

STUDIU EXPERIMENTAL AL NEUROTOXICITĂȚII TARDIVE A UNOR COMPUȘI ORGANOFOSFORICI SUPERTOXICI

*Cristina Anca Sârbulescu**, *Rodica Alexandrescu**, *Josephina Neagu-Slobozeanu**,
*Cristiana Cosmescu**, *L. Miclea****, *A. Căsândroiu**, *Gh. Țarălungă****

REZUMAT

Obiectivul studiului este reprezentat de evidențierea prin examen histopatologic a neurotoxicității tardive a metilfluorofosfonatului de pinacolil (GD) și testarea unor modalități terapeutice de antagonizare a acesteia. Material și metodă: au fost introduse în experiment 4 loturi de șobolani conform unui protocol de lucru care va fi prezentat pe larg în lucrare. Rezultate și discuții: la lotul intoxicat și netratat și la cel intoxicat și tratat cu secvența antidotică preventivă și curativă au fost evidențiate histopatologic la 7 zile leziuni distrofice și degenerative la nivelul sistemului nervos central și periferic, care au persistat la 14 zile, mai puțin grave la lotul tratat, fără remisiune spontană. La lotul intoxicat și tratat cu aceeași schemă terapeutică, la care s-a asociat piracetam administrat per os zilnic, timp de 14 zile, în doză de 720 mg/kg, leziunile histopatologice au fost mult diminuate, la sfârșitul intervalului înregistrându-se aspecte asemănătoare lotului martor. Concluzii: efectele toxice tardive au fost evidențiate experimental la nivelul sistemului nervos central și periferic prin leziuni histopatologice distrofice și degenerative care au persistat la 14 zile fără remisiune spontană. Secvența antidotică preventivă și curativă a ameliorat parțial efectele neurotoxice tardive ale GD. Asocierea piracetamului la această schemă terapeutică a condus, prin antagonizarea hipoxiei cerebrale, la antagonizarea neurotoxicității tardive.

Cuvinte cheie: metilfluorofosfonat de pinacolil (GD), neuropathy target esterase (NTE), neurotoxicitate tardivă, piracetam.

ABSTRACT

The delayed neurotoxicity treatment study in the OP compounds poisoning

The study of the OP delayed neurotoxicity and its treatment was performed using the pinacolyl methylphosphonofluoridate (GD). The objective was represented by the experimental emphasis of the GD delayed neurotoxicity and the test of a treatment method. Method: the experimental study was performed using four groups of Wistar male rats, the complete method will be presented in the paper. Results: the GD delayed neurotoxicity was emphasized 7 days after the poisoning by the dystrophic and degenerative lesions at the Purkinje cells and the sciatic popliteu nerve level (first study group); the preventive and curative antidotal treatment didn't antagonize the GD delayed neurotoxicity 14 days after the poisoning (second study group); the curative treatment using piracetam determined the remission of the nervous dystrophic and degenerative lesions (third study group). Conclusions: the GD delayed neurotoxicity was experimentally emphasized by the nervous dystrophic and degenerative lesions, without spontaneous remission, partially antagonized by the antidotal treatment. The piracetam administration (a nootropic compound involved in the cerebral ATP level increasing) has experimental antagonized the GD delayed neurotoxicity.

Key words: pinacolyl methylphosphonofluoridate (GD), neuropathy target esterase (NTE), delayed neurotoxicity, piracetamum.

INTRODUCERE

Compușii organofosforici supertoxici a căror moleculă conține un atom de fluor au proprietatea de a produce un sindrom descris în literatura de specialitate ca neurotoxicitate tardivă. Aceasta se constituie după un interval de timp de 7-14 zile de la intoxicație; se evidențiază clinic prin polineuropatie severă și histopatologic prin leziuni distrofice și degenerative la nivelul celulelor piramidale din neo și paleocortex, a celulelor Purkinje din cerebel și degenerescența tecii de mielină a axonilor neuronilor motori ai nervilor periferici. Leziunile tardive de la nivelul sistemului nervos central apar numai în condițiile preexistenței convulsiilor, în a căror patogenie hipoxia datorată perturbării metabolismului neuronal reprezintă un mecanism major. Mecanismul biochimic al hipoxiei este reprezentat de

