

TERAPIJSKE MOGUĆNOSTI PRI OTROVANJU ORGANSKIM FOSFORNIM SPOJEVIMA*

B. SVETLIČIĆ

*Zavod za farmakologiju i toksikologiju Veterinarskog fakulteta i Institut
za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb*

(Primljeno 27. XII 1961)

Iznesen je kratak pregled načina djelovanja farmakoloških i toksičkih učinaka organskih fosfornih spojeva. Prikazano je antidotno djelovanje atropina i oksima pri otrovanju organofosfatima. Istaknuta je i važnost istraživanja novih reaktivatora kolinesteraze.

Toksički učinak organskih fosfornih spojeva tumači se inhibicijom enzima acetilkolinesteraze i nagomilavanjem acetilkolina na svim onim mjestima gdje on posreduje u prijenosu podražaja. To se dešava na motornim pločama skeletnih mišića, živčanim sinapsama centralnog nervnog sistema, na ganglijskim sinapsama, žlijezdama i svim organima inerviranim kolinergičnim autonomnim vlaknima. U fiziološkim uslovima acetilkolin je neposredno nakon prenošenja impulsa podvrgnut hidrolitičkoj razgradnji koju katalizira kolinesteraza.

Perkutano, per os ili inhalacijom uneseni organski fosforni spojevi reagiraju s kolinesterazom i pri tom dolazi do fosforilacije, odnosno inhibicije enzima. Shematski se inhibicija predočuje ovako:



enzim + inhibitor → kompleks → inhibirani enzim + acilni ostatak.

U suštini, jednaka reakcija odvija se i pri hidrolizi acetilkolina:



enzim + acetilkolin → kompleks → kolin + acetilirani enzim

Razlika je samo u brzini kojom se odvijaju pojedine faze obiju reakcija i u stabilnosti konačnih produkata. Acetilirani enzim vrlo je nestabilan.

* Referat održan na IV stručnom sastanku Udruženja za sudsku medicinu, Porto-
rož, 25-28. IV 1961.

bilan i brzo reagira s vodom – a fosforilirani enzim mnogo je stabilniji i može se osloboditi tek u nazočnosti jačih nukleofilnih reagensa.

Učinci akumuliranog acetilkolina mogu se razlučiti na muskarinske, nikotinske i učinke izražene na centralnom nervnom sistemu. Muskarinski su efekti odraz djelovanja acetilkolina na kolinergična autonomna vlakna i očituju se u bradikardiji, bronhokonstrikciji i pojačanoj bronhosekreciji, ubrzanoj peristaltici i pojačanoj sekreciji žlijezda probavnog trakta, hipersekreciji suznih, slinskih i znojnih žlijezda, miozi, kontrakciji detrusora i popuštanju sfinktera mokraćnog mjehura. Nikotinski učinci, kao posljedica djelovanja acetilkolina na ganglijske sinapse i motorne ploče, očituju se u fascikulacijama mišića i dispneji zbog paralize respiratornih mišića. Centralni učinci acetilkolina zahvaćaju živčane sinapse a izraženi su u nemiru, vrtoglavici, ataksiji, tremoru, grčevima, depresiji kardiorespiratornih centara s dispnejom, padom krvnog tlaka i cijanozom.

Neposredni uzrok smrti pri otrovanju antikolinesteraznim otrovima je asfiksija, s time što kod nekih vrsta dominiraju muskarinski učinci (kunić), kod drugih nikotinski (mačka) ili pak centralni (majmun, čovjek). Budući da neki organofosforni spojevi dovode do smrti a da ne inhibiraju kolinesterazu mozga, ne zna se u kojoj su mjeri centralni efekti acetilkolina odgovorni za letalni ishod otrovanja.

Osim navedenih učinaka neki organski fosforni spojevi mogu kod ljudi i ptica izazvati trajna neurotoksička oštećenja u obliku paralize ekstremiteta, a kao posljedice demijelinizacije perifernih živaca. Budući da se takva oštećenja razviju nakon preboljele faze otrovanja, tj. nakon prestanka kliničkih simptoma, mehanizam ovog specifičnog oštećenja nije poznat.

Simptomi otrovanja pojavljuju se tek kad se aktivnost kolinesteraze mozga smanji na kojih 30% od normalnih vrijednosti. Uzgred rečeno, aktivnost enzima znatno varira ne samo među vrstama već i kod individuuma unutar vrsta – a zavisi od više faktora. Zbog toga je mjerenje aktivnosti kolinesteraze nakon otrovanja samo od relativne koristi, ako nam nisu poznate normalne vrijednosti.

