

615.9:615.777-099-036.11:615.525

VLIV PANPALU NA TERAPEUTICKOU ÚČINNOST ANTIDOTNÍ KOMBINACE HI-6 S BENAKTYZINEM U AKUTNÍ OTRAVY POTKANA FOSDRINEM NEBO TRICHLORFONEM

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

Úvod

Organofosforové insekticidy (OFI) patří mezi nejvýznamnější insekticidy v zemědělství i domácnostech (4, 13). Jsou toxické především vůči hmyzu, ale vzhledem k velmi častému a ve světě velmi rozšířenému používání nejsou humánní-suicidální, náhodné i profesionální otravy těmito noxami nijak vzácné (3, 7).

Mezi relativně často používané OFI patří i trichlorfon (Dipterex, O,O-dimethyl-[1-oxy-2,2,2-trichlorethyl] fosfonát), bílý krystalický prášek s výbornými insekticidními účinky a relativně nízkou toxicitou vůči teplokrevným organismům (hodnota LD₅₀ při perorální otravě potkana se pohybuje kolem 600 mg/kg) (4, 12). Používá se především k ničení much v uzavřených místnostech, k ničení hmyzu ohrožujícího kulturní plodiny a konečně v boji proti ektoparazitům i endoparazitům domácích užitkových zvířat (4, 12).

Naopak fosdrin (Mevinfos, O,O-dimethyl-O-[1-carbomethoxyvinyl] fosfát), bezbarvá kapalina, patří mezi nejtoxičtější OFI vůči teplokrevným organismům (LD₅₀ se při perorální otravě potkana pohybuje kolem 5 mg/kg) (12). Proto se od jeho používání postupně upouští, přestože má velmi dobré insekticidní účinky především proti sajícím a kousajícím hmyzu (12).

Vzhledem k relativně časté možnosti otrav OFI je věnována značná pozornost zlepšování účinnosti antidotní terapie těchto intoxikací, která se skládá z anticholinergika, působícího jako antagonist acetylcholinu na cholinergních receptorech, a reaktivátoru acetylcholinesterázy (AChE, EC 3.1.1.7), který obnovuje fyziologickou funkci tohoto enzymu (10). Nejperspektivnější se z hlediska léčby akutních otrav OF sloučeninami nyní jeví kombinace oximu HI-6 (chemicky 1-(2-hydroxyiminomethylpyridinium)-3-(4-karboxamidopyridinium)-2-oxapropan dichlorid) (17) v kombinaci s periferně působícím atropinem nebo centrálně působícím benaktyzinem (BNZ). Bohužel testování účinnosti oximu HI-6 proti OFI nepotvrdilo očekávané zvýšení terapeutické účinnosti ve srovnání s klasickými reaktivátory (obidoxim, pralidoxim, trimedoxim), jako tomu bylo při experimentální terapii otrav vysoce toxickými OF sloučeninami (2, 18). Ve srovnání s antidotní kombinací obidoximu s atropinem byl oxim HI-6 s BNZ méně nebo maximálně stejně účinný při terapii akutní intoxikace fosdrinem či

trichlorfonem (20).

Jednou z cest zvýšení efektu antidotní terapie může být použití farmakologické profylaxe, která zvyšuje odolnost exponovaného organismu vůči účinkům OF sloučenin. Ve světě nejrozšířenějším způsobem farmakologické profylaxe otrav OF sloučeninami je podání reverzibilního inhibitoru AChE, obvykle pyridostigminu, který obsadí na určitý čas aktivní centrum AChE, a znemožní tak ireverzibilní inhibici enzymu OF sloučeninou (1). Profylaktický účinek pyridostigminu je však poměrně krátkodobý a slabý (11, 22). Zdá se proto být výhodné kombinovat v rámci profylaxe účinek pyridostigminu s anticholinergiky, která jednak přispívají k eliminaci nežádoucích účinků pyridostigminu, jednak k prodloužení a zesílení efektu profylaxe (1).

