

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA LI

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 18.

Urednik

PAVEL STERN,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine



SARAJEVO
1974.

SREČKO TOMIĆ i PAVEL ŠTERN*

TUMAČENJE DJELOVANJA RECOSENA¹ KOD TROVANJA SA TRI-ORTO-KREZILFOSFATOM

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 19. XI 1973. god.)

Intoksikacija sa tri-orto-krezilfosfatom (TOCP) vrlo je česta i javlja se upravo u epidemijskoj formi (Moeschlin, 1972, Gleees, 1957), katkada slučajno, a češće iz kriminalnih svrha zbog svoje konzistencije i slatkog okusa. Ljudi ga stavljaju u likere i, kako je poznato, dolazi do vrlo teških definitivnih degenerativnih promjena u meduli spinalis (Cavanagh, 1954). Od životinja najlakše oboljevaju kokoši, ali dolazi do promjena i kod štakora i mačaka (Dési, Sós, 1963). Ovaj otrov izaziva demijelinizaciju periferenih nerava i određenih puteva u meduli spinalis (Cavanagh, 1954). Za razumijevanje velikih varijacija, u slučajevima trovanja ovim otrovom, treba znati da trikrezilfosfati sačinjavaju mješavinu spojeva i da je najtoksičniji onaj koji sadrži najviše TOCP frakcije (Henschler, 1958). Ako se daje čisti TOCP, dovoljna je jedna jedina doza koja će izazvati teška trovanja (Drachman, 1967). Primarna lezija nije demijelinizacija nego najprije dolazi do degeneracije dugih aksona (Cavanagh, 1954).

Nas je interesiralo da li acetilholin, koji ima izraziti trofički efekt na tkiva (Drachman, 1967, Drachman, 1971), djeluje i kod ove vrste trovanja svojim trofičkim efektom, zaštitno. Ovo je za nas bilo u prvom redu zato interesantno, jer smo već pokazali da aktivatori holinacetilaze, oxotremorin (Holmstedt, Lundgren, 1958, Ratković i saradnici 1965) i Recosen (Bagašić i saradnici (1962) djeluju zaštitno na progresivnu mišićnu distrofiju (PMD) (Štern, 1971; Štern, Ristić, 1971). S druge strane, mi smo mogli isto tako pokazati, (Štern, Valjevac, u pripremi), kao i neki drugi autori. (Gaylarde, 1970, Gallup, Dubowitz, 1973), da je PMD najvjerovatnije primarno neurološka, a ne mišićna bolest. Za TOCP znamo da inhibira holinesterazu, ali je već pokazano da toksički simptomi uzroko-

* Adresa: Institut za patološku anatomiju i Institut za farmakologiju Medicinskog fakulteta, 71000 Sarajevo.

¹ Recosen je jedan ekstrakt miokarda teleta bez proteina (Robapharm, Basel)

vani sa TOCP nisu posljedica inhibicije holinesteraze (Henschler, 1958).

Johnson (1973) pretpostavlja specifičnu »neurotoksičnu esterazu«. Nisu svi antiholinesterazni otrovi neurotoksični i obrnuto. Neurotoksični spojevi ne moraju biti jaki inhibitori esteraza ili se in vivo u njih pretvaraju. Spomenuti enzim osjetljiv je na Mipafox i na sve neurotoksične spojeve, ali ne na one inhibitore acetilholinesteraze koji nisu neurotoksični. Prema tome, možda se iza inhibicije »neurotoksične esteraze« povisuje neki produkt u tkivu, koji izaziva oštećenje prvenstveno dugih aksona. Johnson pretpostavlja da ona inhibitorna grupa iz neurotoksičnog spoja, u našem konkretnom slučaju TOCP, može se aktivnom stranom proteina »neurotoksične esteraze« stvoriti novi toksični produkt.

U jednom ranijem radu mi smo već pokazali da Recosen (Štern, Tomić, 1973), jedan ekstrakt srčanog mišića, bez proteinske frakcije signifikantno zaštićuje kokoši zatrovane ovim otrovom za razliku od oxotremorina, koji nije pokazao to svojstvo.

