

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Auswirkungen schwerer Vergiftungen mit dem Organophosphat Paraoxon (E 600) wurden an Schweinen (Göttinger-Miniaturschweine) unter intensivmedizinischer Therapie über 8 Stunden untersucht. Paraoxon wurde in einer Dosierung von 1 mg/kg KG (LD_{50} -Bereich) sowie in mehrfacher LD_{50} (3, 9 und 27 mg/kg KG) intravenös verabreicht. Im Blut wurden in 30minütigen Abständen die Aktivitäten der Acetylcholinesterase (AChE, EC 3.1.1.8), Butyrylcholinesterase (BuChE, EC 3.1.1.7) und Carboxylesterase (CarbE, EC 3.1.1.1) bestimmt. In Gewebeproben (Gehirn, Rückenmark, N.vagus, Herzmuskel, Skelettmuskel, Zwerchfell, Lunge und Leber) wurden die Aktivitäten der genannten 3 Enzyme nach Versuchsende bestimmt.

Eine Kontrollgruppe von 15 Tieren wurde unter identischen Versuchsbedingungen, ohne Paraoxongabe, über 8 Stunden gehalten. Für die Blutenzyme wurden folgende Vergleichsaktivitäten bestimmt: Erythrozyten-AChE 380 ± 135 U/l Blut, Serum-BuChE 161 ± 42 U/l Serum und Serum-CarbE 101 ± 53 U/l Serum.

Die Paraoxoninfusion führte in allen Dosierungen bei allen Tieren innerhalb von 30 bis 60 Minuten zu einem Abfall sowohl der Erythrozyten-AChE als auch der Serum-BuChE und Serum-CarbE. Die Hemmung betrug 84 bis 95%. Dabei traten bei allen untersuchten Enzymen (AChE, BuChE und CarbE) Restaktivitäten von 5 bis 16% auf, die nicht gehemmt wurden. Nach einer Paraoxon-Dosis von 1 mg/kg KG zeigte die Serum-BuChE einen Wiederanstieg der Aktivität auf Werte über 75% des Ausgangswertes. Der Wiederanstieg erfolgte über 7½ Stunden. Bei einer Vergiftung mit 3 mg/kg KG erreichte die Serum-BuChE-Aktivität nach 5 Stunden wieder 50% des Ausgangswertes. Bei Tieren mit Paraoxon-Dosen von 9 und 27 mg/kg KG war kein Wiederanstieg der Serum-BuChE-Aktivität zu erkennen. Die Aktivität verblieb auf weniger als 30 bzw. 12% des Ausgangswertes. Ebenso konnte ein Wiederanstieg der Aktivität der Erythrozyten-AChE nach einer Paraoxon-Dosis von 3 mg/kg KG nachgewiesen werden. Die Aktivität stieg über 6 Stunden auf etwa 57% des Ausgangswertes an. Ein Wiederanstieg der Erythrozyten-AChE-Aktivität bei höheren Dosierungen (9 und 27 mg/kg KG) wurde nicht beobachtet.

Nach einer Paraoxon-Dosis von 9 mg/kg KG traten bei einzelnen Tieren Blutungskomplikationen (im Sinne eines hämorrhagischen Schocks) mit Hämatokritabfall von durchschnittlich 29% auf 6% während des Versuches auf. Als wichtigste Forderung ergibt sich, daß generell bei schweren Organophosphatvergiftungen die Blut-Cholinesterase-Aktivitäten nur unter gleichzeitiger Berücksichtigung des Hämatokrits bzw. der Eiweißkonzentration beurteilt werden dürfen.

In den Gewebeproben (Gehirn, Rückenmark, N. vagus, Herzmuskel, Skelettmuskel, Zwerchfell, Lunge und Leber), die nach ca. 8 Stunden entnommen wurden, wurden mehr oder weniger deutlich eine dosisabhängige Hemmung des Cholinester-Umsatzes und der CarbE-Aktivität nachgewiesen. Diese Enzymaktivitäten zeigten sowohl bei den Kontrolltieren (Variationskoeffizient 20 bis 125%) als auch bei den Versuchstieren sehr stark schwankende Werte. Die Organaktivitäten der vergifteten Tiere erlauben daher nur sehr bedingt Aussagen über die Schwere der Vergiftung.

Ein Vergleich der in vitro ermittelten Daten zur Reaktivität von Organophosphaten mit den an Göttinger-Miniaturschweinen in vivo tolerierten Paraoxon-Dosen wies auf eine deutlich geringere Toxizität dieser Substanz in vivo hin. Diese Befunde machten es notwendig, natürliche Resistenzmechanismen gegenüber Organophosphaten zu untersuchen. Die Organophosphat-Entgiftungskapazität der Paraoxonase (Phosphorylphosphatase, EC 3.1.8.1) wurde in Organen und Seren von Schweinen untersucht. Es zeigte sich, daß die weitaus größte Paraoxonase-Aktivität in der Leber vorkam und daß Schweine verglichen mit anderen Wirbeltieren einen relativ geringen Paraoxon-Umsatz in der Leber haben.

Die Aktivitäten der Erythrozyten-AChE, Serum-BuChE und Serum-CarbE bei vergifteten Tieren und Kontrolltieren wurden jeweils miteinander in ihrer Korrelation untersucht. An 7 Tieren wurde die Serum-CarbE-Aktivität mit den Aktivitäten der Erythrozyten-AChE und Serum-BuChE korreliert. Es ergaben sich positive Korrelationen, die mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,886$ und $r = 0,827$ mit $p < 0,01$ signifikant waren. Auch die Erythrozyten-AChE-Aktivität zeigte eine positive Korrelation ($r = 0,641$, $p < 0,01$) mit der Serum-BuChE-Aktivität ($n = 21$).

