

615.777/595.7/-099-036.11-08:615.9-085.525-092.9

VLIV FARMAKOLOGICKÉ PROFYLAXE NA TERAPEUTICKOU ÚČINNOST ANTIDOT PŘI TERAPII AKUTNÍ INTOXIKACE DICHLORVOSEM U POTKANŮ

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

Úvod

Nejvýznamnější skupinu insekticidů používaných v zemědělství i domácnostech tvoří organofosforové sloučeniny (OF) (4, 12, 17). Mezi OF patří mimo jiné i vysoce toxické sloučeniny vyráběné a skladované jako náplň do chemické munice (1, 9). OF používané jako insekticidy (OFI) jsou toxické především vůči hmyzu; vůči teplokrevným organismům, včetně člověka, jsou relativně bezpečné. Toxicita OFI vůči teplokrevným organismům je zhruba o tři řády nižší než toxicita OF sloučenin zařazených mezi bojové otravné látky (1). Přesto při velmi častém a ve světě hojně rozšířeném používání OFI nejsou humánní suicidální, náhodné i profesionální otravy nijak vzácné (7, 19).

Mezi relativně často používané OFI patří i dichlorvos (DDVP, chemicky O,O-dimethyl-O-[2,2-dichlorvinyl] fosfát), bezbarvá tekutina s dobrými insekticidními účinky a relativně malou toxicitou vůči teplokrevným organismům (LD_{50} při perorální otravě potkana se pohybuje kolem 80 mg/kg) (4, 11). Používá se především k hubení much v uzavřených prostorách, k hubení hmyzu ohrožujícího kulturní plodiny a v boji proti ektoparazitům i endoparazitům domácích užitkových zvířat (4, 11).

Vzhledem k relativně časté možnosti otrav OFI je věnována trvalá pozornost zlepšování účinnosti stávající terapie těchto intoxikací, která vychází z eliminace narušení cholinergního přenosu nervového vzruchu z důvodu ireverzibilní inhibice aktivity acetylcholinesterázy (AChE, EC 3.1.1.7). Skládá se z cholinolytik, která působí jako antagonisté acetylcholinu na cholinergních synapsích, a reaktivátorů AChE, které obnovují fyziologickou funkci tohoto enzymu (1, 9).

Vedle běžně užívaných reaktivátorů AChE, mezi něž patří i obidoxim, byly k terapii otrav OFI zkoušeny i asymetrické biskvarterní H-oximy, které přinesly zkvalitnění antidotní terapie otrav vysoce toxickými OF, včetně somanu, který patří mezi nejobtížněji léčitelné OF (2, 3, 18). Nejperspektivnějším H-oximem se jeví oxim HI-6, chemicky 1-(2-hydroxyiminomethyl pyridinium)-3-(4-karboxamidopyridinium)-2-oxapropan dichlorid (2, 16, 18).

Bohužel testování účinnosti reaktivátoru AChE HI-6 vůči vybraným OFI (fosdrinu, trichlorfonu a dichlorvosu) u potkana nepotvrdilo očekávanou terapeutickou účinnost ověřenou při terapii otrav

vysoce toxickými OF. HI-6 v kombinaci s centrálním cholinolytikem benaktyzinem (BNZ) byl většinou ve srovnání s klasickým reaktivátorem AChE obidoximem v kombinaci s atropinem méně nebo maximálně stejně účinný. Pouze při terapii intraperitoneální (i. p.) otravy DDVP se jevil jako účinnější (21).

Vzhledem k nedostatečné účinnosti stávající antidotní terapie vůči některým OFI je žádoucí najít způsob zefektivnění této terapie. Jednou z cest zvýšení efektu antidot může být použití farmakologické profylaxe. Účelem použití profylaxe je zvýšení odolnosti exponovaného organismu vůči OF a zvýšení terapeutické účinnosti antidot. Nejběžnějším profylaktikem proti otravám OF je pyridostigmin (10, 23). Na půdě toxikologického pracoviště VLA JEP bylo vyvinuto pod názvem Panpal tříložkové profylaktikum obsahující vedle reverzibilního inhibitoru AChE pyridostigminu dvě látky s cholinolytickým účinkem - benaktyzin a trihexyfenidyl. Obě cholinolytika eliminují nežádoucí účinky pyridostigminu způsobené dočasnou inhibicí AChE (20, 21).

