

ISTRAŽIVANJE PERKUTANE TOKSIČNOSTI
ORGANOFOSFORNIH SPOJEVA
1. TOKSIČNOST PARATIONA U ODNOSU NA
PRIPREMU POVRŠINE KOŽE I NAČIN
APLIKACIJE OTROVA

M. VANDEKAR i I. KOMANOV

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

(Primljeno 31. I 1963)

Istražen je učinak pripreme površine kože štakora kao i pokrivanje kontaminirane površine na perkutanu otrovnost parationa. Uklanjanje masnog sloja s ošišane kože leda 24 sata prije aplikacije otrova nije utjecalo na otrovnost parationa.

Pokrivanje kontaminiranog mjesta politenskim listićem smanjilo je otrovnost parationa za oko 2 puta, a pokrivanje kontaminiranog mjesta leukoplastom za oko 3,5 puta.

Pokusi u kojima je mogućnost ingestije otrova kod nepokrivenih štakora bila djelomično ili potpuno spriječena pokazali su da veće LD₅₀ vrijednosti dobivene pokrivanjem kontaminiranog mjesta nisu rezultat spriječenog unošenja otrova peroralnim putem, već su posljedica smanjenog prodiranja parationa kroz kožu. To se može tumačiti adhezijom otrova na politenski listić, odnosno leukoplast, kojima je kontaminirano mjesto bilo pokriveno.

Pošto su američki autori (1-4) pokazali da je koža najvažniji put ulaska otrova pri profesionalnoj ekspoziciji pesticidima, znatno je porastao interes za istraživanje perkutane apsorpcije pesticida, a napose onih iz grupe organofosfornih spojeva. Ta se istraživanja odnose bilo na ocjenu perkutane otrovnosti određenog pesticida (5, 6) ili se ti spojevi koriste s ciljem da saznamo više o načinu njihove apsorpcije kroz kožu (7-9). I jedna i druga istraživanja od velikog su značenja za ocjenu njihove bezopasne primjene.

Eksperimentalni postupci kojima pojedini autori ocjenjuju perkutanu otrovnost nekog spoja nisu ujednačeni ni s obzirom na pripremu površine kože prije aplikacije, a ni u odnosu na sam način aplikacije otrova na kožu. Zbog toga perkutane LD₅₀ vrijednosti različitih autora variraju u mnogo većem opsegu od onih koje su dobivene drugim putevima

aplikacije. Usporedimo li LD_{50} vrijednosti američkih (5) i engleskih (6) autora vidimo da se rezultati ocjene peroralne otrovnosti za određene organofosforne spojeve među sobom vrlo dobro podudaraju, dok je perkutana otrovnost istih spojeva, prema ocjeni američkih autora, znatno veća od one koju navode engleski autori (tablica 1).

Tablica 1

Uspoređenje peroralnih i perkutanih LD_{50} vrijednosti dvaju autora

Organo-fosforni insekticidi	Peroralna LD_{50} vrijednost (mg/kg)			Perkutana LD_{50} vrijednost (mg/kg)		
	Gaines (5)		Edson (6)	Gaines (5)		Edson (6)
	♂	♀	*	♂	♀	*
Demeton	6,2	2,5	4	14	8,2	200
Parathion	13	3,6	3—6	21	6,8	75—200
Phosdrin	6,1	3,7	3—4	4,7	4,2	90
Schradan	9,1	4,2	5	15	44	50—100
Thimet	2,3	1,1	3	6,2	2,5	80
Trithion	30	10	10—30	54	27	800

* Spol nije naznačen

Očito je uzrok tim razlikama u različitom eksperimentalnom postupku pri ocjeni perkutane toksičnosti. U stvari, *Edson i sur.* (6) pokrivali su mjesto nakon aplikacije otrova na kožu cirkularnim zavojem leukoplasta, dok je *Gaines* (5) ostavljao površinu kože leđa, na koju je aplicirao otrov nepokriveno. Znatno niže LD_{50} vrijednosti američkih autora smatrane su za neispravne, budući da pri njihovu postupku kontaminirano mjesto kože nije bilo pokriveno, i zbog toga je postojala mogućnost unošenja otrova u organizam ingestijom.

Brojni faktori uvjetuju varijabilnost rezultata pri ocjeni akutne toksičnosti (10). Ti su faktori relativno slabo istraženi u odnosu na perkutanu apsorpciju otrova. Upoznavanje osnovnih faktora od kojih zavisi perkutana toksičnost bilo kojeg spoja, tj. standardizacija postupka za ocjenu perkutane otrovnosti, od osnovnog je značenja pri međusobnom uspoređivanju otrovnosti srodnih spojeva. U razrađivanju metode za ocjenu perkutane toksičnosti nastojali smo saznati koliko određeni postupak aplikacije utječe na perkutanu otrovnost parationa. U prvoj smo fazi istražili utjecaj pripreme površine kože i značenje pokrivanja kontaminiranog mjesta u odnosu na eventualnu mogućnost ingestije otrova.

