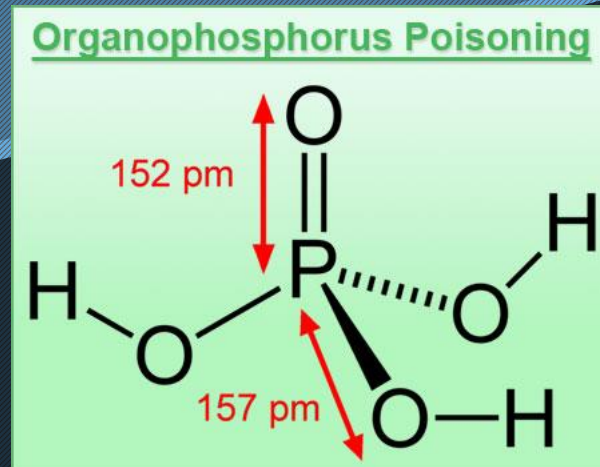


Trovanja organofosfatnim insekticidima



Prof. dr Saša Trailović

- Pod terminom *organofosfati* (OP), podrazumeva se uopšteni naziv za grupu hemijskih jedinjenja koji predstavljaju estre fosforne kiseline, a deo su jedne šire grupe hemijskih jedinjenja koja nosi naziv *organofosforna* jedinjenja.
- Organofosfatna jedinjenja prvi put su sintetisana polovinom XIX veka.

- **Tokom 30-tih godina prošlog veka organofosfati se ispituju kao potencijalni insekticidi.**
- **Godine 1932. prvi put su opisani efekti organofosfata na holinergički sistem čoveka, kao što su osećaj gušenja i zamućen, nejasan vid.**

- Popularnost ovih insekticida naročito je porasla kada su mnogi *organohlorni insekticidi* (*DDT, dieldrin, heptahlor*) tokom 70-tih godina prošlog veka bili zabranjeni.
- Nedostatkom organofosfatnih jedinjenja smatra se njihova mala selektivna toksičnost.
- Krajem 90-tih počinje restriktivna primena organofosfata.
- Trovanja organofosfatnim jedinjenjima učestala su i kod ljudi i kod životinja.