Cílem této práce je srovnat vliv farmakologické profylaxe Panpalem na efekt dvou antidotních kombinací (obidoxim s atropinem a HI-6 s BNZ) při akutní intoxikaci potkana DDVP cestou ovlivnění hodnoty LD_{50} při 48hodinovém přežívání zvířat.

Materiál a metody

Jako pokusná zvířata byli použiti samci bílých potkanů kmene Wistar chovu Konárovice o hmotnosti 180-220 g, kteří byli krmeni Larsenovou dietou a vodou ad libitum.

Skupinám po 6 zvířatech byl DDVP podáván i. p. v postupně se zvyšujících dávkách a byla sledována úmrtnost pokusných zvířat do 48 hodin. Zvířata, která přežila intoxikaci, byla ponechána do 7. dne na pozorování.

Vybraným skupinám potkanů byla v prvních příznacích otravy DDVP podávána intramuskulárně jedna ze dvou zvolených antidotních kombinací. Léčiva byla použita v dávkách odpovídajících 5 % námi zjištěné LD_{50} při daném způsobu podání (8). Atropin byl podáván v dávce 64,5 mg/kg, obidoxim v dávce 9,05 mg/kg, BNZ v dávce 9,3 mg/kg a HI-6 v dávce 35 mg/kg.

Tabulka 1

Vliv Panpalu na odolnost potkana vůči i. p. intoxikaci dichlorvosem a na terapeutickou účinnost zvolených antidot (* - statistická významnost)

Intoxikace	Profylaxe	Terapie	LD ₅₀ (mg/kg)	IU	IU s profylaxí/ IU bez profylaxe
neléčená	-----	-----	35,07 (33,7-37,1)		
neléčená s profylaxí	PANPAL	-----	67,33 (49,1-92,3) *	1,92	-----
léčená bez profylaxe	-----	HI-6, BNZ	111,99 (86,4-173,0) *	3,19	0,91
léčená s profylaxí	PANPAL	HI-6, BNZ	101,95 (84,1-123,6) *	2,91	
léčená bez profylaxe	-----	obidoxim, atropin	63,93 (38,9-104,2) *	1,82	0,86
léčená s profylaxí	PANPAL	obidoxim, atropin	54,99 (44,7-67,7) *	1,57	

Jiným skupinám potkanů byl nejprve perorálně podán Panpal a po 60 minutách i. p. DDVP v postupně se zvyšujících dávkách bez terapie nebo s terapií zvolenými kombinacemi antidot v prvních příznacích intoxikace. Panpal byl podáván sondou v běžně užívaných dávkách pro potkana - trihexyfenidyl v dávce 16 mg/kg, BNZ v dávce 70 mg/kg a pyridostigmin v dávce 5,82 mg/kg (21).

Příslušné střední smrtné dávky (LD₅₀) s intervaly spolehlivosti na 95% hladině významnosti byly počítány probitovou metodou (15). Efekt profylaxe na účinek DDVP i zvolených kombinací antidot byl posuzován pomocí vzájemného poměru zjištěných hodnot LD₅₀ (indexu účinnosti IU).

Výsledky

Hodnoty LD₅₀ neléčené intoxikace DDVP a intoxikace léčené jednou ze zvolených kombinací antidot včetně použití profylaxe jsou uvedeny v tabulce 1.

Z této tabulky vyplývá, že samotná profylaxe Panpalem podaná 60 minut před intoxikací DDVP signifikantně zvyšuje hodnotu LD₅₀ na téměř dvojnásobek (IU - 1,92). Má tedy zhruba stejnou účinnost jako terapie otravy DDVP pomocí obidoximu a atropinu (IU - 1,82).

Je-li použita k terapii kombinace oximu HI-6 s BNZ, dojde k signifikantnímu vzestupu hodnoty LD₅₀ na trojnásobek (IU - 3,19). Tato kombinace antidot však není signifikantně účinnější než terapie otravy obidoximem a atropinem či samotná profylaxe Panpalem.