U ovom radu želimo prikazati histološki nalaz perifernih nerava i promjena u meduli spinalis kokoši iza zaštitnog djelovanja Recosena.

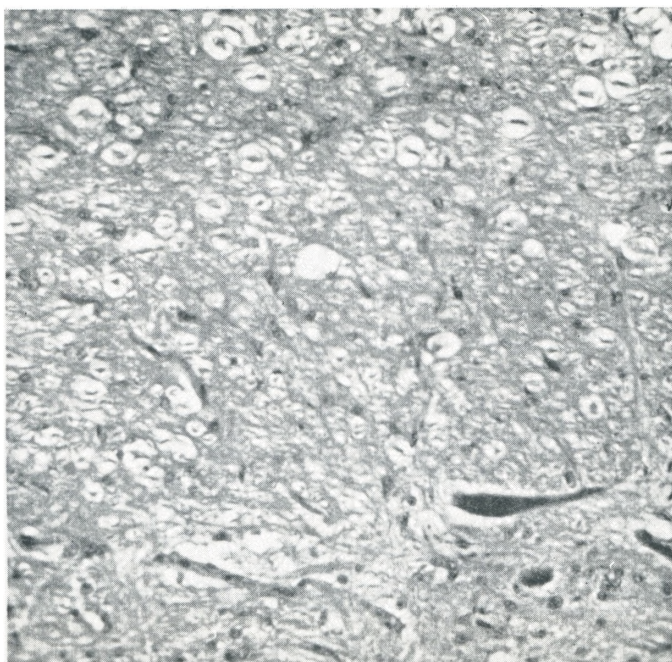
METODA

U pokusu su bili »hybro-brojlari« težine oko 800—900 g, stari 45—50 dana, hranjeni kukuruzom i žitom uz dodatak vitamina B-grupe. PMD izazvana je metodom Mendella i saradnika (1971). TOCP je dan 100 mg/kg i.m. — svega jedanput. Recosen je davan u dozi od 0.1, 0.2 i 0.4 ml/kg i.m. iz originalnih ampula, tako dugo dok se ne jave prvi simptomi pareze nogu, ili dok se ne pojavi totalna paraliza, kad životinja ne može da ustane. Životinja se žrtvuje, ispreparira medulla spinalis i nervus ischiadicus za histološku analizu.

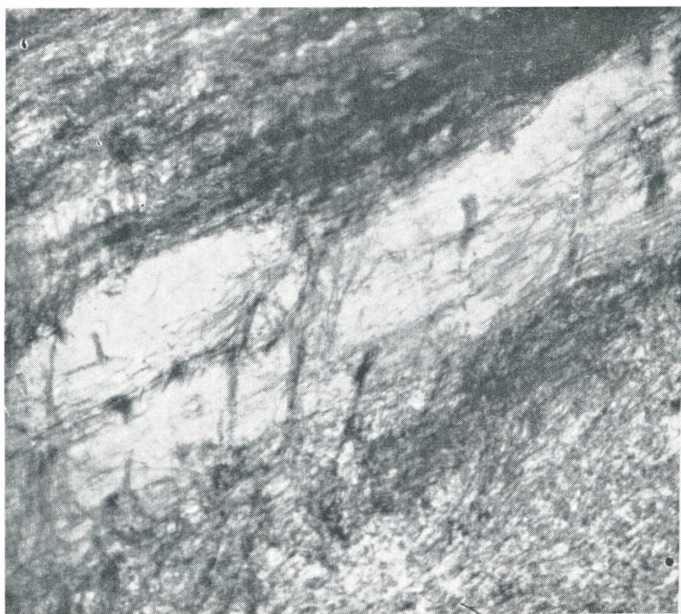
REZULTATI

Histopatološki nalaz

Kod svih životinja, paraliziranih i neparaliziranih izvršena je histološka pretraga kičmene moždine i ishijadičnog nerva u svrhu ispitivanja postojanja ili nepostojanja degenerativnih promjena u centralnom nervnom sistemu. Isjecci kičmene moždine uzimani su iz svih dijelova (cervikalni, torakalni i lumbalni), a isjecci iz ishijadičnog živca uzimani su iz proksimalnog, srednjeg i distalnog dijela. Fiksacija je vršena u 10%-om formalinu. Preparati su bojeni hemaluan eozinom i metodom Bielschowski (za prikazivanje degeneriranih aksona). Za bojenje mijelinskih tvari korištena je i metoda po Spielmayeru.

