii těchto intoxikací. Vzhledem ke stejnému mechanismu účinku OFI a vysoce toxických OF sloučenin - narušení cholinergního přenosu nervového vzruchu cestou ireverzibilní inhibice aktivity acetylcholinesterázy (AChE, EC 3.1.1.7) - je možné zásady antidotní terapie považovat za společné. Obecně se jedná o terapii cholinolytiky a reaktivátory cholinesteráz. Z cholinolytik se nejčastěji používá periferní antimuskarinové cholinolytikum atropin a centrálně působící cholinolytikum benaktyzin (BNZ). Z reaktivátorů AChE se běžně používají především oximy pralidoxim, obidoxim (toxogonin) a trimedoxim, které však mají vůči některým vysoce toxickým OF sloučeninám pouze omezené terapeutické účinky (1, 11).

Objev asymetrických biskvarterních oximů tzv. H-řady přinesl výraznější zlepšení antidotní terapie otrav některými obtížně léčitelnými OF, jako jsou soman či cyklosin (2, 3, 9, 10). Z této řady je nejvíce studován oxim HI-6 (1-[2-hydroxyiminomethyl pyridinium]-3-[4-karboxyamidopyridinium]-2-oxapropan dichlorid). HI-6 a další oximy této řady především reaktivují fosforylovanou AChE, ale jsou zřejmě schopny zasahovat do intoxikace OF i jinými způsoby, jako je blokáda ganglií a muskarinových receptorů, obnova nervosvalového přenosu a inhibice výměny acetylcholinu (18).

Cílem této práce je srovnat efekt klasické antidotní terapie (toxogonin s atropinem) s oximem HI-6 v kombinaci s BNZ vůči akutní intoxikaci potkana trichlorfonem či fosdrinem cestou ovlivnění hodnoty LD_{50} při 48hodinovém přežívání pokusných zvířat.

Materiál a metody

Jako pokusná zvířata byli použiti bílí potkani obojího pohlaví kmene Wistar chovu Konárovice, kteří byli krmeni Larsenovou dietou a vodou ad libitum.

Skupinám po 8 zvířatech byl podáván OFI v postupně se zvyšujících dávkách perorálně (p. o.) nebo intramuskulárně (i. m.) a byla sledována úmrtnost pokusných zvířat do 48 hodin. Zvířata, která přežila intoxikaci, byla ponechána do 7. dne na pozorování.

Jiným skupinám potkanů byla za 2 minuty po intoxikaci navíc podávána jedna ze dvou zvolených antidotních kombinací, a to i. m. Léčiva byla použita v dávce odpovídající 5 % námi zjištěné LD_{50} při daném způsobu podání (8). Atropin byl podáván v dávce

64 mg/kg, toxogonin v dávce 9,05 mg/kg, BNZ v dávce 9,03 mg/kg a HI-6 v dávce 35 mg/kg.

Na základě použitých dávek nox u neléčené a léčené intoxikace a počtu úmrtí pokusných zvířat byla probitovou metodou vypočtena příslušná střední smrtná dávka (LD_{50}) za 48 hodin (17). Současně byl pro každou hodnotu LD_{50} podle příslušných programů vypočítán interval spolehlivosti na 95% hladině významnosti. Získané hodnoty LD_{50} neléčené intoxikace každého OFI byly srovnávány s hodnotami LD_{50} intoxikace léčené určitou antidotní kombinací za účelem výpočtu indexu účinnosti (IU) pro příslušnou kombinaci antidot. Z hodnot IU lze posoudit nejen efekt dané antidotní kombinace vůči intoxikaci určitým OFI, ale také efekt zvolených antidotních kombinací mezi sebou.

Výsledky

Závěry z terapeutického ovlivnění i. m. a p. o. intoxikace fosdrinem zvolenými kombinacemi antidot jsou uvedeny v tabulkách 1-4.

Ze zjištěných údajů vyplývá, že u obou pohlaví potkana je výrazně účinnější klasická kombinace antidot (toxogonin s atropinem) ve srovnání s HI-6 a BNZ bez ohledu na způsob podání noxy. Srovnáme-li hodnoty LD_{50} intoxikace léčené toxogoninem s atropinem či HI-6 s BNZ, zjistíme, že vzestup hodnoty LD_{50} u otravy léčené toxogoninem s atropinem je 2krát až 5krát vyšší než u intoxikace léčené HI-6 s BNZ a že tento rozdíl v účinnosti antidot je statisticky významný ($p < 0,05$). Přitom obě kombinace antidot jsou u obou způsobů podání noxy efektivní. Signifikantně zvyšují hodnotu LD_{50} ve vztahu k neléčené intoxikaci ($p < 0,05$).

