

615.361.45:616.151/.154:547.1'118.5:616-092.9:599.323.4

VYUŽITÍ STANOVENÍ KATECHOLAMINŮ V PLAZMĚ JAKO MARKERU STRESOGENNÍHO ÚČINKU VYBRANÝCH ORGANOFOSFOROVÝCH SLOUČENIN U POTKANA

Pplk. doc. MUDr. Jiří KASSA, CSc.
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové
(rektor: pplk. doc. MUDr. Svatopluk Býma, CSc.)

Úvod

Základním mechanismem účinku organofosforových (OF) sloučenin je ireverzibilní inhibice acetylcholinesterázy (AChE, EC 3.1.1.7) vedoucí k akumulaci acetylcholinu (ACh) na cholinergních synapsích (13). Komplexní mechanismus účinku OF sloučenin však zahrnuje i celou řadu necholinergních účinků, včetně účinku stresogenního, vyvolaného pravděpodobně poruchou homeostázy a zhroucením energetického metabolismu (2,14). Obecně je stres charakterizován zvýšením aktivity hypotalamo-hypofyzeo-adrenální osy a sympato-adrenálního systému (SAS). Známkou aktivace hypotalamo-hypofyzeo-adrenální osy je zvýšená hladina kortikosteroidů v plazmě, aktivace SAS je charakterizována vzestupem hladiny katecholaminů (KA) v plazmě (17). Oba ukazatele by tedy mohly být vhodnými markery stresogenního účinku OF sloučenin (4).

Mezi nejtoxičtější OF sloučeniny patří látka VX (O-ethyl-S-/2-diisopropylaminoethyl/methylthiofosfonát), která je charakterizována především vysokou stálostí a snadným průnikem přes kůži (1). Naproti tomu dichlorvos (DDVP, chemicky O,O-dimethyl-O-2,2-dichlorovinylfosfát) patří mezi organofosforové insekticidy (OFI), používané v zemědělství jako kontaktní, gastrointestinální a respirační insekticid proti ektoparazitům i endoparazitům (6).

Antidotní terapie akutních intoxikací OF sloučeninami se obvykle skládá z anticholinergika, zabraňujícího účinku ACh na cholinergních receptorech, a reaktivátoru AChE, obnovujícího fyziologickou funkci tohoto enzymu (5,13). Mezi nejperspektivnější antidotní terapie otrav OF patří kombinace anticholinergika benaktyzinu (BNZ) s biskvarterním oximem HI-6 (1-/2-hydroxyiminomethylpyridinium-/3-/4-karboxamidopyridinium-/2-oxapropan dichlorid monohydrát) (11,12,16).

Cílem této práce je ověřit možnost využití monitorování hladiny KA v plazmě jako markeru stresogenního účinku testovaných OF sloučenin a jako ukazatele terapeutického efektu zvolené antidotní terapie akutní intoxikace OF sloučeninami.

Materiál a metody

K pokusům byli použiti samci bílých potkanů kmene Wistar chovu Konárovice o hmotnosti 200 až 250 g. Pokusná zvířata byla krmena standardní

Larsenovou dietou a vodou ad libitum.

VX-látka i DDVP byly pokusným zvířatům podávány intraperitoneálně (i. p.) v dávce odpovídající 40 % námi zjištěné hodnoty LD₅₀ (7) - 8 mg/kg DDVP a 20 µg/kg látky VX. Za 30 sekund po intoxikaci byla některým skupinám potkanů podávána intramuskulárně (i. m.) antidotní terapie v maximální terapeutické dávce odpovídající 20 % LD₅₀ (7) - 140 mg/kg HI-6 s 37 mg/kg BNZ.

