

UTICAJ DFP-a NA RESORPCIJU IZ SUPKUTANOG TKIVA*

B. BOŠKOVIĆ, D. LEKOVIĆ, P. STERN

Institut za farmakologiju Medicinskog fakulteta u Sarajevu

(Prilježeno 5. III 1962)

Kod trovanja diizopropilfluorofosfatom usporena je resorpcija sulfacetamida iz potkožnog tkiva u krv štakora zbog edema supkutanog tkiva. Davanje atropina ne normalizuje resorpciju sulfacetamida kod trovanja DFP-om. Ako se holinesteraza inhibirana DFP-om reaktivira sa TMB-4 ili PAM-2, onda više nema razlike u resorpciji kod zatrovanih i kontrolnih životinja.

Od dva ispitana oksima TMB-4 i PAM-2, samo TMB-4 sam po sebi smanjuje resorpciju sulfacetamida iz potkožnog tkiva u krv, dok PAM-2 ne utiče na ovu resorpciju.

Mi smo nedavno ispitivali uticaj holinesteraznih otrova neostigmina i DFP-a na permeabilitet kože i došli smo do zaključka da pod uticajem ovih dvaju otrova dolazi do jakog povećanja permeabiliteta (1). Štakori kojih je rep bio uronjen u otopinu KCN, a primali su prethodno jedan od pomenutih holinesteraznih (Che) otrova, ugibali su brže od kontrola. Kod ovih eksperimenata opazili smo da dolazi do jakog edema, tj. do sakupljanja vode u potkožnom tkivu. Očekivali smo da će zbog edema doći i do težeg transporta otrova u cirkulaciju. Međutim, čini se, da je koža zbog pomenutih otrova toliko oštećena, te je KCN resorbiran u velikoj količini, pa je došlo do bržeg ugibanja nego kod kontrola. Da su navedene promjene nastale u potkožnom tkivu u vezi s djelovanjem holinesteraznih otrova, potvrđuju nam naši raniji radovi (4) kao i eksperimenti *Holmstedta* i saradnika (8) koji su pored ostalih patoloških nalaza kod ovih trovanja ustanovili i edematozne promjene u potkožnom tkivu.

Još 1892. godine *Asher* (9) je ustanovio da se natrijev jodid injiciran supkutano apsorbira direktno u krvotok, dok resorpcija preko limfatičnog sistema u krvotok nema kvantitativni značaj. U novije vrijeme *Stone i Miller* (10) su potvrdili ovaj *Asherov* nalaz i ustanovili da samo

* Kratko saopšteno na simposiumu o holinesteraznim otrovima u Zagrebu 19. i 20. decembra 1961. godine.

1% injiciranog natrijeva hlorida odlazi u ductus thoracicus, a 99% se resorbira kroz kapilarni sistem u krvotok. Ovu resorpciju omogućuje mala debljina zida kapilara i velika ukupna površina kapilarne mreže u odnosu na ostale krvne sudove. Nedavno je objavljen jedan prikaz radova o resorpciji lijekova iz supkutanog tkiva (11) iz koga se vidi da do sada nije uopšte ispitivan uticaj vegetativnog nervnog sistema na tu resorpciju, mada ovaj sistem igra najvažniju ulogu u regulisanju tonusa kapilara.

Iz ovih razloga bilo je interesantno vidjeti kako će se ponašati jedan farmakum dan supkutano, ako je životinja zatrovana jednim jakim holinesteraznim otrovom, tj. DFP-om. Bilo je interesantno vidjeti da li će aplikacija atropina, koji uklanja muskarinske efekte kod životinja zatrovanih Che otrovima, imati efekta na brzinu resorpcije kao i da li će reaktivacija već inaktivirane holinesteraze sa N. N⁷ trimetilen bis (4 hidroksimino metilpiridinium bromid) (TMB-4) i piridin 2-aldoksim metjodid (PAM-2) mijenjati sliku resorpcije u odnosu na inhibiranu holinesterazu. Pitanje ima posve praktični značaj, da se vidi da li će se u slučaju otrovanja injekcija jednog antidota holinesteraznih otrova brzo resorbirati ili je bolje dati antidot intravenozno. Kod teških stanja trovanja brzina resorpcije antidota može odlučiti o uspjehu intervencije.