formarea unei legături covalente între toxic și NTE - o esterază cu afinitate de substrat pentru esterii hidrofobi. Reacția dintre compusul organofosforic și NTE apare destul de rapid, la aproximativ o oră după intoxicație; neurotoxicitatea se dezvoltă tardiv fiind evidențiată după un interval de 7-14 zile de la intoxicație. Piracetamul este un compus nootrop cu rol antagonizarea hipoxiei prin reducerea consumului de oxigen la nivelul neuronilor, creșterea sintezei ATP-ului și activarea G-6-PD. Studiul experimental al neurotoxicității tardive a unor compuși organofosforici supertoxici a fost particularizat în cazul GD.

OBIECTIVE

- Evidențierea experimentală a efectelor neurotoxice tardive ale GD

* *Cristina Anca Sârbulescu, Rodica Alexandrescu, Josephina Neagu-Slobozeanu, Cristiana Cosmescu, Adrian Căsândroiu, Centrul de Cercetări Științifice Medico-Militare, București*

** *Universitatea de Medicină și Farmacie "Ovidius" Constanța*

*** *Liviu Miclea, Gheorghe Țarălungă, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București, Spitalul de Copii "Grigore Alexandrescu"*

- Testarea unor modalități terapeutice de antagonizare a acestora

MATERIAL ȘI METODĂ

Au fost introduse în experiment 4 loturi de șobolani masculi, rasa Wistar, cu greutate medie de 250–300 g, ținuți în microclimat adecvat.

- Lot 1 (martor): s-au recoltat fragmente de țesut pentru evidențierea aspectelor histopatologice normale.

- Lot 2 (intoxicat și netratat): s-a administrat subcutanat un volum de 2 ml/kg din soluția de GD de concentrație 95,65 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

- Lot 3 (intoxicat și tratat cu secvența antidotică preventivă și curativă): s-a administrat preventiv bromură de piridostigmină, per os (gavare), în doză de 8,10 mg/kg; după 30 minute s-a administrat subcutanat GD în doză de 186,82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ și imediat, intramuscular, un volum de 2 ml/kg dintr-un antidot curativ complex ce conține sulfat de atropină, clorhidrat de obidoximă și diazepam.

- Lot 4 (intoxicat și tratat clasic și cu piracetam): s-a administrat aceeași secvență ca la lotul 3, la care s-a asociat curativ piracetam, zilnic timp de 14 zile, per os, în doză de 720 mg/kg.

La 7, respectiv 14 zile de la administrarea toxicului, câte 5 animale din fiecare lot au fost sacrificate și s-au recoltat fragmente de creier (trei secțiuni la nivel frontal, temporoparietal și occipital), cerebel și nerv sciatic popliteu pentru examen histopatologic.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

- Aspectele histologice evidențiate la lotul martor sunt reprezentate în figurile 1-3.

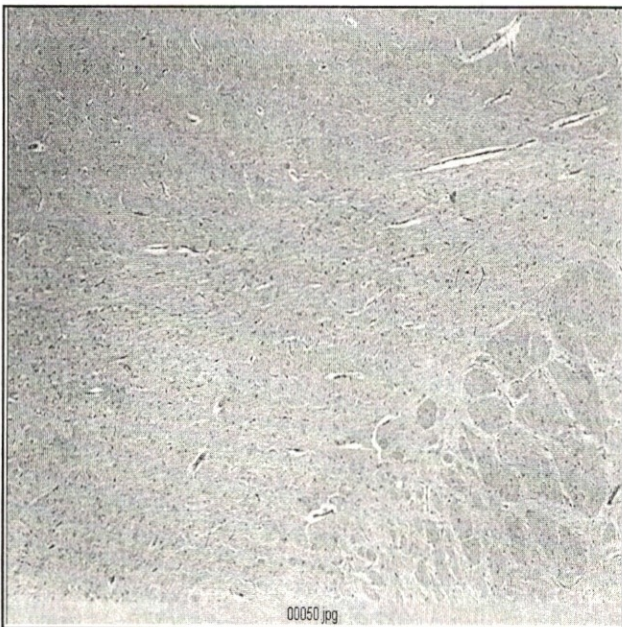


Fig. 1 Lot 1: Hipocamp – aspect normal (obiectiv 10, colorație hematoxilină-eozină)