Spojíme-li podání Panpalu 1 hodinu před intoxikací s následným podáním některé z antidotních kombinací, zůstanou hodnoty LD₅₀ na úrovni léčené intoxikace bez profylaxe (IU - 1,57 u obidoximu

s atropinem, IU - 2,91 u HI-6 s BNZ).

Diskuse

Používání OFI přináší s sebou řadu problémů s expozicí živé síly, především pracovníků v zemědělství, pilotů prázdkovacích letadel a obyvatel žijících blízko ploch postřikovaných OFI (12, 13, 14). Problém kvalitní terapie těchto otrav je o to naléhavější, že opakovaná expozice těmito noxami může vést podle některých autorů k hepatotoxicitě (24), poruchám nervosvalové dráždivosti (6) a teratogenitě či genotoxicitě (5, 22). Terapeutická účinnost dosud používaných antidot není uspokojivá, proto je žádoucí ověřit možnost použití profylaxe za účelem zvýšení účinnosti antidotní terapie.

Některými autory bylo prokázáno, že profylaxe Panpalem má příznivý vliv na celkový terapeutický účinek následně podaných antidot (HI-6 s BNZ, obidoxim s atropinem) u otravy vysoce toxickými OF, jako jsou soman, sarin, cyklosin a VX látka (20, 21). Panpal také zvyšuje odolnost exponovaných pokusných zvířat vůči těmto noxám (20, 21) podobně jako samotný pyridostigmin vůči somanu (10, 23).

I v této práci byla prokázána schopnost Panpalu zvýšit odolnost exponovaného zvířete vůči testovanému OFI. Důvodem je zřejmě ochrana místa toxického účinku OF sloučenin - AChE obsazením jejího aktivního místa reverzibilním inhibitorem AChE pyridostigminem po dobu přítomnosti noxy v organismu. Účinnost Panpalu dosáhla terapeutického efektu obidoximu s atropinem. Bohužel při kombinaci profylaxe otravy s následnou terapií nedošlo ke kumulaci pozitivního účinku profylaxe a terapie bez ohledu na výběr oximu i cholinolytika. Terapeutická účinnost obidoximu s atropinem

i HI-6 s BNZ vůči DDVP se přidáním profylaxe Panpalem nezvýšila, spíše se mírně, nesignifikantně snížila.

To tedy znamená, že profylaxe Panpalem sice zvyšuje odolnost exponovaného organismu vůči DDVP, zřejmě cestou ochrany místa toxického účinku OF sloučenin, ale neovlivňuje terapeutickou účinnost zvolených kombinací antidot.

Souhrn

V pokusech na samcích potkana byl sledován vliv farmakologické profylaxe Panpalem (pyridostigmin v kombinaci s benaktyzinem a trihexyfenidylem) na terapeutický účinek dvou zvolených antidotních kombinací (obidoxim s atropinem, HI-6 s benaktyzinem) při akutní intoxikaci organofosforovým insekticidem dichlorvosem cestou ovlivnění hodnoty LD₅₀ při 48hodinovém přežívání pokusných zvířat.

Zatímco podání samotné profylaxe Panpalem potvrdilo cestou signifikantního zvýšení hodnoty LD₅₀ význam profylaxe pro zvýšení odolnosti exponovaného organismu vůči dichlorvosu, stejná profylaxe neovlivnila vlastní terapeutickou účinnost ani jedné ze zvolených antidotních směsí. Farmakologická profylaxe Panpalem tedy může sama o sobě snížit riziko závažných intoxikací po expozici OFI, nezvýší však efekt antidotní terapie podané následně po intoxikaci.