V 15., 30. a 60. minutě po podání OF byli potkani usmrceni dekapitací a byla jim odebrána krev ke stanovení hladiny KA v plazmě radioenzymatickou metodou pomocí komerčního REA kitu (3). Hodnoty hladin KA v plazmě pokusných zvířat byly srovnávány s hodnotami tohoto markeru u kontrolních zvířat, kterým byl místo noxy a léčiv podáván fyziologický roztok ve stejném objemu (0,1 ml/kg).

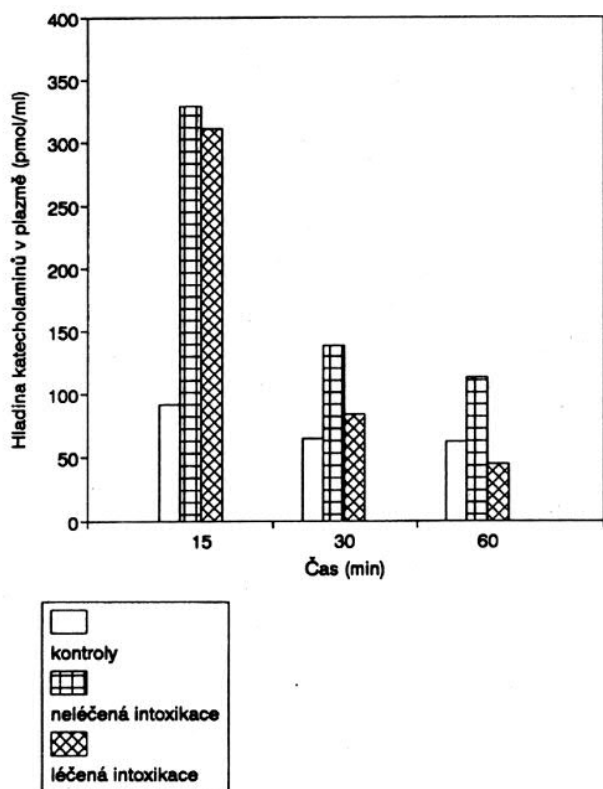
Statistické hodnocení získaných údajů bylo prováděno pomocí analýzy rozptylu na počítači ADT 4500. Pokud byly rozdíly mezi skupinami (n = 6) statisticky významné na 95% hladině významnosti (p < 0,05), byly údaje dále hodnoceny Scheffeho kontrastem (15).

Výsledky

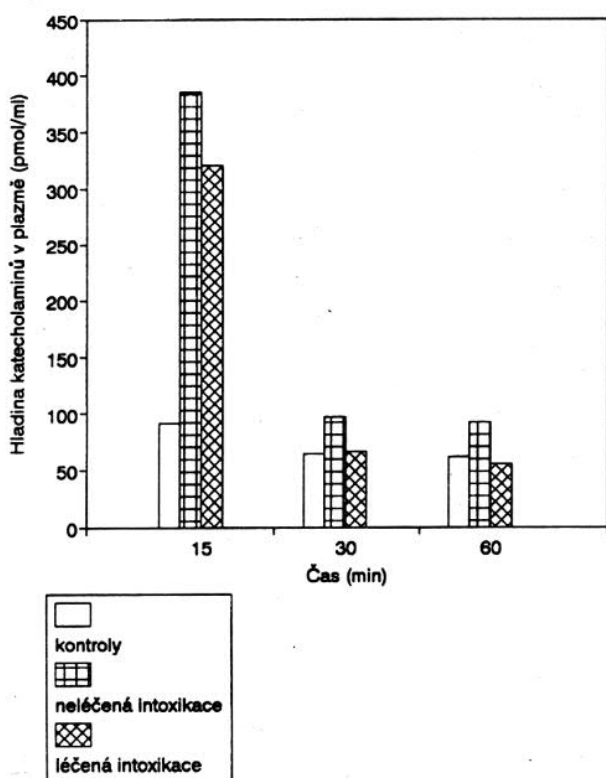
Monitorování změn hladiny KA v plazmě během neléčené a léčené intoxikace VX-látkou prokázalo prudký, více než trojnásobný vzestup hladiny KA již v 15. minutě intoxikace (p < 0,05), který terapie oximem HI-6 s BNZ dokázala pouze mírně snížit. Toto snížení hladiny plazmatických KA vlivem terapie však nebylo statisticky významné. V dalším průběhu neléčené intoxikace VX-látkou byl vzestup hladiny KA v plazmě mírnější, ale do 60. minuty otravy stále signifikantní (p < 0,05). Naproti tomu terapie intoxikace oximem HI-6 s BNZ dokázala VX látkou vyvolaný vzestup plazmatických KA zcela eliminovat (obr. 1).