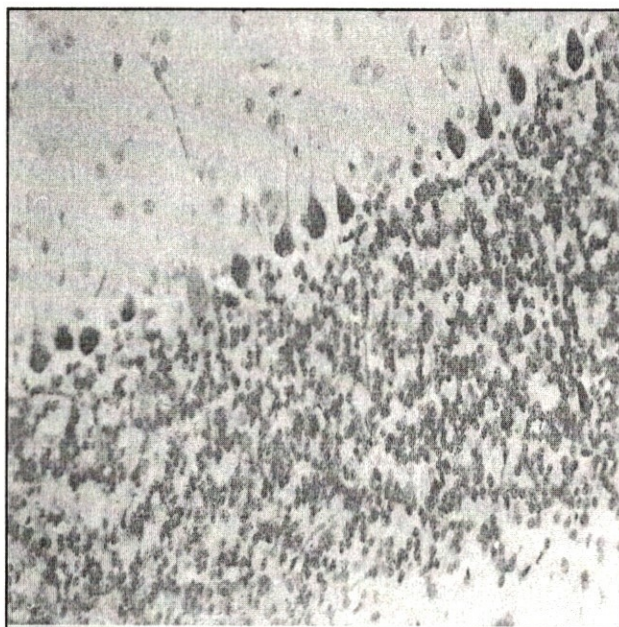


Fig. 2 Lot 1: Cerebel – aspect normal (obiectiv 40, colorație albastru de Nil)

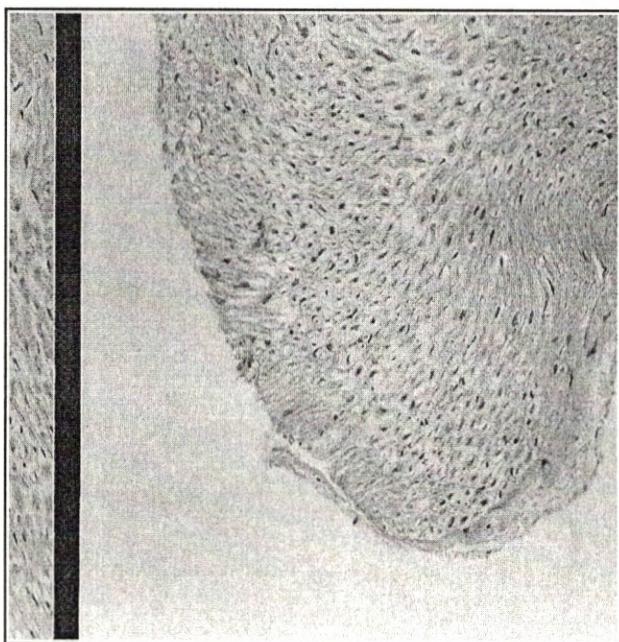


Fig. 3 Lot 1: Nerv sciatic popliteu – aspect normal (secțiune transversală, obiectiv 25, colorație hematoxilină-eozină)

- Neurotoxicitatea tardivă a GD a fost evidențiată histopatologic prin apariția, la 7 zile după intoxicație, a unor leziuni distrofice și degenerative la nivelul celulelor paleocortexului (balonizarea celulelor piriforme de la nivelul hipocampusului și sistemului limbic), depigmentări ale celulelor Purkinje (fig. 4, 5). Aceste leziuni au fost observate numai la animalele care au prezentat convulsii datorate hipoxiei

prin alterarea metabolismului neuronal. Leziunile au persistat și la 14 zile de la administrarea toxicului, fără remisiune spontană.