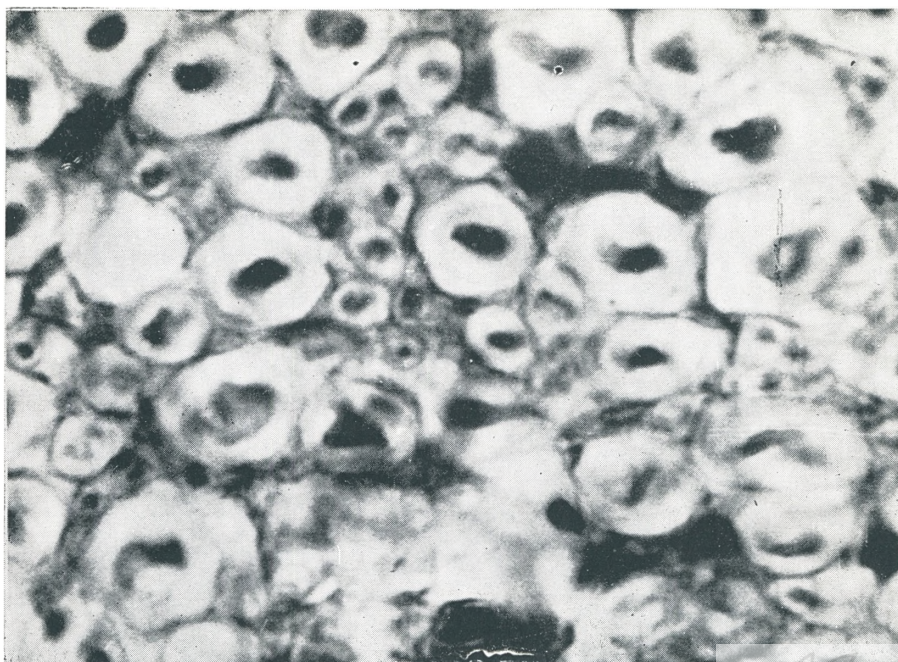


Slika 1.

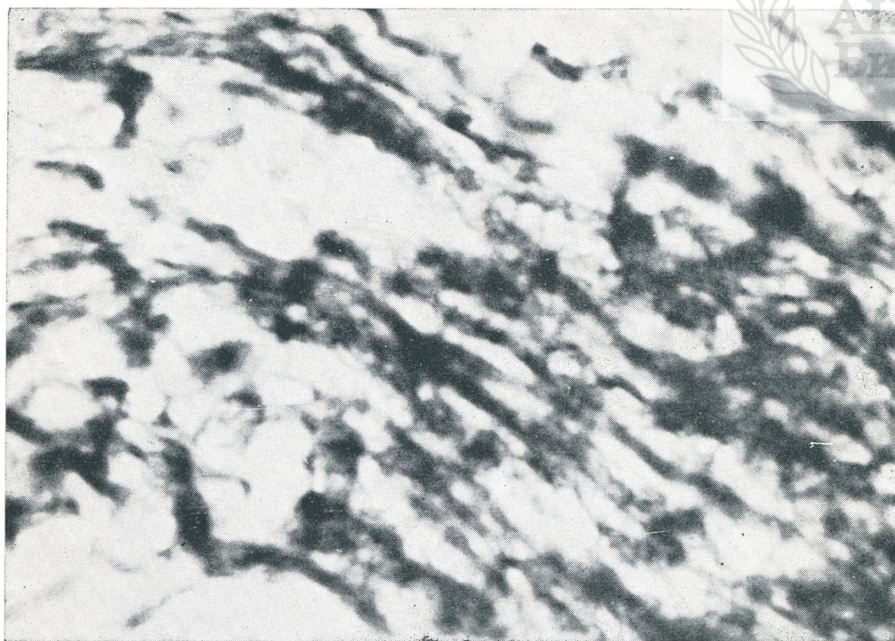


Slika 2.





Slika 3.



Slika 4.