Tabulka 1

Terapeutické ovlivnění i. m. intoxikace fosdrinem u samic potkana

Intoxikace	Antidota	LD_{50} (mg/kg)	IU	IU
neléčená	-	0,51 (0,46-0,56)	léčená/ neléčená intoxikace	HI-6+BNZ/T+A
léčená	HI-6+BNZ	8,14 (7,39-8,98)	16,0	0,23
	T + A	35,53 (28,12-44,72)	69,7	

Tabulka 2

Terapeutické ovlivnění i. m. intoxikace fosdrinem u samic potkana

Intoxikace	Antidota	LD_{50} (mg/kg)	IU	IU
neléčená	-	0,57 (0,51-0,62)	léčená/ neléčená intoxikace	HI-6+BNZ/T+A
léčená	HI-6+BNZ	8,70 (7,18-10,87)	15,3	0,16
	T + A	55,26 (46,05-68,37)	97,0	

Tabulka 3

Terapeutické ovlivnění p. o. intoxikace fosdrinem u samců potkana

Intoxikace	Antidota	LD ₅₀ (mg/kg)	IU	IU
neléčená	-	4,78 (3,56-7,18)	léčená/ neléčená intoxikace	HI-6+BNZ/T+A
léčená	HI-6+BNZ	11,49 (9,20-14,35)	2,4	0,29
	T + A	40,00 (22,93-87,99)	8,4	

Tabulka 4

Terapeutické ovlivnění p. o. intoxikace fosdrinem u samic potkana

Intoxikace	Antidota	LD ₅₀ (mg/kg)	IU	IU
neléčená	-	3,05 (2,66-3,51)	léčená/ neléčená intoxikace	HI-6+BNZ/T+A
léčená	HI-6+BNZ	18,62 (15,70-22,10)	6,1	0,50
	T + A	36,87 (25,70-52,88)	12,1	

Výsledky terapeutického ovlivnění i. m. a p. o. intoxikace trichlorfonem zvolenými kombinacemi antidot jsou uvedeny v tabulce 5-8.

Ze zjištěných údajů vyplývá, že obě léčebné kombinace jsou přibližně stejně účinné vůči trichlorfonu bez ohledu na způsob podání noxy a pohlaví pokusného zvířete. U samců potkana je mírně účinnější kombinace HI-6 s BNZ, u samic potkana toxogonin s atropinem, ale rozdíl hodnot LD₅₀ v závislosti na volbě antidot není statisticky významný. Přitom obě antidotní kombinace jsou signifikantně účinné pouze v případě i. m. podání trichlorfonu ($p < 0,05$). Pokud je trichlorfon podán p. o., ani jedno ze zvolených antidot nezvyšuje hodnotu LD₅₀ vůči neléčené intoxikaci statisticky významným způsobem.

Tabulka 5

Terapeutické ovlivnění i. m. intoxikace trichlorfonem u samců potkana

Intoxikace	Antidota	LD ₅₀ (mg/kg)	IU	IU
neléčená	-	241,4 (204,3-309,5)	léčená/ neléčená intoxikace	HI-6+BNZ/T+A
léčená	HI-6+BNZ	1453,6 (1239,7-1702,6)	5,9	1,28
	T + A	1110,6 (894,5-1378,9)	4,6	

Tabulka 6

Terapeutické ovlivnění i. m. intoxikace trichlorfonem u samic potkana

Intoxikace	Antidota	LD ₅₀ (mg/kg)	IU	IU
neléčená	-	222,5 (174,0-262,1)	léčená/ neléčená intoxikace	HI-6+BNZ/T+A
léčená	HI-6+BNZ	1107,4 (989,6-1333,0)	5,0	0,82
	T + A	1367,6 (1132,6-1651,4)	6,1	