NERVNI BOJNI OTROVI

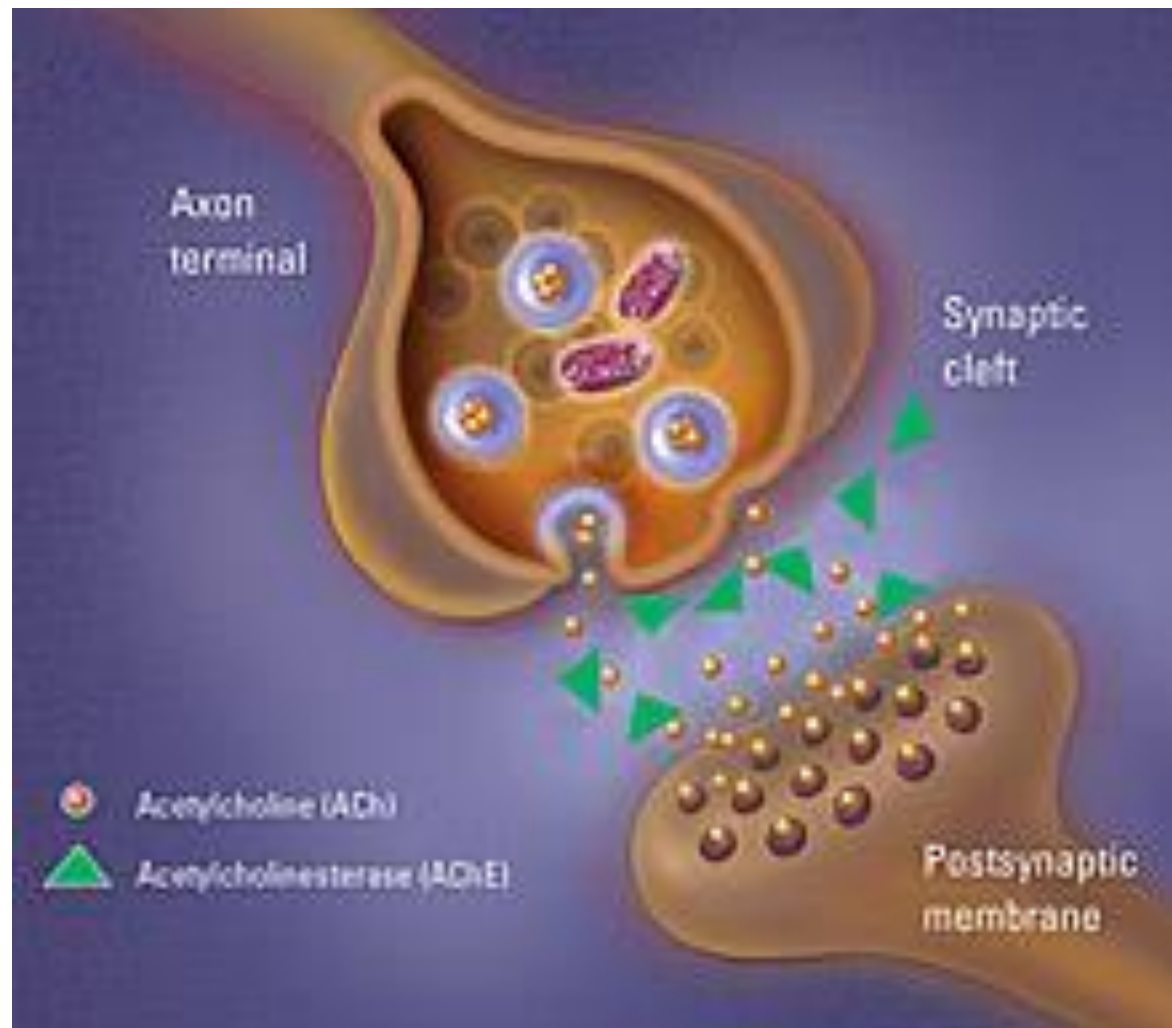
- Nervni bojni otrovi spadaju u grupu organofosfornih jedinjenja.
- Nervni bojni otrovi su toksičniji od insekticida (njihove letalne doze se izražavaju u mikrogramima na kilogram telesne mase), brzo se resorbuju preko kože i sluzokože i efekat im duže traje.
- Najpoznatiji su triloni (**tabun, sarin i soman**), DFP i VX-otrov.



MEHANIZAM TOKSIČNOG DEJSTVA

- **Mehanizam toksičnosti organofosfata je rezultat ireverzibilne inhibicije AChE.**
- **Organofosfati inhibišu AChE tako što dovode do fosforilacije aktivnog (*estarskog*) mesta enzima.**

- **Usled inhibicije AChE (prave, specifične), neurotransmiter ACh se kumulira u sinapsama između neurona u CNS-u i neuromišićnim sinapsama.**
- **To dovodi do kontinuirane i prekomerne stimulacije muskarinskih i nikotinskih receptora u centralnom i perifernom nervnom sistemu, sa posledičnim simptomima trovanja.**
- **Otuda se kod sisara otrovanih organofosfatnim insekticidima jasno mogu razlikovati 3 grupe efekata: centralni, muskarinski i nikotinski.**



- **Esteraze su enzimi koji se deli u dve grupe (A i B esteraze), u zavisnosti od toga da li organofosfati posle vezivanja za enzim, inhibiraju njegovu aktivnost.**
- **Enzimsku aktivnost A-esteraza (paraoksonaza) organofosfati ne inhibiraju.**
- **Za razliku od A-esteraza, organofosfati ireverzibilno inhibiraju grupu B-esteraza.**

- **B-esteraze su familija serin-hidrolaza, kojoj pripadaju dve holinesteraze:**
 - ***acetilholinesteraza - AChE (prava, specifična)***
 - ***butirilholinesteraza – BChE (pseudoholinesteraza), kao i karboksilesteraza (CbE) (poznata još i kao aliesterza AliEs).***
- **Organofosfatna jedinjenja ireverzibilno inhibiraju sve **B-esteraze** pa se zbog toga one koriste kao nedestruktivisani biomarkeri za ekspoziciju antiholinesternim insekticidima.**

- ***Acetilholinesteraza – AChE*** (prava, specifična) je enzim koji brzo hidrolizuje ACh u sinapsama, nakon što ACh obavi svoju funkciju u neurotransmisiji.
- Na taj način AChE reguliše fiziološko prenošenje nervnog impulsa. Osim u nervnim strukturama, AChE se nalazi i u eritrocitima (ne i u krvnoj plazmi), dijafragmi, plućima i slezini.
- ***Pseudoholinesteraza – BChE*** (butirilholinesteraza, nespecifična), nalazi se u krvnoj plazmi, jetri, mukozni creva, slezini, pankreasu, beloj masi CNS-a (za razliku od AChE, fiziološka uloga BChE još nije dovoljno poznata).