1. Nalaz kod životinja sa paralizom

a) U kičmenoj moždini

Impregnacija srebrom otkriva degenerativne promjene u smislu fragmentacije mijelina i dezintegracije aksijalnih cilindara. Nervna vlakanca postaju naduvana, otečena i zrnata, a često i posve dezintegrirana, te u obojenim preparatima nedostaju. Skoro svi traktovi medule bili su zahvaćeni ovim promjenama, ali one nisu bile istog intenziteta. Najjače su bile izražene u ventralnom i dorzolateralnom traktu, u prvom slučaju više kaudalno, a u drugom kranijalno. To govori da se degeneracija širi periferno i da ima osnovne karakteristike sekundarne degeneracije. Polja demijelinizacije se prezentiraju kao mala, nepravilna, neobojena područja u preparatima impregnacije, dok u hemalaun-eozin-skim preparatima ona poprimaju izgled disperznih manjih ili većih vakuola, pošto ovo bojenje ne boji lipidne tvari (mikrofotografija 1.). U područjima demijelinizacije u kičmenoj moždini istovremeno su nađene i promjene u smislu dezintegracije aksijalnih cilindara.

b) U perifernim nervima

Promjene se također manifestiraju u vidu demijelinizacije i dezintegracije nervnih aksona.

Aksijalni cilindri postaju zrnati, fragmentirani, a mijelin se disolvira, formirajući kapljice ili vakuole. Promjene su bile jače izražene u distalnim dijelovima ishijadikusa, što također govori u prilog nastanku sekundarne degeneracije (mikrofotografija 2).

2. Životinje bez zaživotno manifestirane paralize nisu pokazale nađene degenerativne promjene, tj. histološki nisu nađene promjene niti u smislu demijelinizacije, niti u smislu dezintegracije nervnih aksona.

DISKUSIJA

Mi smo u našem prijašnjem radu pokazali da Recosen (Štern, Tomić, 1973) signifikantno zaštićuje kokoši zatrovane sa TOCP. Paralize su rjeđe, a i smrtnost je smanjena. Iz ovog rada se vidi jasno da kod životinja tretiranih sa Recosenom trovanje sa TOCP ne dolazi do izražaja ni na histološkoj slici u meduli spinalis gdje primarno ovaj otrov djeluje, ni na perifernom nervu. U prijašnjem radu, a i u ovom, naglasili smo da toksicitet TOCP ne ide paralelno sa antiholinesteraznim efektom ove supstance. Mi smo čitavu našu radnu hipotezu, kada smo se počeli baviti tim problemom, bazirali na činjenici da Recosen aktivira holinacetilazu (Bašagić i saradnici 1962). Zbog toga smo ispitivali i zaštitno djelovanje oxotremorina, za kojega se isto zna da je aktivator holinacetilaze, (Holmstedt, Lundgren, 1958; Ratković i saradnici, 1965). Međutim, oxotremorin se pokazao neefikasan i životinje su ugibale jednako kao i kontrole i paralize su bile isto tako često kao kod kontrole. Prema tome, i iz tih eksperimenata slijedi da aktiviranje ho-

linacetilaze, koje izaziva Recosen, nije onaj faktor koji je zaštitio kokoši od trovanja TOCP, jer je oxotremorin bez efekta. S druge strane mi smo već u ranijem radu naglasili da Recosen nije inhibitor holĳnesteraze (Štern, Tomić, 1973). U uvodu smo spomenuli da je Johnson (1973) opisao jednu »neurotoksičnu esterazu«, koja je osjetljiva na sve neurotoksične antiholinesterazne spojeve, ali ne i na one inhibitore acetilholĳnesteraze koji nisu neurotoksični. Isto tako smo rekli da Johnson (1973) misli da inhibitorna grupa iz neurotoksičnog spoja može sa aktivnom stranom proteina »neurotoksične esteraze« stvoriti toksični produkt. Prema tome, možda Recosen sprječava vezanje inhibitorne grupe TOCP sa aktivnom stranom proteina u »neurotoksičnoj esterazi«. Da li usljed davanja Recosena acetilholĳn vrši tu trofičku funkciju ili neki drugi spoj kako to pretpostavlja Drachman (1967), mi ne možemo reći. Ako je mehanizam djelovanja Recosena samo sprječavanje vezivanja TOCP sa »neurotoksičnom esterazom«, onda uopće ne bi trebali pretpostaviti trofički efekt, kako smo to u početku mislili.