METODA

Za eksperimente su uzeti štakori oba spola, težine 100–200 g. DFP je davan i. m. 1,5 mg/kg u volumenu od 0,2 ml/100 g težine. Za brzinu resorpcije ispitivali smo sulfacetamid, jer smo u jednom prijašnjem radu konstatirali da ne djeluje histaminliberatorno (HL), tako da ne ometa sam sebi resorpciju (2). Injicirali smo sulfacetamid natrija 50 mg/kg s. k. (0,1 ml/100 g težine) 1 sat iza davanja DFP-a. 10 minuta poslije injiciranja sulfacetamida životinje su ubijene dekapitacijom, a sulfacetamid određen u krvi po metodi Wenera spektrometrijski (3) (spektrofotometar Beckman, model DU).

Atropin, TMB-4 i PAM-2 su davani i. p. u volumenu od 1 ml na 100 g težine, u dozama koje su navedene u tablicama, a kontroli je injiciran 1 ml 0,9% NaCl. Sve grupe su primile atropin, TMB-4 i PAM-2 30' prije sulfacetamida, a DFP je davan 1 sat prije sulfacetamida.

Kako se vidi iz priložene tablice, postoji velika razlika u brzini resorpcije zatrovanih i nezatrovanih štakora. Kod pokusnih štakora koncentracija sulfacetamida je izrazito niža nego kod kontrolnih. Sam sulfacetamid u dozi u kojoj smo ga davali nije uticao na kliničku sliku trovanja sa DFP-om, tako da on nije mogao nikako uticati na brzinu resorpcije.

Tablica

R. br.	Supstancija	Broj štakora	Sulfa- cetamid u 1 ml krvi	S. E.	P
1	—	28	118	± 5,6	—
2	DFP 1,5 mg/kg	28	79	± 4,1	< 0,001
3	Atropin 50 mg/kg	8	112	± 3,9	> 0,2
4	DFP + Atropin	8	70	± 6,2	< 0,001
5	TMB-4 20 mg/kg	9	86	± 6,1	< 0,001
6	DFP + TMB-4	9	85	± 5,6	< 0,001
7	PAM-2 50 mg/kg	8	126	± 9,7	> 0,4
8	DFP + PAM-2	8	118	± 4	—

Statistička obrada rađena po C. W. Eramens, Principles of Biological Assay, Chapman and Hall Ltd, London 1948.

Sam atropin neznatno smanjuje resorpciju, a kad se da iza DFP-a ne mijenja brzinu resorpcije, iako su simptomi trovanja uklonjeni. Sam TMB-4 smanjuje resorpciju sulfacetamida, ali reaktivacijom holinesteraze ukida tako dobro efekt DFP-a da nema razlike u resorpciji između onih životinja koje su primile samo TMB-4 i onih koje su prethodno primile DFP, pa iza toga TMB-4. PAM također uklanja razliku u brzini resorpcije sulfacetamida u odnosu na kontrolu.

DISKUSIJA I ZAKLJUČAK

Mi smo u jednom nedavnom radu pokazali da nije irelevantno u koju regiju kože dajemo jednu supkutanu injekciju i da kod toga igra važnu ulogu količina histamina (H) u toj regiji. Ako supstancija nije histamin liberator, ako ne izaziva sama edem na mjestu injekcije, brže će se resorbirati iz regije bogate na histaminu nego iz regije kože siromašne na histamin. Te smo eksperimente radili i sa sulfacetamidom. Otrovi koji su sami po sebi histamin liberatori, kao npr. morfijum, resorbiraju se sporije u zavisnosti od količine histamina u toj regiji. Iz ovog jasno izlazi da edem sprečava resorpciju. Spomenuti eksperimenti potpuno se slažu sa sadanjima.

Sulfacetamid nije histamin liberator, o čemu smo se sami uvjerali mjerenjem količine histamina u koži štakora, pa ipak je njegova resorpcija usporena kod životinja gdje apriori imamo edeme supkutanoga tkiva, koji je u ovome slučaju izazvan inaktivacijom holinesteraze.

Da inhibicija holinesteraze stvarno dovodi do edema mogli smo pokazati u jednom prijašnjem radu, gdje je došlo do povećanja intercelularne tečnosti iza davanja prostigmina i DFP-a (1,4). Samo reaktiva-

cija holinesteraze pomoću TMB-4 ili PAM-2, a ne uklanjanje muskarinskih simptoma pomoću atropina, uspostavlja opet normalne odnose resorpcije iz supkutanog tkiva. Iz toga nužno izlazi da holinesteraza i acetilholin čine jednu funkcionalnu jedinicu. Mi smo prije mislili da bi holinesteraza mogla biti receptor za AcH (5), ali otkad su *Nachmansohn* i njegovi saradnici (6) izolirali receptor za taj biogeni amin, ova predodžba ne može se više tako interpretirati. No kako vidimo, fiziološka funkcija acetilholina dolazi ipak do izražaja samo kad je aktivna holinesteraza i prema tome nije dovoljan samo receptor. To potpuno potvrđuje radove *Greiga* i saradnika (7, 14-20).

