

Zakład Farmakologii, Instytut Patologii Klinicznej, Wydział Lekarski,
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Zdzisław Kleinrok

Zdzisław KLEINROK,
Ewa JAGIEŁŁO-WÓJTOWICZ

Wpływ wybranych leków przeciwpadaczkowych na toksyczność ostrą estru dwuizopropylowego kwasu fluorofosforowego u myszy

Влияние некоторых противосудорожных средств на острую токсичность эфира
диизопропилфлюорофосфорной кислоты у мышей

The Influence of Some Anticonvulsant Drugs on the Acute Toxicity of Disopropyl-
fluorophosphate in Mice

Jednym z objawów ostrego zatrucia związkami fosforoorganicznymi są drgawki. Powstają one w wyniku znacznego zwiększenia poziomu acetylocholininy (ACh) spowodowanego trwałym zablokowaniem przez te związki esterazy acetylocholinowej (AChE). Potwierdzają to badania, w których stosowano egzogenną ACh (4, 5, 6, 11) lub inhibitory ACh (5, 7), przy czym drgawkorodne działanie tych związków było znoszone przez atropinę bądź benaktyzynę (10, 19). Przedstawione dane z piśmiennictwa skłoniły nas do podjęcia niniejszej pracy, a celem jej jest zbadanie wpływu wybranych leków przeciwdrgawkowych na toksyczność ostrą estru dwuizopropylowego kwasu fluorofosforowego (DEP) związku hamującego w sposób nieodwracalny aktywność AChE. U części zwierząt stosowano ponadto reaktywator AChE, tj. toksogoninę oraz atropinę, a więc leki podawane z reguły w zatruciach związkami fosforoorganicznymi. W doborze dawek leków przeciwdrgawkowych kierowano się ich działaniem ochronnym w drgawkach elektrycznych lub kardiazolowych, wyrażonych jako ED₅₀ (12).

METODYKA

Doświadczenia przeprowadzono na białych myszach szczepu Albino-Swiss, samcach o ciężarze ciała 20—24 g. Grupy doświadczalne liczyły po 8 myszy. Ester dwuizopropylowy kwasu fluorofosforowego (DFP) oraz inne związki nierozpuszczalne w wodzie podawano dootrzewnowo (i.p.) w postaci zawiesiny w glikolu propylenowym. Reaktywator acetylocholinesterazy — toksogoninę (Toxogonin) podawano w roztworach wodnych w dawce 5 mg/kg i.p. 30 sek po DFP. Do badań stosowano: dilantin (Phenytoinum, „Polfa”), siarczan atropiny (Atropinum sulfuricum „Polfa”), sól sodową luminalu (Phenobarbitalum Natrium „Polfa”), diazepam (Relanium „Polfa”), imid kwasu m-bromofenylobursztynowego (IBFB „Polfa”) oraz toksogoninę (Toxogonin, Merck). Toksyczność ostrą badanych związków określano jako DL₅₀ posługując się metodą Litchfielda i Wilcoxa (9). Obserwacje zwię-

rząt prowadzono przez 48 godz. Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono przy użyciu t-testu Studenta. Wykonano następujące badania:

1. Wpływ toksogoniny na LD₅₀ DFP.

Oznaczono wpływ toksogoniny w dawkach 5, 10, 20, 30 i 40 mg/kg na toksyczność ostrą DFP stosowanego we wzrastających dawkach od 2 do 10 mg/kg. Obserwacje zwierząt prowadzono przez 48 godz.

2. Wpływ leków przeciwdrgawkowych na LD₅₀ DFP.

Oznaczano LD₅₀ DFP stosowanego w dawkach od 2 do 10 mg/kg u myszy poddanych działaniu dilantyny (15 mg/kg), fenobarbitalu (40 mg/kg) IBFB (80 mg/kg) oraz diazepam (2,5 mg/kg). IBFB oraz diazepam stosowano 30 min., a dilantynę i fenobarbital 60 min. przed DFP.

3. Wpływ toksogoniny na LD₅₀ DFP u myszy poddanych działaniu leków przeciwdrgawkowych.

Doświadczenia przeprowadzono w sposób analogiczny jak opisano wyżej. Leki przeciwdrgawkowe stosowano w tych samych dawkach i w tym samym czasie jak opisano w punkcie 2. W 30 sek. po iniekcji DFP (2—10 mg/kg) podawano toksogoninę w dawce 5 mg/kg.