Tabulka 7

Terapeutické ovlivnění p. o. intoxikace trichlorfonem u samců potkana

Intoxikace	Antidota	LD ₅₀ (mg/kg)	IU	IU
neléčená	-	787,7 (455,8-1354,5)	léčená/ neléčená intoxikace	HI-6+BNZ/T+A
léčená	HI-6+BNZ	1368,2 (1222,0-1437,2)	1,74	1,08
	T + A	1268,2 (1116,6-1437,2)	1,61	

Tabulka 8

Terapeutické ovlivnění p. o. intoxikace trichlorfonem u samic potkana

Intoxikace	Antidota	LD ₅₀ (mg/kg)	IU	IU
neléčená	-	586,8 (392,4-1200,4)	léčená/ neléčená intoxikace	HI-6+BNZ/T+A
léčená	HI-6+BNZ	1174,4 (1047,9-1315,9)	2,00	0,78
	T + A	1500,6 (1115,3-2019,1)	2,56	

Diskuse

Používání OFI je rozšířené prakticky po celém světě a přináší s sebou řadu problémů s expozicí živé síly, především pracovníků v zemědělství, pilotů práškových letadel a obyvatel žijících blízko ploch postřikovaných OFI (14, 15, 16). Problém kvalitní terapie těchto otrav je o to naléhavější, že používání OFI může vést k opakovaným expozicím těmito noxami, což může být nebezpečné vzhledem ke zjištění hepatotoxicity některých OFI, včetně trichlorfonu (22), a podezření z teratogenity a genotoxicity těchto nox (6, 20, 21). Navíc může mít časté používání OFI negativní důsledky přímo na faunu a flóru (23). Proto je důležité důsledně terapeuticky řešit každou, i lehčí expozici těmito pesticidy, byť přímo neohrožuje na životě. Základem takové terapie musí být optimálně účinná kombinace antidot.

Kombinace antidot obsahující asymetrický biskvarterní oxim H-řady (HI-6) a centrálně působící cholinolytikum (BNZ), která se jeví jako velmi účinná v případě intoxikací vysoce toxickými OF (10, 12), bohužel neosvědčila stejnou účinnost vůči dvěma zkoušeným OFI (fosdrinu a trichlorfonu). Vůči fosdrinu byla signifikantně účinnější klasická kombinace antidot toxogonin a atropin, vůči trichlorfonu byla účinnost obou antidotních směsí vyrovnaná.

Tato práce tedy prokázala, že ani asymetrické biskvarterní H-oximy, mezi něž patří i HI-6, nebudou sloužit jako univerzální reaktivátory cholinesteráz při terapii otrav OF sloučeninami, neboť v terapii otrav některými OFI nejsou přínosem.

Souhrn

V pokusech na potkanech obojího pohlaví byl testován efekt asymetrického biskvarterního oximu HI-6 v kombinaci s cholinolytikem benaktyzinem proti akutní otravě vybranými představiteli organofosforových insekticidů (fosdrinem a trichlorfonem) cestou ovlivnění hodnoty LD₅₀ při 48hodinovém přežívání pokusných zvířat. Efekt této antidotní kombinace byl srovnáván s účinkem klasického reaktivátoru acetylcholinesterázy toxogoninu v kombinaci s atropinem.

Srovnání efektu obou antidotních kombinací ukázalo, že v případě akutní intoxikace potkana fosdrinem se jako účinnější jeví kombinace toxogoninu s atropinem, zatímco v případě terapie akutní otravy trichlorfonem je účinnost obou antidotních směsí zhruba vyrovnaná.

To znamená, že H-oxim HI-6 v kombinaci s cholinolytikem, tolik nadějný v případě terapie otrav některými vysoce toxickými organofosfáty, neznamená pro terapii otrav vybranými představiteli organofosforových insekticidů žádný významnější přínos.