Do spomenutog kritičnog sniženja aktivnosti enzima može doći bilo jednokratnim unošenjem velikih doza otrova, ili uzastopnim unošenjem manjih količina, koje na kraju dovedu do takvog pada aktivnosti kolinesteraze da će sada i posve mala doza inhibitora izazvati znakove otrovanja. Zbog toga se pod kroničnom toksičnošću organskih fosfornih spojeva redovno misli na akumulaciju inhibitornih učinaka na kolinesterazu, a nipošto samog otrova u organizmu. Pri tom je ipak od značenja brzina inhibicije, pa će kod ponavljanih malih doza kritična razina enzima biti na nižim vrijednostima od one izazvane jednokratnom velikom dozom otrova.

Preživi li organizam otrovanje, aktivnost kolinesteraze spontano se uspostavlja – otprilike 1% na dan – tako da za 3 mjeseca dosegne normalne vrijednosti. Simptomi otrovanja iščeznu, dakako, prije, tj.

čim se aktivnost kolinesteraze poveća na spomenutih 30% od normalne.

S obzirom na prijetvor estera fosforne kiseline u organizmu, razlikujemo direktne i indirektne inhibitore kolinesteraze. Direktni inhibiraju kolinesterazu *in vitro* i *in vivo*, indirektni se tek u jetri pretvaraju u djelotvorne inhibitore.

Organski fosforni spojevi i njihovi razgradni produkti iščezavaju relativno brzo iz organizma a izluče se pretežno preko bubrega. Nađeni su i u mlijeku žene i domaćih životinja. U novije vrijeme utvrđena je i znatna sposobnost odlaganja tih spojeva u masnom tkivu otrovanih životinja.

Brzi prijetvor i relativno brzo izlučivanje estera fosforne kiseline razlog su da ih je teško dokazati u materijalu namijenjenom pato-anatomskoj pretrazi i kemijskoj analizi. S druge strane, karakteristična slika otrovanja, pa više ili manje snižena aktivnost kolinesteraze u krvi omogućuju pouzdanu i dovoljno ranu intravitalnu dijagnozu (4).

Biokemijska priroda oštećenja, kojom se odlikuju antikolinesterazni otrovi, uvjetuje i veoma oskudan, gotovo negativan pato-anatomski nalaz. Edematozne promjene na mozgu, ponekad s petehijama, venozna kongestija abdominalnih organa, kolabirana ishemična ili hiperemična pluća s plućnim edemom, spominju se u većini slučajeva. Druge promjene, koje bi se mogle naći, valja svesti na primjese i onečišćenja komercijalnih pripravaka ili one nisu u direktnoj vezi s otrovanjem.

Spomenuli smo da ulaskom organskih fosfornih spojeva u organizam dolazi do inhibicije kolinesteraze i akumulacije acetilkolina koji svojim trovrstnim učincima dovodi do anoksije i konačno do smrti. Terapija može prema tome biti usmjerena u tri pravca:

1. Anoksija se može suzbijati umjetnim disanjem. Iako se ne može osporiti znatan efekt umjetnog disanja, valja ipak imati na umu da svaki suvišni pokret pacijenta oslobađa sve veće količine acetilkolina i otežava stanja. U toku vlastitih pokusa opazili smo da se ne samo mehaničkim već i zvučnim inzultima mogu potencirati grčevi i time ubrzati letalni ishod otrovanih životinja. Odstranjivanje obilnog sekreta iz dišnih prohoda (pa i traheotomija u težim slučajevima) s insuflacijom kisika, može uz ostale simptomatske mjere biti od znatne koristi.

2. Muskarinske a dijelom i centralne učinke nagomilanog acetilkolina uklanja atropin. Djelovanje atropina u stvari je zaštita staničnih receptora od acetilkolina i pošto se atropin izluči simptomi izbiju iznova. Doze atropina valja ponavljati do znakova atropinizacije, po nekim autorima i do 20 mg pro die. U teškim slučajevima trećina doze daje se intravenozno, ostatak intramuskularno, odnosno supkutano.

3. Na inhibiranu kolinesterazu možemo utjecati:

- primjenom spoja koji je kadar direktno reagirati s organofosfornim spojem, prije no što se ovaj veže na kolinesterazu. Na takvo reaktor-sko djelovanje može se računati samo kod profilaktične primjene antidota, tj. kad se apliciraju prije otrova.