Na našem pracovišti bylo vyvinuto pod názvem Panpal tříložkové kombinované profylaktikum obsahující vedle reverzibilního inhibitoru AChE pyridostigminu dvě látky s anticholinergním účinkem - BNZ a trihexyfenidyl (1, 20).

Cílem této práce je srovnat vliv farmakologické profylaxe Panpalem na antidotní efekt oximu HI-6 v kombinaci s BNZ při akutní intoxikaci potkana fosdrinem či trichlorfonem cestou sledování změn hodnoty střední smrtné dávky (LD₅₀) při 24hodinovém přežívání pokusných zvířat.

Materiál a metody

Jako pokusná zvířata byli využiti samci bílých potkanů kmene Wistar chovu Konárovice o hmotnosti 200-250 g, kteří byli krmeni standardní Larsenovou dietou a vodou ad libitum.

Skupinám po 6 zvířatech byl fosdrin či trichlorfon podáván intramuskulárně (i. m.) v postupně se zvyšujících dávkách a byla sledována úmrtnost těchto zvířat do 24 hodin. Potkani, kteří přežili intoxikaci, byli ponecháni do 7. dne na pozorování za účelem vyloučení pozdních úmrtí.

Vybraným skupinám zvířat byl při prvních příznacích otravy podán i. m. oxim HI-6 v kombinaci s BNZ v dávkách odpovídajících 5 % námi zjištěné LD₅₀ při daném způsobu podání (HI-6 v dávce 33,1 mg/kg, BNZ v dávce 9,3 mg/kg) (8).

Jiným skupinám potkanů byl nejprve perorálně (p. o.) podán Panpal a po 60minutové profylaxi vlastní OFI (fosdrin či trichlorfon) v postupně se zvyšujících dávkách bez následné terapie nebo

s následnou terapií oximem HI-6 a BNZ při prvních příznacích otravy. Panpal byl aplikován sondou v běžně užívaných dávkách pro potkana - pyridostigmin v dávce 5,82 mg/kg, trihexyfenidyl v dávce 70 mg/kg a BNZ v dávce 16 mg/kg.

Příslušné střední smrtné dávky (LD_{50}) s intervaly spolehlivosti na 95% hladině významnosti byly počítány probit logaritmickou metodou (16). Efekt profylaxe na účinek obou OFI i zvolené kombinace antidot byl posuzován pomocí vzájemného poměru zjištěných hodnot LD_{50} (index účinnosti - IU).

Výsledky

Hodnoty LD_{50} neléčené intoxikace fosdrinem a intoxikace léčené oximem HI-6 s BNZ, případně ovlivněné profylaxí Panpalem, jsou uvedeny v tabulce 1. Z těchto hodnot vyplývá, že již samotná 60minutová profylaxe Panpalem signifikantně zvyšuje hodnotu LD_{50} na více než trojnásobek (IU - 3,29), i když ve srovnání s účinkem následné terapie (IU - 15,96) je efekt profylaxe relativně nízký. Je-li zkombinována profylaxe s následnou terapií, dochází k dalšímu vzestupu hodnoty LD_{50} až na 23násobek hodnoty LD_{50} neléčené intoxikace fosdrinem. To znamená, že profylaxe Panpalem signifikantně zvyšuje efekt dané antidotní terapie vůči fosdrinu.

Hodnoty LD_{50} neléčené intoxikace trichlorfonem stejně jako intoxikace léčené danou kombinací antidot, případně ovlivněné profylaxí Panpalem, jsou uvedeny v tabulce 2. Z těchto údajů vyplývá, že samotná 60minutová profylaxe Panpalem oslabuje toxicitu trichlorfonu mírně vyšší měrou (IU - 6,07) než samotná antidotní terapie podaná při prvních příznacích otravy (IU - 4,98). Kombinace profylaxe s následnou terapií vedla k dalšímu zvýšení odolnosti pokusných zvířat vůči trichlorfonu, takže hodnota IU signifikantně vzrostla na téměř osminásobek. Profylaxe Panpalem tedy signifikantně zvýšila efekt dané antidotní terapie vůči trichlorfonu.