Literatura

- BAJGAR, J.: Intoxikace organofosforovými inhibitory cholinesteráz: účinek, diagnóza a terapie. *Novinky v medicíně*, 34, 1985, s. 5-40.
- BOSKOVIC, B. - KOVACEVIC, V. - JOVANOVIĆ, D.: 2-PAMCI, HI-6 and HGG-12 in soman and tabun poisoning. *Fundam. appl. Toxicol.*, 4, 1984, s. S106-S115.
- CLEMENT, J. G.: HI-6: Reactivation of central and peripheral acetylcholinesterase following inhibition by soman, sarin and tabun in vivo in the rat. *Biochem. Pharmacol.*, 31, 1982, s. 1283-1287.
- DE SILVA, H. J. - WIJEWICKREMA, R. - SENANAYAKE, N.: Does pralidoxime affect outcome of management in acute organophosphorus poisoning? *Lancet*, 339, 1992, s. 1136-1138.
- FEST, C. - SCHMIDT, K. J.: The chemistry of organophosphorus pesticides. 2nd ed. Berlin, Springer-Verlag 1982. 360 s.
- FLESSEL, P. - QUINTANA, P. J. G. - HOOPER, K.: Genetic toxicity of malathion: a review. *Environ. mol. Mutagen.*, 22, 1993, s. 7-17.
- KASILO, O. J. - HOBANE, T. - NHACKI, C. F. B.: Organophosphate poisoning in urban Zimbabwe. *J. appl. Toxicol.*, 11, 1991, č. 4, s. 269-272.
- KASSA, J.: Studie cholinergních a necholinergních účinků organofosfátů a vliv terapie. [Kandidátská disertační práce]. Hradec Králové 1991. 162 s. VLA JEP.
- KOPLOVITZ, I. et al.: Evaluation of the toxicity, pathology and treatment of cyclohexylmethyl phosphonofluoridate (CMPF) poisoning in rhesus monkeys. *Arch. Toxicol.*, 66, 1992, s. 622-628.
- MAKSIMOVIC, M. et al.: Antidotal effects of bis-pyridinium-2-mono-oxime carbonyl derivatives in intoxication with highly toxic organophosphorus compounds. *Acta pharm. jugosl.*, 30, 1980, s. 151-160.
- MARRS, T. C.: Organophosphate poisoning. *Pharm. Ther.*, 58, 1993, s. 51-66.
- MAXWELL, D. M. - KOPLOVITZ, J.: Effect of endogenous carboxylesterase on HI-6 protection against soman toxicity. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 254, 1990, s. 440-444.
- MELNIKOV, N. N.: Chemistry of pesticides. Eds. F. A. Gunther, J. D. Gunther. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1971, 470 s.
- POPE, C. N. et al.: Comparison of in vivo cholinesterase inhibition in neonatal and adult rats by three organophosphorothioate insecticides. *Toxicology*, 68, 1991, s. 51-61.
- RICHTER, E. D. et al.: Health effects from exposure to organophosphate pesticides in workers and residents in Israel. *Isr. J. med. Sci.*, 28, 1992a, s. 584-597.
- RICHTER, E. D. et al.: Illness and excretion of organophosphate metabolites four months after household pest examination. *Arch. environ. Health*, 47, 1992b, č. 2, s. 135-138.
- ROTH, Z.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha Avicenum 1962. 360 s.
- ROUSSEAU, C. G. - DUA, A. K.: Pharmacology of HI-6, an H-series oxime. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 67, 1989, s. 1183 až 1189.
- RYU, S. - LIN, J. - THOMPSON, Ch. M.: Comparative anticholinesterase potency of chiral isoparathion methyl. *Chem. Res. Toxicol.*, 4, 1991, s. 517-520.
- VILLAR, D. - LI, M. H. - SCHAEFFER, D. J.: Toxicity of organophosphorus pesticides to *Dugesia* *Dorocephala*. *Bull. environ. Contam. Toxicol.*, 51, 1993, s. 80-87.
- VLČKOVÁ, V. et al.: Mutagenic activity of phosmet, the active component of the organophosphorus insecticide Decemtion EK 20 in *Salmonella* and *Saccharomyces* assay. *Mutat. Res.*, 302, 1993, s. 153-156.
- YAMANO, T. - MORITA, S.: Hepatotoxicity of trichlorfon and dichlorvos in isolated rat hepatocytes. *Toxicology*, 76, 1992, s. 69 až 77.
- YOWETZ, A. - ZOOK-RIMAN, Z. - DOTAN, A.: Cholinesterase profiles in two species of wild birds exposed to insecticide sprays in their natural habitat. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 22, 1993, s. 501-509.

Klíčová slova: Fosdrin; Trichlorfon; HI-6; Benaktyzin; Toxogonin; Atropin; LD₅₀; Potkan.

Poděkování

Autoři děkují paní J. Petrové za technickou spolupráci a za pomoc při statistickém zpracování výsledků.

Do redakce došlo 29. 11. 1994