Od dva ispitivana oksima, TMB-4 i PAM-2, samo TMB-4 smanjuje resorpciju sulfacetamida, dok PAM-2 praktički ne utiče na tu resorpciju. Noviji radovi u vezi sa TMB-4 pokazuju da ovaj oksim, pored toga što reaktivira holinesterazu inhibiranu organofosfatima, ima i niz drugih interesantnih farmakoloških djelovanja koja nisu u vezi sa reaktivacijom inhibirane holinesteraze (12, 13). Na osnovu dosadašnjeg poznavanja mehanizma djelovanja TMB-4, mi za sada ne možemo protumačiti zašto ovaj spoj smanjuje resorpciju sulfacetamida iz supkutanog tkiva. Možda je uzrok smanjenoj resorpciji činjenica da TMB-4 jako smanjuje krvni pritisak kod raznih životinja, pa i kod štakora, kako su to nedavno pokazali *Wellhöner* (12) i saradnici. Procjenjujući ove rezultate sa stajališta terapije trovanja bojnim otrovima ili insekticidima, moramo zaključiti da je bolje davati i specifične antidote, pa i simptomatska farmaka i. v., osobito ako se radi o teškom stadiju.

Za izradu ovog rada zahvaljujemo za materijalnu pomoć Komisiji za medicinsko-naučna istraživanja, Beograd.

Literatura

1. *Bošković, B., Stern, P.*: Vojno San. Pregled 16, 9 (1959) 693.
2. *Stern, P., Moljević-Višnjevac, O.*: Wiener Klin. Wschr., štampi.
3. *Werner, A. E. A.*: Lancet (1939) 243, 18, citirano od *Schou, J.* Acta Pharmacol. et toxicol. 14 (1958), 251.
4. *Begović, S., Džinić, S., Košak, R., Stern P.*: Acta neuroveg. 3 (1951) 651.
5. *Stern, P.*: Acta neuroveg. 13 (1956) 209.
6. *Nachmansohn, D.*: Chemical and Molecular Basis of Nerve Activity, Academic Press - New York and London, 1959.
7. *Greig, M. E., Holland, W. G.*: Science 2 (1949) 2856.
8. *Holmstedt, B., Krook, L. and Rooney, I. R.*: Acta pharm. tox., Kbb 13,337, 1957, citirano prema *Holmstedt B.*: Pharmacol. Rev. 11 (1957) 567.
9. *Asher, L.*: Z. Biol. 29, 247, 1892 cit. prema 11.
10. *Stone, P. W., Miller, W. B.*: Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 71 (1949) 529.
11. *Schou, J.*: Pharmacol. Rev. 13 (1961) 441.

12. Wellhöner, H. H., Wiezorek, W. D., Morgenstern, C., Aaschhour, M.: *Med. exp.* 5 (1961) 49.
13. Milošević, M., Terzić, M., Vasić, B.: *Voj. San. Pregled* 17 (1960) 1143.
14. Holland, W. C.: *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 111 (1954) 1.
15. Greig, M. E., Holland, W. C.: *Am. J. Physiol.* 164 (1951) 423.
16. Holland, W. C., Greig, M. E.: *Arch. Biochem. Biophysic.* 39 (1952) 77.
17. Holland, W. C., Greig, M. E.: *Arch. Biochem. Biophysic.* 32 (1951) 423.
18. Holland, W. C., Dunn, C. E., Greig, M. E.: *Am J. Physiol.* 168 (1952) 546.
19. Greig, M. E., Faulkner, T. C., Mayberry, T. C.: *Arch. Biochem. Biophysic.* 43 (1953) 39.
20. Holland, W. C., Greig, M. E., Dunn, C. E.: 176 (1954) 227.

Summary

EFFECT OF DFP ON THE RESORPTION FROM SUBCUTANEOUS TISSUE

In diisopropyl fluorophosphate rat poisoning the resorption of sulfacetamide from subcutaneous tissue into the blood is delayed owing to the oedema of subcutaneous tissue. The administration of atropine does not normalize the resorption of sulfacetamide in DFP poisoning. If cholinesterase inhibited by DFP is reactivated with TMB-4 or PAM-2, there is no longer any difference in resorption between poisoned and control animals.

Out of the two oximes studies - TMB-4 and PAM-2 - only TMB-4 decreases the resorption of sulfacetamide from subcutaneous tissue into the blood, while PAM-2 has no effect on this resorption.

*Institute of Pharmacology,
Medical Faculty, University of Sarajevo,
Sarajevo*

*Received for publication
March 5, 1962*