Die Aktivitäten der AChE, BuChE und CarbE in Blut und Organen wurden jeweils miteinander in ihrer Korrelation untersucht. Die diagnostische Bedeutung der BuChE spiegelte sich in zahlreichen Korrelationen zwischen Serum- und Organaktivitäten wieder. Auch für die AChE und CarbE ergaben sich signifikante Zusammenhänge, die jedoch nicht so ausgeprägt waren, wie für die BuChE.

Die Schlußfolgerung ist, daß die Aktivitätsverläufe der Enzyme im Blut (BuChE, AChE und CarbE) ergänzende Informationen zum klinischen Krankheitsbild einer Organophosphat-Intoxikation ergeben, so daß sie ein wichtiges Hilfsmittel für die Verlaufskontrolle darstellen.

Heinze, Marion:

Severe in vivo organophosphate poisoning in pigs. Determination of Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase and Carboxylesterase activities for diagnosis and clinical monitoring.

6. SUMMARY

The effects of severe poisoning with the organophosphate paraoxon (E 600) were studied in pigs (Göttinger miniature pigs) under intensive medical therapy for over 8 hours. Paraoxon was administered intravenously in a dosage of 1 mg/kg KG (LD₅₀-range), as well as in multiple LD₅₀ (3, 9 and 27 mg/kg KG). The activity of acetylcholinesterase (AChE, EC 3.1.1.8), butyrylcholinesterase (BuChE, EC 3.1.1.7) and of carboxylesterase (CarbE, EC 3.1.1.1) was determined in the blood at 30-minute intervals. The activity of the aforesaid 3 enzymes was determined at the end of the experiment in tissue samples (brain, spinal cord, vagus nerve, heart muscle, skeletal muscle, diaphragm, lung and liver).

A control group of 15 animals was kept under identical experimental conditions, without the administration of paraoxon, for over 8 hours. The following comparative activity was determined for the blood enzymes: erythrocyte-AChE 380 ± 135 U/l blood, serum-BuChE 161 ± 42 U/l serum, serum-CarbE 101 ± 53 U/l serum.

The infusion of paraoxon led, in all dosages in all animals within 30 to 60 minutes, to a drop in erythrocyte-AChE as well as serum-BuChE and serum-CarbE. The degree of inhibition amounted to 84 - 95 %. Residual activity of 5 to 16 %, which was not inhibited, was thereby ascertained in all enzymes (AChE, BuChE and CarbE) studied. After a paraoxon dose of 1 mg/kg KG, serum-BuChE showed a renewed increase in activity to a degree of over 75 % of the initial degree of activity. The renewed increase in activity took place in the course of 7½ hours. In the case of poisoning with 3 mg/kg KG, serum-BuChE achieved a degree of activity after 5 hours corresponding to 50 % of its initial degree of activity. No renewed increase in serum-BuChE activity could be ascertained in animals, which had received paraoxon doses of 9 and 27 mg/kg KG. The

activity remained lower than 30 and 12 % respectively of the initial value obtained. Likewise a renewed increase in activity of erythrocyte-AChE could be demonstrated after a paraoxon dose of 3 mg/kg KG. The activity increased over 6 hours to about 57 % of the initial value. A renewed increase of erythrocyte-AChE activity was not observed at higher dosages (9 and 27 mg/kg KG).

After a paraoxon dose of 9 mg/kg KG bleeding complications (in the sense of a hemorrhagic shock) occurred in some animals with a hematocrit drop of 29% to 6 % on average during the experiment. As the most important requirement it was determined that generally, in cases of severe organophosphate poisoning, the activity of blood cholinesterase may be judged, only if the hematocrit and protein concentration is simultaneously taken into consideration.

A dose-dependant inhibition of cholinester metabolism and CarbE activity was more or less clearly demonstrated in the tissue samples (brain, spinal cord, vagus nerve, heart muscle, skeletal muscle, diaphragm, lung and liver), which were obtained after ca. 8 hours. This enzyme activity showed very strongly divergent values in the control animals (variation coefficient 20 - 125 %) as well as in the experimental animals. The organ activity of the poisoned animals therefore permitted only very limited statements about the severity of the poisoning.

A comparison of the data obtained in vitro on the reactivity of organophosphates with the paraoxon doses tolerated by Göttinger miniature pigs in vivo indicated a clearly lower toxicity of this substance in vivo. These findings made it necessary to investigate natural resistance mechanisms with regard to organophosphates. The organophosphate detoxification capacity of paraoxonase (phosphorylphosphatase, EC 3.1.8.1) was studied in pig organs and blood. It was shown that the greatest paraoxonase activity by far occurred in the liver and that pigs in comparison with other vertebrates have a relatively low paraoxon metabolism in the liver.

The activity of erythrocyte-AChE, serum-BuChE and serum-CarbE including poisoned animals and control animals was correlated respectively with one another. Serum-CarbE activity was correlated in 7 animals with the activity of erythrocyte-AChE and serum-CarbE activity. Positive correlations resulted which,

with a correlation coefficient of $r = 0.886$ and $r = 0.827$ with $p < 0.01$, were significant. Erythrocyte-AChE activity also showed a positive correlation ($r = 0.641$, $p < 0.01$) with the serum-BuChE activity ($n = 21$).

The activity of AChE, BuChE and CarbE in the blood and organs was correlated respectively with one another. The diagnostic importance of BuChE was reflected in the numerous correlations between serum and organ activity. Significant connections were also demonstrated for AChE and CarbE which were nevertheless not as conspicuous as those for BuChE.

The conclusion is that the courses of activity of the enzymes in the blood (BuChE, AChE and CarbE) provided supplementary information on the clinical syndrome of organophosphate poisoning, so that they represent an important monitoring device.