MATERIJAL I METODE

Paration (0,0-dietil O-p-nitrofenil tiofosfat) dobili smo kao 99,5% čistu supstanciju od G. Schradera iz Bayerovih laboratorija, Leverkusena, Zap. Njemačka. Spoj smo držali u tami na +4° C.

Za pokus smo upotrijebili muške albino štakore istog soja, težine 250–300 grama. Kožu leđa ošišali smo na čitavoj površini pomoću električnog aparata za šišanje. Uklanjanje dlake vršili smo s najvećim oprezom i neposredno nakon šišanja kožu smo temeljito prali sapunom i vodom (5 minuta). Tek 24 sata nakon šišanja aplicirali smo otrov. Taj smo vremenski razmak smatrali dovoljnim da zacijele eventualne mikrolezije nastale pri šišanju.

Paration smo aplicirali u nerazrijeđenom obliku pomoću Agla mikroštrcaljke. Pri svakoj aplikaciji paration smo maksimalno razmazali nježnim povlačenjem igle pljoštimice po površini kože. Budući da je raspon apliciranih doza bio vrlo velik (od 25,3–170,0 mg/kg), nužno je i kontaminirana površina kože varirala (od oko 2 cm² do 25 cm²). Centar kontaminirane površine bio je udaljen za oko 7 cm od zatiljka.

S obzirom na dalji postupak varirali smo ovako: Od životinja kojima je površina aplikacije ostala nepokrivena, jednu smo grupu smjestili u skupni kavez i time omogućili ingestiju otrova u punoj mjeri (bilo da smo ih individualno čistili ili su se one međusobno lizale). Drugu grupu životinja smjestili smo u zasebne kaveze i time smo omogućili unošenje otrova peroralnim putem kad se životinje čiste. Životinje treće grupe smještavali smo u Bollmanove kaveze (11). Ti kavezi sprečavaju okretanje životinje u toj mjeri da se ona ne može čistiti, i prema tome je peroralno unošenje otrova bilo isključeno.

Od životinja kojima smo površinu aplikacije pokrili, jednoj smo grupi pokrivali leđa politenskim listićem koji smo fiksirali cirkularnim zavojem leukoplasta, a drugoj izravno leukoplastom, također u obliku cirkularnog zavoja. Posljednji način aplikacije bio je jednak onome koji primjenjuju Edson i suradnici (6, 12). Stavljene zavoj nismo skidali sve do kraja opservacijskog perioda (7 dana).

LD₅₀ vrijednosti sa 95% granicama pouzdanosti izračunali smo metodom pomičnih srednjih vrijednosti, što su je opisali Thompson (13) i Weil (14).

REZULTATI I DISKUSIJA

S obzirom na različitu pripremu površine kože, nije bilo razlika u toksičnosti parationa za štakore, bez obzira da li im je 24 sata prije aplikacije otrova koža bila oprana ili nije (tablica 2). Međutim, nastup simptoma i ugibanje životinja bili su znatno jednoličniji od životinja kojima je dan prije bio skinut masni sloj i prljavština s kože.

Tablica 2

Perkutana toksičnost parationa za štakore – Različiti načini pripreme površine kože

Priprema površine kože	LD ₅₀ vrijednosti (95%o-granice pouzdanosti)
Oprana koža	62,6 (56,2–69,7)
Neoprana koža	61,7 (47,7–79,5)

Podaci za letalitet i izračunane LD₅₀ vrijednosti za različite načine aplikacije otrova na kožu u odnosu na pokrivanje kontaminiranog mjesta, te omogućavanje ingestije otrova prikazani su na tablici 3. Rezultati jasno pokazuju da nema razlika u otrovnosti parationa među gru-

Tablica 3

Perkutana toksičnost parationa pri različitim načinima aplikacije štakorima

Doza (mg/kg)	Površina aplikacije nepokrivena			Površina aplikacije pokrivena	
	Skupni kavez	Zasebni kavez	Bollmanov kavez	Politen-skim listićem	Leukoplastom
25,3	—	—	0/4	—	—
30,1	0/4	1/4	3/4	—	—
35,7	2/4	1/4	—	0/6	—
42,2	3/4	3/4	4/4	0/6	—
50,6	3/4	4/4	—	0/6	—
60,2	4/4	—	—	2/6	—
71,3	—	—	—	5/6	—
85,0	—	—	—	3/6	—
101,2	—	—	—	6/6	0/4
120,3	—	—	—	6/6	0/4
142,6	—	—	—	—	3/4
170,0	—	—	—	—	4/4
LD ₅₀ 95%o pouzdanosti granice	38,6 (33,8–44,0)	38,3 (31,7–46,2)	30,1 (26,6–34,0)	62,6 (56,2–69,7)	138,9 (126,9–152,0)

pama životinja kojima je površina aplikacije ostala nepokrivena, premda su za jednu grupu životinja postojale sve mogućnosti za peroralno unošenje otrova (skupni kavez), za drugu grupu djelomična mogućnost ingestije otrova (zasebni kavez), a trećoj eksperimentalnoj grupi ingestija otrova je bila potpuno onemogućena (Bollmanov kavez).