Fig. 4 Lot 2: Paleocortex - depigmentarea celulelor piriforme la 7 zile de la intoxicație (obiectiv 25, colorație hematoxilină-eozină)

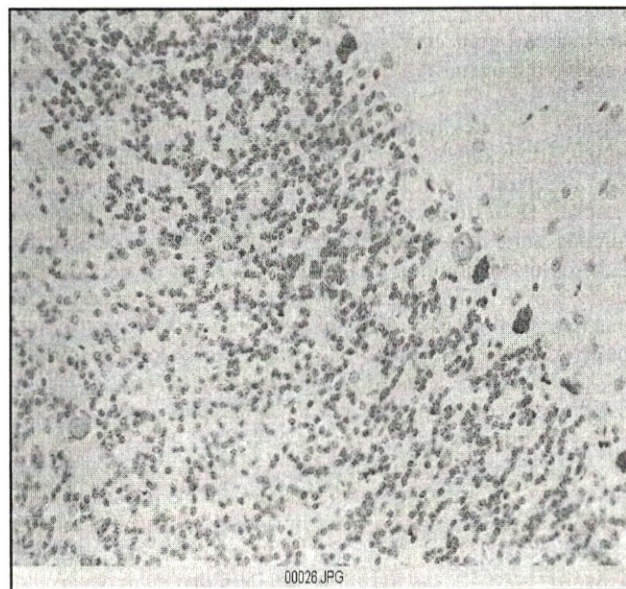


Fig. 5 Lot 2: Cerebel - depigmentarea celulelor Purkinje la 7 zile după intoxicație (obiectiv 40, colorație albastru de Nil)

Afectarea sistemului nervos periferic a fost evidențiată prin pareza spastică a trenului posterior, persistentă la 7 și 14 zile; examenul histopatologic a pus în evidență leziuni degenerative axonale (fig. 6).

Leziunile constituite la 7 zile, evidențiate mai sus, au persistat și la 14 zile, fără remisiune spontană (fig. 7, 8).



Fig. 6 Lot 2: Nerv sciatic popliteu - leziuni ale axonului la 7 zile de la intoxicație (secțiune transversală, obiectiv 25, colorație hematoxilină-eozină)



Fig. 7 Lot 2: Cerebel - depigmentarea celulelor Purkinje la 14 zile de la intoxicație (obiectiv 25, colorație hematoxilină-eozină)



Fig. 8 Lot 2: Nerv sciatic popliteu - degenerescență axonală la 14 zile de la intoxicație (obiectiv 25, colorație hematoxilină-eozină)

• La lotul intoxicat și tratat cu secvența antidotică preventivă și curativă au apărut la 7 zile leziuni distrofice și degenerative asemănătoare cu cele observate la lotul intoxicat și netratat. Neurotoxicitatea tardivă a fost mai puțin gravă decât la lotul intoxicat și netratat, dar a persistat la 14 zile (fig. 9, 10).



Fig. 9 Lot 3: Nerv sciatic popliteu și țesut muscular striat - leziuni distrofice și degenerative persistente la 14 zile de la intoxicație (obiectiv 10, colorație hematoxilină-eozină)

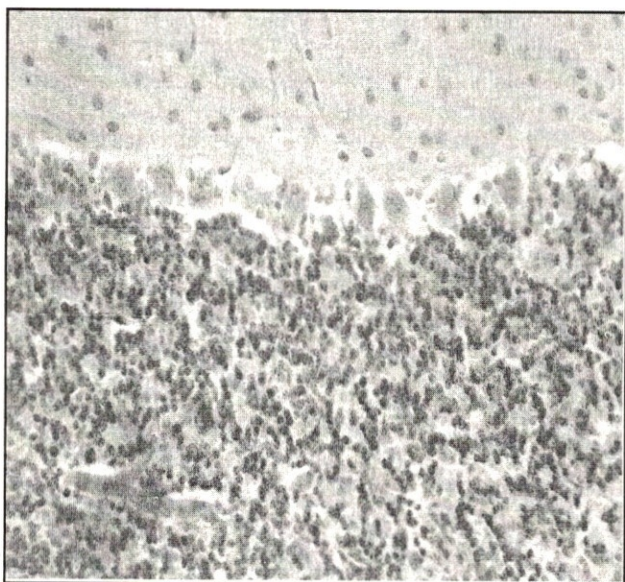


Fig. 10 Lot 3: Cerebel - balonizarea celulelor Purkinje la 14 zile de la intoxicație (obiectiv 10, colorație hematoxilină-eozină)

Pesistența leziunilor tardive la nivelul sistemului nervos se poate explica prin mecanismul de producere de tip noncolinergic neinfluențat de atropină și oximele reactivatoare de colinesterază. Diminuarea gravității acestor leziuni se explică prin antagonizarea hipoxiei și implicit a convulsiilor

datorită diazepamului conținut în formula antidotică curativă.