Diskuse

Časté používání OFI přináší s sebou relativně časté nebezpečí intoxikace těmito noxami, především u pracovníků v zemědělství, pilotů práškových letadel a obyvatel žijících blízko ploch postříkovaných OFI (13, 14, 15). Navíc opakovaná expozice OFI může vést k hepatotoxicitě (25), poruchám nervosvalové dráždivosti (6) i teratogenitě či genotoxicitě (5, 21). Proto hledání způsobů zvýšení odolnosti rizikových osob přicházejících pravidelně do kontaktu s OFI patří mezi významná opatření, zvláště když víme, že terapeutická účinnost dosud

Tabulka 1

Vliv Panpalu na odolnost potkana vůči i. m. intoxikaci fosdrinem a na účinek antidotní terapie (* - statistická významnost)

Intoxikace	Profylaxe	Terapie	LD_{50} (mg/kg)	IU	IU s profylaxí / IU bez profylaxe
neléčená	-----	-----	0,51 (0,46-0,56)		
neléčená s profylaxí	PANPAL	-----	1,68 (1,56-1,82) *	3,29	-----
léčená bez profylaxe	-----	HI-6 s BNZ	8,14 (7,39-8,98) *	15,96	1,45
léčená s profylaxí	PANPAL	HI-6 s BNZ	11,77 (9,25-14,99) *	23,08	

Tabulka 2

Vliv Panpalu na odolnost potkana vůči i. m. intoxikaci trichlorfonem a na účinek antidotní terapie (* - statistická významnost)

Intoxikace	Profylaxe	Terapie	LD_{50} (mg/kg)	IU	IU s profylaxí / IU bez profylaxe
neléčená	-----	-----	222,5 (174,0-262,1)		
neléčená s profylaxí	PANPAL	-----	1351,0 (1249,4-1460,4) *	6,07	-----
léčená bez profylaxe	-----	HI-6 s BNZ	1107,4 (989,6-1333,0) *	4,98	1,57
léčená s profylaxí	PANPAL	HI-6 s BNZ	1734,5 (1477,8-2035,8) *	7,80	

používaných antidot není vůči OFI uspokojivá (20).

Opakovaně bylo prokázáno, že farmakologická profylaxe zvyšuje odolnost exponovaných pokusných zvířat vůči vysoce toxickým OF sloučeninám (11, 19). Někteří autoři také poukazují ve svých pracích na fakt, že farmakologická profylaxe může mít příznivý vliv na celkový terapeutický účinek následné antidotní terapie akutních otrav vysoce toxickými OF sloučeninami (1, 19). V jiných pracích je naopak tento příznivý efekt farmakologické profylaxe na antidotní léčbu popírán (23, 24).

V této práci byla zjištěna schopnost profylakticky podaného Panpalu zvýšit odolnost intoxikovaného organismu také vůči OFI zřejmě cestou ochrany místa toxického účinku noxy. V případě akutní intoxikace trichlorfonem dokonce účinnost Panpalu dosáhla terapeutického efektu antidotní kombinace HI-6 s BNZ. Navíc Panpal signifikantně zvýšil u obou testovaných OFI efekt stejné následné antidotní terapie. Tento efekt Panpalu však podobně jako v případě intoxikace vysoce toxickými OF sloučeninami neplatí pro všechny OFI. Například účinek následné terapie intoxikace OFI dichlorvosu nebyl profylakticky podaným Panpalem ovlivněn (9).

Souhrn

V pokusech na samcích potkana byl sledován vliv farmakologické profylaxe Panpalem (pyridostigmin v kombinaci s benaktyzinem a trihexyfenidylem) na terapeutický účinek oximu HI-6 v kombinaci s benaktyzinem při terapii akutní intoxikace organofosforovými insekticidy fosdrinem a trichlorfonem cestou ovlivnění střední smrtné dávky (LD_{50}) při 24hodinovém přežívání pokusných zvířat.