ZAKLJUČAK

Pokazano je da ovaj tri-orto-krezilfosfat izaziva teške generativne promjene u meduli spinalis i n. ishiadicus kokoši. Životinje tretirane sa Recosenom pokazuju neusporedivo manje promjena u istim dijelovima nervnog tkiva.

S. TOMIĆ and P. STERN

EXPLICATION OF THE EFFECT OF RECOSEN ON THE TOXICOLOGICAL ACTION OF TRI-ORTO-CRESYLPHOSPHAT

SUMMARY

It has been shown that tri-orto-cresylphosphate causes heavy degenerative changes in spinal cord and n. ishiadicus in the hen. The animals treated with Recosen showed considerably smaller changes in the same parts of nerve tissue.

LITERATURA

- Bašagić, E., Bošković, B., Stern, P., *Activation of choline acetylase by a protein free aqueous extract of heart muscle*. Arch. int. Pharmacodyn. 137, 49—53, (1962)
- Cavanagh, J. B., *The toxic effects of tri-ortho-cresyl phosphate on the nervous system*. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 17, 163—172 (1954).
- Drachman, D. B., *Is acetylcholine the trophic neuromuscular transmitter*. Arch. Neurol. (Chic.) 17, 206—218 (1967).

- Drachman, D. B., *Botulinum toxin as a tool for research on the nervous system*. In: Simpson: Neuropoisons-Their pathophysiological actions. (Lance, L. I, Poisons of animal origin 325—347, New York, London, Plenum Press, (1971).
- Dési, I., Sos, J., *Experimental lesions of the central nervous system induced by triortho-cresyl phosphate*. Acta physiologica Akad. Scient. Hungar. 23, 63—68, (1963)
- Gallup, B., Dubowitz, V., *Failure of »Dystrophic« neurones to support functional regeneration of normal or dystrophic muscle in culture*. Nature, 243 287—289, (1973)
- Gaylarde, P. M., *Muscular dystrophy: myopathy or neuropathy*. The Lancet 1, 1119, (1970)
- Glees, P., *Morphologie und Physiologie des Nervensystems*. Stuttgart, Thieme Verlag, (1957)
- Henscheler, D. *Zur Frage der Gefährdung durch moderne Tri-kresylphosphate*. Zentralblatt für Arbeitsmedizin u. Arbeitsschutz, 8 265—267 (1958)
- Holmstedt, B., Lundgren, G., *Effects of oxotremorine und atropine on choline acetylase activity*. In: Drugs and cholinergic mechanism in the CNS, 339—354, (1958).
- Johnson, M. K., *Brain »Neurotoxic Esterase«*. Hoppe-Seyler Zeit. Physiol. Chem. 354, (1973).
- Mendell, J. R., King Engel, W., Derres, E. C., *Duchenne muscular dystrophy: functional ischemia reproduces its characteristic lesions*. Science. 172, 1143—1145, (1971).
- Moeschlin, S., *Klinik und Therapie der Vergiftungen*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1972).
- Nature. *From a Correspondent Muscular dystrophy and the neurogenic hypothesis*. Nature, 243, 258—259, (1973).
- Ratković, D., Stern, P., Bošković, B., *Über die Wirkung des Tremorins auf die Cholinacetylase*. Bull. Sci. 10, 40, (1965).
- Stern, P., *Activators of cholin-acetylase and muscle dystrophy*. Symposium on myopathic diseases. Baško Polje, februar 1971, 75—79 (Yugoslavia).
- Stern, P., Ristić, A., *The contribution to understanding of the role of acetylcholine in Erb's disease*. Symposium on myopathic disease, Baško Polje, Februar, 1971, 135—136.
- Stern, P., Tomić, S., *Attempted treatment of Tri-ortho-cresyl Phosphate intoxication with a water-soluble protein-free extract of mammalian heart muscle*. Arch. Toxicol. 31, 89—92, (1973).
- Stern, P., Valjevac, K. (U pripremi).