Ze sledování změn hladiny KA v plazmě během neléčené a léčené intoxikace DDVP vyplývá, že k prudkému, téměř čtyřnásobnému vzestupu hladiny KA v plazmě dochází již v 15. minutě neléčené intoxikace (p < 0,05). Terapie otravy oximem HI-6 s BNZ pouze mírně snížila OFI indukovaný vzestup hladiny plazmatických KA. V dalším průběhu neléčené intoxikace došlo k mírnějšímu, ale stále statisticky významnému vzestupu hladiny KA (p < 0,05). Terapie otravy reaktivátorem HI-6 a BNZ od 30. minuty intoxikace zcela dichlorvosem

indukovaný vzestup KA eliminovala (obr. 2).



Obr. 1 Hladina katecholaminů v plazmě



Obr. 2 Hladina katecholaminů v plazmě

Diskuse

Dané subletální dávky obou sledovaných OF sloučenin způsobující manifestní intoxikaci bez ohrožení života pokusného zvířete vykazují výrazné stresogenní působení projevující se prudkým vzestupem hladiny KA v plazmě. Také změny jiných stresogenních markerů, jako jsou kortikosteron (KS) v plazmě a tyrozin aminotransferáza (TAT) v játrech svědčí pro výrazný stresogenní efekt daných OF ve sledované subletální dávce (7). Manifestaci otravy odpovídá i 40-60% inhibice AChE v místě periferního i centrálního toxického účinku (7). Hladina KA v plazmě se tedy jeví jako další vhodný marker stresogenního účinku OF sloučenin schopný odrážet závažnost otravy.

Terapie akutních otrav OF sloučeninami oximem HI-6 v kombinaci s anticholinergikem je považována za jednu z nejperspektivnějších terapií, která svým účinkem překonává terapeutický efekt klasických oximů (2-PAM, obidoxim) v kombinaci s týmiž parasympatolytiky (10, 11, 12, 16). Oxim HI-6 v kombinaci s BNZ dokáže nejen eliminovat cholinergní účinky dané subletální dávkou VX-látky i DDVP, ale také změny dosud sledovaných markerů stresogenního účinku těchto nox - hladiny KS v plazmě a aktivity TAT v játrech (8, 9). V této práci byl nově sledovaný marker stresogenního účinku OF (hladina KA v plazmě) eliminován zvolenou kombinací antidot od 30. minuty léčené intoxikace bez ohledu na výběr OF sloučeniny.

Uvedené výsledky potvrzují, že hladina KA v plazmě je vedle hladiny KS v plazmě a aktivity TAT v játrech dalším vhodným markerem stresogenního účinku OF sloučenin, z jehož změny lze odhadnout nejen závažnost a prognózu otravy, ale i efekt antidotní terapie.

Souhrn

V pokusech na samcích potkana byly studovány změny hladiny katecholaminů v plazmě v průběhu neléčené a léčené intoxikace organofosforovým insekticidem dichlorvošem a vysoce toxickým organofosfátem VX-látkou.

Již v prvních minutách intoxikace dochází k výraznému vzestupu hladiny katecholaminů bez ohledu na výběr organofosfátu, který není antidotní terapií (oxim HI-6 v kombinaci s benaktinem) ovlivněn. Statisticky významný vzestup katecholaminů v plazmě přetrvává do 1 hodiny po podání organofosfátu, ale od 30. minuty intoxikace je danou antidotní terapií prakticky eliminován.