4. Wpływ na LD₅₀ DFP.

a) toksogoniny podanej razem z lekami przeciwdrgawkowymi. Mysiom 30 sek. po iniekcji DFP (2—10 mg/kg) podawano toksogoninę (5 mg/kg) i leki przeciwdrgawkowe, tj. dilantynę (15 mg/kg), fenobarbital (40 mg/kg), IBFB (80 mg/kg) lub diazepam (2,5 mg/kg). Zwierzęta obserwowano przez 48 godz., po czym obliczano LD₅₀ DFP.

b) toksogoniny i atropiny podanej razem z lekami przeciwdrgawkowymi. Mysiom 30 sek. po podaniu DFP (2—10 mg/kg) stosowano atropinę (10 mg/kg), toksogoninę (5 mg/kg) oraz badane leki przeciwdrgawkowe, tj. dilantynę (15 mg/kg), fenobarbital (40 mg/kg), IBFB (80 mg/kg) lub diazepam (2,5 mg/kg). Obserwacje prowadzono przez 48 godz., po czym obliczano LD₅₀ DFP.

WYNIKI

1. Wpływ toksogoniny na LD₅₀ DFP (tab. 1).

Po podaniu DFP w dawkach zbliżonych do śmiertelnych obserwowano uspokojenie myszy, obniżanie temperatury, drżenia oraz drgawki kloniczne. Toksogonina zastosowana w dawkach od 5 do 40 mg/kg istotnie pro-

Tab. 1. Wpływ toksogoniny (podanej 30 sek. po DFP) na LD₅₀ DFP u myszy
The influence of Toxogonin (injected 30 second after DFP) on the acute toxicity of DFP in mice

Toksogonina w mg/kg i.p.	LD ₅₀ DFP w mg/kg i.p.
—	2,45 (2,1— 2,8)
5	4,4 (2,9— 6,6)*
10	5,0 (3,5— 7,1)*
20	5,8 (4,2— 7,9)*
30	6,6 (5,4— 7,9)*
40	8,5 (7,0—10,1)*

* p<0,05.

porcjonalnie do dawki zmniejszała toksyczność ostrą DFP u myszy. Nie obserwowano także drgawek klonicznych.

2. Wpływ leków przeciwdrgawkowych na LD₅₀ DFP (tab. 2).

Tab. 2. Wpływ dilantyny (15 mg/kg 60 min. przed DFP), fenobarbitalu (40 mg/kg 60 min. przed DFP), IBFB (80 mg/kg 30 min. przed DFP) i diazepam (2,5 mg/kg 30 min. przed DFP) na toksyczność DFP

The influence of dilantin (15 mg/kg, injected 60 min. before DFP), phenobarbital (40 mg/kg, injected 60 min. before DFP), IBFB (80 mg/kg, injected 30 min. before DFP) and diazepam (2.5 mg/kg, injected 30 min. before DFP) on the acute toxicity of DFP in mice

Stosowano i.p.	LD ₅₀ DFP w mg/kg i.p.
—	2,45 (2,1—2,8)
Dilantyna	3,3 (2,4—4,6)
Fenobarbital	3,5 (2,7—4,7)
IBFB	2,9 (1,9—3,9)
Diazepam	2,9 (1,9—4,4)

Z zastosowanych leków jedynie dilantyna i fenobarbital nieznacznie zmniejszały toksyczność DFP.

3. Wpływ toksogoniny na LD₅₀ DFP u myszy poddanych działaniu leków przeciwdrgawkowych (tab. 3).

Tab. 3. Wpływ toksogoniny (5 mg/kg 30 sek. po DFP) na toksyczność DFP u myszy poddanych działaniu dilantyny (15 mg/kg 60 min. przed DFP), fenobarbitalu (40 mg/kg przed DFP), IBFB (80 mg/kg 30 min. przed DFP) i diazepam (2,5 mg/kg 30 min. przed DFP)

The influence of Toxogonin (5 mg/kg, injected 30 sec. after DFP) on the acute toxicity of DFP in mice pretreated with dilantin (15 mg/kg, injected 60 min. before DFP), phenobarbital (40 mg/kg, injected 60 min. before DFP), IBFB (80 mg/kg, injected 30 min. before DFP) and diazepam (2.5 mg/kg, injected 30 min. before DFP)

Stosowano i.p. +Toksogonina i.p.	LD ₅₀ DFP w mg/kg i.p.
DFP	4,4 (2,9—6,6)
Dilantyna	5,2 (4,4—6,1)
Fenobarbital	3,0 (2,4—3,0)
IBFB	3,0 (2,4—3,7)
Diazepam	4,5 (3,2—6,3)

Z zastosowanych 30—60 min. przed DFP leków jedynie dilantyna nieznacznie zmniejszała toksyczność ostrą DFP u myszy w porównaniu z grupą zwierząt, które otrzymywały wyłącznie toksogoninę.