– primjenom spoja koji deforsforilira i time reaktivira inhibiranu kolinesterazu. Učinak reaktivatora mogli bismo shematski prikazati ovako:



inhibirani enzim + reaktivator \rightarrow slobodni enzim + ostatak inhibitora
vezan na reaktivator

Inhibirani enzim reagira s molekulom reaktivatora, i na taj način se prekida veza enzima s inhibitorom. Kolinesteraza ponovno postaje slobodna za svoju funkciju razgradnje acetilkolina.

Opažanja da se inhibirana kolinesteraza reaktivira u prisutnosti vode dovela su do istraživanja jačih nukleofilnih reagensa, koji bi u smislu reaktivatora mogli poslužiti u liječenju otrovanja antikolinesteraznim otrovima. Pošto je u tu svrhu istražen niz spojeva, najbolji su rezultati postignuti onima iz skupine oksima. Tako su *Namba* i *Hiraki* već 1958. godine (2) s uspjehom primijenili piridinium-2-aldoksim metiljodid (PAM-2) kod poljoprivrednih radnika otrovanih parationom.

Parenteralna primjena oksima kao etioloških antidota otklanja vrlo brzo muskarinske, nikotinske a donekle i centralne učinke acetilkolina. S obzirom na već spomenutu mogućnost deponiranja inhibitora u masnom tkivu, bit će ponekad potrebno ponoviti aplikaciju oksima.

Optimalni rezultati postignuti su u humanoj i veterinarskoj kazuistici kombiniranom primjenom atropina i oksima, pa se takva kombinacija smatra pouzdanom i kod višekratnih smrtnih doza otrova (5). Istraživanja na području oksima i dalje su veoma intenzivna, a sa ciljem da se dobiju spojevi dobre topljivosti i koji bolje prodiru u mozak.

Takvim svojstvima odlikuje se nedavno sintetizirani trimetilen bis-(4-formilpiridinium bromid) dioksim (TMB-4).

Zanimljivi su i pokušaji da se spojevima kao što je npr. SKF 525A spriječi enzimatski prijetvor indirektnih inhibitora u direktne (*O'Brien* i *Davison*, 1958 (3), *Stern* i dr., 1960).

Od simptomatskih sredstava valja spomenuti barbiturate kratkog djelovanja, kojima se smiruje nemir pacijenta.

Holmstedt (1) poslužio se u svojoj monografiji organskih fosfornih spojeva ovim citatom: »Eo quod in multa sapientia, multa sit indignatio, et qui addit scientiam addit et laborem«. Tim riječima prikazao je značenje otkrića i primjene antikolinesteraznih otrova. Prvobitno namijenjeni suzbijanju insekata promijenili su za vrijeme II svjetskog rata svoju strukturu i postali dosad najotrovnija sredstva za uništenje čovjeka. Danas na bazi njihove strukture sintetičari pronalaze neprestano nove i djelotvornije a manje toksične insekticide, koji – primijene li se s nedovoljnim oprezom – mogu ipak dovesti do otrovanja ljudi i korisnih životinja. Zbog toga, a da i ne spominjemo potencijalnu mogućnost primjene već poznatih bojnih otrova, uporedo se istražuju nove

mogućnosti u terapiji otrovanja. Konačno, studij organskih fosfornih spojeva omogućio je da se prikupe nova saznanja o ulozi acetilkolina i kolinesteraze u fiziološkim zbivanjima.

Literatura

1. *Holmstedt Bo*, *Pharmacol. Reviews*, 2, (3) (1959) 569-688.
2. *Namba T. i Hiraki K.*, *J. Am. Med. Assoc.* 166 (1958), 1834.
3. *O'Brien R. D. i Davison A. N.*, *Canad. J. Biochem. and Physiol.* 36 (1958) 1203.
4. *Vandekar M.*, *Arh. hig. rada* 2 (1958) 35.
5. *Svetličić B.*, *Habilitacijska rasprava*. 1959.

Summary

THERAPY IN ORGANOPHOSPHORUS POISONING

A brief outline is given of the mechanism of action, pharmacology and toxic effects of organophosphorus cholinesterase inhibitors. Therapeutic possibilities with respect to antidotal application of atropine and oximes in organophosphorus poisoning are discussed in more detail. The importance of further investigation of this group of compounds from the theoretical and practical aspects is pointed out.

*Institute of Pharmacology and
Toxicology, Veterinary Faculty, Zagreb
and*

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

*Received for publication
December 27, 1961*