Samotná profylaxe Panpalem signifikantně zvýšila hodnotu LD_{50} neléčené intoxikace fosdrinem, ale toto zvýšení bylo výrazně menší ve srovnání s účinkem vlastní antidotní terapie. Přesto kombinace profylaxe s následnou antidotní terapií signifikantně zvýšila hodnotu LD_{50} fosdrinu ve srovnání se samotnou antidotní léčbou. V případě intoxikace trichlorfonem již samotná profylaxe Panpalem zvýšila hodnotu LD_{50} stejnou měrou jako následná antidotní terapie a kombinace profylaxe s antidotní terapií ještě tento efekt signifikantně zvýšila.

Poděkování

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

Literatura

- BAJGAR, J. - FUSEK, J. - VACHEK, J.: Treatment and prophylaxis against nerve agent poisoning. *ASA Newlett.*, 94-4, 1994, č. 43, s. 10-11.

- DAWSON, R. M.: Review of oxime available for treatment of nerve agent poisoning. *J. appl. Toxicol.*, 14, 1994, č. 5, s. 317-331.
- 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. 2. 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.
- 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.
- 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 disertace]. Hradec Králové 1991, 162 s. VLA JEP.
- KASSA, J.: Vliv farmakologické profylaxe na terapeutickou účinnost antidot při terapii akutní intoxikace dichlorvosu u potkanů. *Voj. zdrav. Listy*, 65, 1996, č. 1, s. 13-15.
- MARRS, T. C.: Organophosphate poisoning. *Pharm. Ther.*, 58, 1993, s. 51-66.
- MAXWELL, D. M. et al.: Comparison of antidote protection against soman by pyridostigmin, HI-6 and acetylcholinesterase. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 264, 1992, č. 3, s. 1085 až 1089.
- 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 až 61.
- RICHTER, E. D. et al.: Health effects from exposure to organophosphate pesticides in workers and residents in Israel. *Isr. J. med. Sci.*, 28, 1992, s. 584-597.
- RICHTER, E. D. et al.: Illness and excretion of organophosphate metabolites four months after household pest examination. *Arch. environ. Health*, 47, 1992, č. 2, s. 135 až 138.
- ROTH, Z. et al.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, SZN 1962. 585 s.
- ROUSSEAU, C. G. - DUA, A. K.: Pharmacology of HI-6, an H-series oxime. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 67, 1989, s. 1183-1189.
- 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.
- VACHEK, J.: Toxikologie a léčebné ovlivnění otravy cyklosimem. *Voj. zdrav. Listy*, 61, 1992, č. 4, s. 166-170.
- VACHEK, J. - KASSA, J. - FUSEK, J. - BAJGAR, J.: Novější způsoby léčby intoxikace organofosfáty. In: Sbor. věd. Prací VLA JEP Hradec Králové. 116. Hradec Králové, VLA 1993, s. 67-95.
- VILLAR, D. - LI, M. H. - SCHAEFFER, D. J.: Toxicity of organophosphorus pesticides to *Dugesia Dorotocephala*. *Bull. environ. Contam. Toxicol.*, 51, 1993, s. 80-87.
- 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.
- WOREK, F. - SZINICZ, L.: Cardiorespiratory function in nerve agent poisoned and oxime + atropine treated guinea-pigs: effect of pyridostigmine pretreatment. *Arch. Toxicol.*, 69, 1995, s. 322-329.
- WOREK, F. - KLEINE, A. - SZINICZ, L.: Effect of pyridostigmine

- stigmine on cardiorespiratory function in tabun poisoning. Hum. exper. Toxicol., 14, 1995, s. 634-642.
25. YAMANO, T. - MORITA, S.: Hepatotoxicity of trichlorfon and dichlorvos in isolated rat hepatocytes. Toxicology, 76, 1992, s. 69-77.

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

Do redakce došlo 22. 1. 1996