4. Wpływ na LD₅₀

a) toksogoniny podanej razem z lekami przeciwdrgawkowymi (tab. 4). IBFB, diazepam i dilantyna stosowane razem z toksogoniną w 30 sek. po

Tab. 4. Wpływ toksogoniny (5 mg/kg) podanej 30 sek. po DFP jednocześnie z dylantyną (15 mg/kg), fenobarbitaliem (40 mg/kg), IBFB (80 mg/kg) lub diazepamem (2,5 mg/kg) na toksyczność DFP

The influence Toxogonin (5 mg/kg) injected 30 sec. after DFP with dilantin (15 mg/kg), phenobarbital (40 mg/kg), IBFB (80 mg/kg), diazepam (2.5 mg/kg) on the acute toxicity of DFP in mice

Stosowano i.p. +Toksogonina i.p.	LD ₅₀ DFP w mg/kg i.p.
—	4,4 (2,9—6,6)
Dilantyna	4,2 (3,2—5,4)
Fenobarbital	3,3 (2,6—4,0)
IBFB	4,2 (3,4—5,1)
Diazepam	4,0 (3,1—5,1)

iniekcji DFP praktycznie nie zmieniały LD₅₀ DFP. Natomiast w przypadku łącznego stosowania fenobarbitalu i toksogoniny obserwowano nieznaczne zwiększenie toksyczności DFP.

b) toksogoniny i atropiny podanej razem z lekami przeciwdrgawkowymi (tab. 5). Dilantyna, IBFB stosowane razem z toksogoniną i atropiną praktycznie nie zmieniały toksyczności ostrej DFP. Natomiast fenobarbital i diazepam podawane łącznie z toksogoniną i atropiną 30 sek po iniekcji DFP nasilały nieznacznie jego toksyczność ostrą.

Tab. 5. Wpływ toksogoniny (5 mg/kg) i atropiny (10 mg/kg) zastosowanych 30 sek. po DFP jednocześnie z dylantyną (15 mg/kg), fenobarbitaliem (40 mg/kg), IBFB (80 mg/kg), diazepamem (2,5 mg/kg) na toksyczność DFP

The influence toxogonin (5 mg/kg) and atropine (10 mg/kg) injected 30 sec. after DFP with dilantin (15 mg/kg), phenobarbital (40 mg/kg), IBFB (80 mg/kg) and diazepam (2.5 mg/kg) on the acute toxicity of DFP in mice

Stosowano i.p. +Toksogonina i atropina i.p.	LD ₅₀ DFP w mg/kg i.p.
—	8,6 (7,5—9,8)
Dilantyna	8,0 (6,9—9,3)
Fenobarbital	7,0 (6,0—8,1)
IBFB	8,2 (6,8—9,8)
Diazepam	6,8 (5,7—8,0)

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Z przeprowadzonych badań wynika, że stosowane leki przeciwdrgawkowe w zasadzie nie wpływają na toksyczność ostrą DFP u myszy. Nieznaczne zmniejszenie toksyczności DFP obserwowane po zastosowaniu dylantyny i fenobarbitalu okazało się statystycznie nieistotne. Również nieistotne okazało się zmniejszenie toksyczności DFP stosowanego łącznie z toksogoniną w dawce 5 mg/kg u myszy poddanych działaniu dylantyny. Jednoczesne zastosowanie leków przeciwdrgawkowych i toksogoniny nie

zmienia toksyczności ostrej DFP w porównaniu z toksycznością obserwowaną u zwierząt otrzymujących tylko toksogoninę. Łączne zastosowanie leków przeciwdrgawkowych, toksogoniny i atropiny nie zmienia także toksyczności ostrej DFP. Podobne wyniki uzyskali R u m p i G r u d z i ń s k a (14), którzy stwierdzili, że diazepam nie wywiera działania ochronnego w zatruciach fluorostygminą u szczurów. Jednakże autorzy ci wykazali, że diazepam nasila ochronne działanie atropiny i toksogoniny.