• La lotul intoxicat și tratat cu secvența antidotică clasică, la care s-a asociat piracetam administrat per os zilnic timp de 14 zile în doză de 720 mg/kg, degenerescența axonală de la nivelul nervului sciatic popliteu și leziunile degenerative de la nivelul hipocampului au fost net diminuate față de lotul intoxicat și tratat clasic (fig. 11, 12).



Fig. 11 Lot 4: Nerv sciatic popliteu - aspect cvasinormal la lotul tratat și cu piracetam la 14 zile de la intoxicație (obiectiv 40, colorație hematoxilină-eozină)



Fig. 12 Lot 4: Hipocamp - aspect cvasinormal la lotul tratat și cu piracetam la 14 zile de la intoxicație (obiectiv 10, colorație hematoxilină-eozină)

CONCLUZII

- Efectele toxice tardive au fost evidențiate experimental la nivelul sistemului nervos central și periferic prin leziuni histopatologice distrofice și degenerative care au persistat la 14 zile fără remisiune spontană.

- Schema antidotică curativă și preventivă a ameliorat parțial efectele tardive ale GD.

- Asocierea la schema antidotică clasică a piracetamului a condus la antagonizarea neurotoxicității tardive a GD.

BIBLIOGRAFIE

1. **Ellenhorn M.J.** – Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning, *second edition*, Williams&Wilkins, 1997.

2. **Elsa Reiner** - Organophosphorous compounds and esterases curent research topics concerning toxicity and protection against organophosphates, *Journal of Medical Defence*, 2001, 17, 123-128.

3. **Goodman&Gilman's** – The pharmacological basis of therapeutics, *Editors Joel G.Hartman, Lee E. Limbird; Consulting editor Alfred Goodman Gilman, 2001, Tenth edition*, McGraw Hill Medical Publishing Division.

4. **Harrison T.R.** – Principiile Medicinii Interne – volumul 1, 2, *Ediția a 14-a*, Editura Teora, 1998/2003.

5. **Herfindal E.T., Gourley D.R.** – Textbook of Therapeutics: Drug and Disease Management, *Ed. 6*, Williams & Wilkins, 1996.

6. **Katzung B.G.** – Basic & Clinical Pharmacology, *Seventh Edition*, Appleton & Lange, 1998.

7. **Mutschler E, Derendorf H.** – Drug Actions – Basic principles and Therapeutic Aspects, *Medpharm Scientific Publishers Stuttgart*, 1995.

8. **John Timbrell** - Principles of Biochemical Toxicology, *Taylor & Francis Group London & New York Third Edition 2000*, pg. 98-104, 196-211.

9. **Voicu V., Macovei R., Miclea L.** – Ghid de toxicologie clinică, *Editura Medicală Amaltea*, 1999.

10. **Voicu V., Macovei R., Miclea L.** – Toxicologie clinică, *Editura Albatros*, 1997.

11. **McDonough JH Jr, McLeod CG Jr** - Direct microinjection of soman or VX into the amygdala produces repetitive limbic convulsions and neuropathology, *Brain Res* 1987 Dec 1;435(1-2):123-37.

12. **Clement JG, Broxup B.** - Efficacy of diazepam and avizafone against soman-induced neuropathology in brain of rats. *Neurotoxicology* 1993 Winter;14(4):485-504.

13. **Pazdernik TL, Cross R, Giesler M, Nelson S, Samson F, McDonough J Jr.** - Delayed effects of Soman: brain glucose use and pathology, *Neurotoxicology* 1985 Fall;6(3):61-70.