S druge strane, pokrivanje kontaminiranog mjesta na koži politenskim listićem smanjilo je otrovnost parationa za oko 2 puta, a kod životinja kojima je mjesto aplikacije otrova bilo pokrivena izravno leukoplastom za oko 3,5 puta.

Potvrđena je pretpostavka da su velike razlike u rezultatima ocjene perkutane otrovnosti američkih i engleskih autora uzrokovane različitim načinima aplikacije otrova. I u našim su pokusima dobivene znatno veće LD₅₀ vrijednosti kad smo pokrili mjesto kontaminacije na koži. Naši su pokusi, međutim, pokazali da te veće LD₅₀ vrijednosti nisu rezultat spriječenog unošenja parationa peroralnim putem, već su posljedica smanjenog prodiranja otrova kroz kožu. Nije vjerojatno da je smanjeno prodiranje parationa uzrokovano poremećenom cirkulacijom krvi u kožu zbog kompresije cirkularnog zavoja. Mnogo je vjerojatnije da je glavni uzrok smanjenog prodiranja parationa adhezija otrova na politenski listić, a napose na leukoplast (tablica 3). Pritisak cirkularnog zavoja bez sumnje je povećao površinu kontaminacije prema onoj pri aplikaciji istih doza, ali bez pokrivanja. Ipak, to povećanje površine nije se izrazilo u većoj otrovnosti, kao što bismo to mogli očekivati na osnovu naših drugih zapažanja (15). Očito je efekt povećanja kontaminirane površine bio znatno manji od učinka adhezije otrova na relativno veliku površinu zavoja.

Ova istraživanja vršena su uz dopunsko financiranje Savjeta za naučni rad NR Hrvatske.

Na vrijednoj suradnji i pomoći zahvaljujemo. T. Fajdetiću, tehničkom suradniku Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada.

Literatura

1. Batchelor, G. S. i Walker, K. C.: Arch. Industr. Hlth., 10 (1954) 522.
2. Batchelor, G. S., Walker, K. C. i Elliott, J. W.: Arch. industr. Hlth., 13 (1956) 593.
3. Culver, D., Kinoshita, J., Thielen, W. i Graul, R.: Arch. industr. Hlth., 18 (1958) 235.
4. Wolfe, H. R., Walker, K. S., Elliott, J. W. i Durham, W. F.: Bull. World
5. Gaines, T. B.: Toxicol. Appl. Pharmacol., 2 (1960) 88.
6. Edson, E. F.: Pharmac. J., (1960) 361.
7. Fredriksson, T., Farrior, W. L. Jr. i Witter, R. E.: Acta Dermato-Venereol., 41 (1961) 335.
8. Fredriksson, T.: Acta Dermato-Venereol., 41 (1961) 344.
9. Fredriksson, T.: Acta Dermato-Venereol., 41 (1961) 353.
10. Svetličić, B. i Vandekar, M.: Arh. hig. rada, 9 (1958) 11.
11. Bollman, J. L.: J. lab. clin. Med., 33 (1948) 1348.
12. Edson, F. F. i Noakes, D. N.: Toxicol. Appl. Pharmacol. 2 (1960) 523.
13. Thompson, W. R.: Bact. Rev., 11 (1947) 115.
14. Weil, C. S.: Biometrics, 8 (1952) 249.
15. Vandekar, M., Komanov, I. i Kobrehel, D.: Arh. hig. rada, 14 (1963) 13.

Summary

STUDY OF DERMAL TOXICITY OF
ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS. I. PARATHION
TOXICITY IN RELATION TO THE SKIN SURFACE
AND THE TECHNIQUE OF APPLICATION

The effect of the preparation of the rat's skin surface and the covering of the contaminated area on dermal Parathion toxicity was investigated.

The removal of the fatty layer from the clipped back skin area 24 hours prior to the application of the poison had no effect on Parathion toxicity.

Parathion toxicity was reduced to about twice when the contaminated area was covered with a polythene sheet, and to about three and a half times when covered with a leukoplast.

The experiments, in which the possibility of ingestion of the poison in uncovered rats was partly or completely avoided, have shown that higher LD₅₀ values obtained by covering the contaminated area were not due to the prevented introduction of the poison by ingestion but to a reduced penetration of Parathion through the skin. This may be explained by the adhesion of the poison to the polythene sheet or leukoplast by which the contaminated area was covered.

*Institute for Medical Research,
incorporating the Institute of
Industrial Hygiene, Zagreb*

*Received for publication
January 31, 1963*