Literatura

1. BAJGAR, J.: Intoxikace organofosforovými inhibitory cholinesteráz: účinek, diagnóza a terapie. *Novinky v medicíně*, 34, 1985, s. 5-40.
2. BOŠKOVIČ, B. - KOVAČEVIČ, V. - JOVANOVIČ, D.: 2-PAMCI, HI-6 and HGG-12 in soman and tabun poisoning. *Fundam. appl. Toxicol.*, 4, 1984, s. S106-S115.
3. 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.
4. FEST, C. - SCHMIDT, K. J.: The chemistry of organophosphorus pesticides. 2nd ed. Berlin, Springer-Verlag 1982. 360 s.
5. FLESSEL, P. - QUINTANA, P. J. G. - HOOPER, K.: Genetic toxicity of malathion: a review. *Environ. mol. Mutagen.*, 22, 1993, s. 7-17.
6. GOOD, J. L. et al.: Pathophysiological studies of neuromuscular function in subacute organophosphate poisoning induced by phosmet. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 56, 1993, s. 290-294.
7. KASILO, O. J. - HOBANE, T. - NHACKI, C. F. B.: Organophosphate poisoning in urban Zimbabwe. *J. appl. Toxicol.*, 11, 1991, č. 4, s. 269-272.

8. KASSA, J.: Studie cholinergních a necholinergních účinků organofosfátů a vliv terapie. [Kandidátská disertace]. Hradec Králové 1991. 162 s. VLA JEP.
9. MARRS, T. C.: Organophosphate poisoning. *Pharmacol. and Ther.*, 58, 1993, s. 51-66.
10. MAXWELL, D. M. et al.: Comparison of antidote protection against soman by pyridostigmin, HI-6 and acetylcholinesterase. *J. Pharm. exp. Ther.*, 264, 1992, č. 3, s. 1085-1089.
11. MELNIKOVA, N. N.: Chemistry of pesticides. Eds. F. A. Gunther, J. D. Gunther. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1971. 470 s.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. ROTH, Z.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, Avicenum 1962. 360 s.
16. ROUSSEAU, C. G. - DUA, A. K.: Pharmacology of HI-6, an H-series oxime. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 67, 1989, s. 1183-1189.
17. RYU, S. - LIN, J. - THOMPSON, Ch. M.: Comparative anticholinesterase potency of chiral isoparathion methyl. *Chem. Res. Toxicol.*, 4, 1991, s. 517-520.
18. SHIH, T. M. - WHALLEY, Ch. E. - VALDES, J. J.: A comparison of cholinergic effects of HI-6 and pralidoxime-2-chloride (2-PAM) in soman poisoning. *Toxicol. Lett.*, 55, 1991, s. 131-138.
19. SILVA, H. J. de - WIJEWICKREMA, R. - SENANAYAKE, N.: Does pralidoxime affect outcome of management in acute organophosphorus poisoning? *Lancet*, 339, 1992, s. 1136-1138.
20. VACHEK, J.: Toxikologie a léčebné ovlivnění otravy cyklosimem. *Voj. zdrav. Listy*, 61, 1992, č. 4, s. 166-170.
21. VACHEK, J. - KASSA, J. - FUSEK, J. - BAJGAR, J.: Novější způsoby léčby intoxikace organofosfáty. In: *Sbor. věd. Prací VLA JEP*. 116. Hradec Králové. VLA JEP 1993, s. 67-95.
22. VILLAR, D. - LI, M. H. - SCHAEFFER, D. J.: Toxicity of organophosphorus pesticides to *Dugesia* *Dorotocephala*. *Bull. environ. Contam. Toxicol.*, 51, 1993, s. 80-87.
23. WALDAY, P. - AAS, P. - HAIDER, T. - FONNUM, F.: Effect of pyridostigmine pretreatment, HI-6 and Toxogonin^R treatment on rat tracheal smooth muscle response to cholinergic stimulation after organophosphorus inhalation exposure. *Arch. Toxicol.*, 67, 1993, s. 212-219.
24. YAMANO, T. - MORITA, S.: Hepatotoxicity of trichlorfon and dichlorvos in isolated rat hepatocytes. *Toxicology*, 76, 1992, s. 69-77.

Klíčová slova: Panpal; Dichlorvos; Obidoxim; Atropin; HI-6; Benaktyzin; LD₅₀; Potkan.

Poděkování

Autor děkuje paní J. Petrové za technickou spolupráci a za pomoc při statistickém zpracování výsledků.

Do redakce došlo 15. 3. 1995