Z uwagi na ogólnie znane działanie przeciwdrgawkowe pochodnych benzodwiazepiny, szczególnie w drgawkach pentetrazolowych (3, 10, 13, 15, 18), brak efektu ochronnego w toksycznym działaniu DFP wskazuje na to, że drgawki wywołane nadmiarem ACh charakteryzują się innym mechanizmem powstawania, na który leki przeciwdrgawkowe nie wywierają wpływu. Potwierdzeniem tego może być również fakt, że atropina nie wpływa na drgawki wywołane pentetrazolem (2, 10, 15, 19). Ponadto eksperymentalnie wywołane drgawki u zwierząt powodują obniżenie poziomu ACh w mózgu, zwiększenie jej stężenia w płynie mózgowo-rdzeniowym (17) oraz zmniejszenie zdolności jej magazynowania w korze mózgowej (16). Wykazano również, że fenobarbital i dilantyna w małych stężeniach nasilają, a w dużych hamują syntezę ACh w skrawkach mózgu (8). Te różnice w mechanizmie powstawania drgawek pentetrazolowych i elektrycznych oraz drgawek obserwowanych w zatruciach związkami fosforoorganicznymi wydają się być przyczyną braku ochronnego działania leków przeciwpadaczkowych w drgawkach wywołanych przez DFP.

PIŚMIENNICTWO

1. Banziger R. F.: Arch. int. Pharmacodyn. **154**, 131—136, 1965.
2. Chen G., Bohner B.: Arch. int. Pharmacodyn. **125**, 1—20, 1960.
3. Coustinho C. B., Chepirko J. A., Carbone J. J.: Biochem. Pharmacol. **19**, 363—379, 1970.
4. Feldberg W., Sherwood S. L.: J. Physiol. (London) **123**, 148—167, 1954.
5. Feldberg W., Sherwood S. L.: P. Physiol. (London) **125**, 488—500, 1954.
6. Haley T. J., McCormick W. G.: Brit. J. Pharmacol. **12**, 12—15, 1957.
7. Holmstedt B.: Pharmacol. Rev. **11**, 567—588, 1959.
8. Lennan H., Elliot K. A. C.: J. Pharmacol. exp. Ther. **103**, 35—43, 1951.
9. Litchfield J. T., Wilcoxon F.: J. Pharmacol. exp. Ther. **96**, 99—113, 1949.
10. Longo V. G.: Pharmacol. Rev. **18**, 965—966, 1966.
11. Maynest E. W.: Epilepsia **10**, 145—162, 1969.
12. Przegaliński E.: Rola 5-hydroksytyryptaminy w zachowaniu się prognozy drgawkowego oraz w działaniu leków przeciwdrgawkowych, praca habilitacyjna, AM, Lublin 1975.
13. Randall L. O., Scheckel C. L., Banziger R.: Curr. Ther. Res. **7** 590—598, 1965.
14. Rump S., Grudzińska E.: Arch. Toxicol. **31**, 223—232, 1974.
15. Rümke C. L.: Acta Physiol. Pharmacol. Neerl. **8**, 354—359, 1959.

16. Singh P., Huot J.: *Anticonvulsant Drugs*. Vol. 12 (wyd. Marcier J.), Pergamon Press, Oxford—New York—Toronto—Sydney—Braunschweig 1973, 427—504.
17. Spinks A., Waring W. S.: *Anticonvulsant Drugs, Progress in Medicinal Chemistry* Vol. 3 (wyd. Ellis G. P., West G. B.), Butterworths, London 1963. 261—331.
18. Swinyard E. A., Castellon A. W.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* 151, 1966, 369—375.
19. Zabłocka B.: *Arch. Int. Pharmacodyn.* 142, 533—538, 1963.

Otrzymano 24 I 1976.

РЕЗЮМЕ

В исследованиях, проведенных на белых мышах, доказано, что применение противосудорожных средств (дилантин — 15 мг/кг, фенобарбитал — 40 мг/кг, имид *m*-бромфенилэтантарной кислоты — 80 мг/кг и диазепам — 2,5 мг/кг) не влияют на острую токсичность эфира диизопропилфлуорофосфорной кислоты (ДФР).

Противосудорожные средства, применяемые вместе с токсогонином (5 мг/кг) или токсогонином и атропином (10 мг/кг) также не оказывают действия на острую токсичность ДФР.

SUMMARY

In the carried out research on mice which were pretreated with anticonvulsant substances it was ascertained that (phenytoin — 15 mg/kg i.p., phenobarbital — 40 mg/kg i.p., *m*-bromophenylsuccinimide — 80 mg/kg i.p. and diazepam — 2,5 mg/kg i.p.) did not modify the acute toxicity (DL_{50}) of diisopropylfluorophosphate. The above mentioned anticonvulsant drugs given together with toxogonin (5 mg/kg i.p.) or with toxogonin plus atropine (10 mg/kg i.p.) also appeared without effect on the DL_{50} of diisopropylfluorophosphate.