Hladina katecholaminů v plazmě se tedy jeví nejen jako vhodný ukazatel stresogenního účinku organofosforových sloučenin, ale i jako výhodný marker terapeutického efektu antidot.

Poděkování

Autor děkuje paní J. Petrové a paní M. Zechovské za technickou spolupráci a Mgr. V. Bláhovi za pomoc při statistickém zpracování výsledků.

Literatura

1. BAJGAR, J.: Intoxikace organofosforovými inhibitory cholinesteráz - účinek, diagnóza a terapie. Novinky v medicíně. 1. vyd. Praha, Avicenum 1985. 40 s.
2. BAJGAR, J.: Necholinergní účinky organofosfátů. Čas. Lék. čes., 132, 1993, č. 17, s. 513-517.
3. CATECHOLA^R REA kit. Praha, ÚVVVR 1987. 31 s.
4. CLEMENT, J. G.: Hormonal consequences of organophosphate poisoning. Fundam. appl. Toxicol., 5, 1985, s. S61-S77.
5. DAWSON, R. M.: Review of oximes available for treatment of nerve agent poisoning. J. appl. Toxicol., 14, 1994, č. 5, s. 317-331.
6. FEST, C. - SCHMIDT, K. J.: The chemistry of organophosphorus pesticides. 2 vyd. Berlin, Springer-Verlag 1982. 360 s.
7. KASSA, J.: Studium cholinergních a necholinergních účinků organofosforových sloučenin a jejich léčebné ovlivnění. [Kandidátská disertační práce]. Hradec Králové, VLA JEP 1991, 162 s.
8. KASSA, J.: Srovnání léčebných účinků HI-6 v kombinaci s benaktyzinem a toxogoninu s atropinem při akutní otravě potkana látkou VX. Voj. zdrav. Listy, 62, 1993, č. 6, s. 219 až 222.
9. KASSA, J.: Efekt nového reaktivátoru HI-6 v kombinaci s benaktyzinem na cholinergní a necholinergní účinky dichlorvosu ve srovnání s účinkem toxogoninu s atropinem. Prac. Lék., 46, 1994, č. 2, s. 51-54.
10. KASSA, J. - BAJGAR, J.: Treatment of the stressogenic effect of dichlorvos. In: Sbor. věd. Prací LF UK Hradec Králové. 37. Hradec Králové, LF UK 1994, č. 1, s. 29-32.
11. KOPLOVITZ, I. - STEWART, J. R.: A comparison of the efficacy of HI-6 and 2-PAM against soman, tabun, sarin and VX in the rabbit. Toxicol. Let., 70, 1994, s. 269-279.
12. KOPLOVITZ, I. et al.: Dose-response effects of atropine and HI-6 treatment of organophosphorus poisonings in guinea-pigs. Drug chem. Toxicol., 18, 1995, s. 119-136.
13. MARRS, T. C.: Organophosphate poisoning. Pharm. Ther., 58, 1993, s. 51-66.
14. POLAKOVIC, L. V. - DOEBLER, J. A. - ANTHONY, A.: Dose and time dependent adrenocortical responses in soman intoxicated rabbits. Federation Proceedings, 43, 1984, s. 1638-1642.
15. ROTH, Z. et al.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, SZN 1962. 585 s.
16. SHIH, T. M.: Comparison of several oximes on reactivation of soman-inhibited blood, brain and tissue cholinesterase activity in rats. Arch. Toxicol., 67, 1993, s. 637-646.
17. SCHREIBER, V.: Stres. 1. vyd. Praha, Avicenum 1985. 384 s.

Klíčová slova: VX-látka; Dichlorvos; Katecholaminy; HI-6; Benaktyzin; Potkan.

Do redakce došlo 29. 3. 1996