- **Holinesterazna aktivnost pune krvi potiče od dva enzima: eritrocitne AChE (70% aktivnosti) i plazmine BChE (30% aktivnosti).**
 - **Obe izoforme enzima su biomarkeri kod trovanja organofosfatnim insekticidima, s tim da je samo eritrocitna holinesteraza strukturno slična AChE u nervnim strukturama, zato stepen inhibicije eritrocitne AChE stoji u korelaciji sa izraženošću simptoma trovanja organofosfatnim insekticidima.**

Aktivnost eritrocitne AChE	Simptomi trovanja	Aktivnost eritrocitne AChE	Simptomi trovanja
> 50 %	bez simptoma	20 – 10 %	srednje izraženi
50 – 20 %	slabo izraženi	< 10 %	izrazito izraženi

Izraženost simptoma trovanja organofosfatima u odnosu na stepen inhibicije eritrocitne AChE

Acetylcholine signaling at synapse



- Acetylcholine (ACh)
- U ACh Receptor
- ~ Signal transmission

ACh Esterase STOPS signaling process



- ACh
- U ACh Receptor
- ~ Signal transmission
- ★ ACh Esterase

OP's inhibit ACh Esterase



- ACh
- U ACh Receptor
- ~ Signal transmission
- ★ ACh Esterase
- ▲ Organophosphate pesticide (OP)

Kao glavni izvori intoksikacije navode se:

(1) zlonamerna trovanja, verovatno zbog toga što se lako može da dođe do komercijalnih preparata;

(2) zbog predoziranja kod lečenja ektoparazitskih bolesti;

(3) inače korektno davanje organofosfata životinjama koje su u lošem opštem stanju;



(4) davanje kontaminirane hrane biljnog porekla;

(5) voda za piće kontaminirana posipanjem ili ispiranjem tankova i cevi za prskanje;

(6) nepažljiva primena organofosfornih pesticida u zaštiti bilja;

(7) bačena ili na nepravilan način uništena ambalaža (koja nikada nije u potpunosti prazna).



- **Većina organofosfata se u životnoj sredini, prvenstveno u zemljištu zadržava 2 do 4 nedelje ili kraće.**



- **Međutim, neki od njih sporije podležu procesima degradacije i perzistiraju 24 nedelje (naprimer paration) pa i 36 nedelja (hlorfenvinfos, fosfolan, dihlorfention i oksidisulfoton) u zemljištu.**

Organofosfat	LD ₅₀ u pacova (mg/kg t.m.)	Doza bez efekta (NOEL)	
		Maksimalna netoksična doza	
		ppm	mg/kg/dnevno
paration ¹	2-13	2	—
fention	175-616	3	0,15
malation ¹	1000-2800	100	—
hlorpirifos-metil ¹	1090-3733	—	0,1
merfos	1270	—	—
Foksim ¹	oko 2000	15	—
pirimifos-metil	2050	10	0,5
jodofenfos	2100	—	—
fosteks	2500	—	—
spirofos	4000	—	—
tetrahlorfos	4000	—	—

TOKSIKOKINETIKA

- **Zbog liposolubilnosti organofosfati se brzo resorbuju kako preko sluzokože (gastro-intestinalnog trakta i pluća) tako i preko kože.**
- **Dobro distribuiraju po organizmu i imaju svojstvo da se njihovo toksično dejstvo na organe i sisteme organizma kumulira (nakuplja).**
- **Po ulasku u organizam se deponuju u organima i tkivima, odakle kontinuirano dospevaju u cirkulaciju.**
- **Bar delom prodiru kroz placentarnu barijeru i uzrokuju depresiju holinesterazne aktivnosti u fetusu.**

- **U organizmu organofosfati podležu biotransformaciji pomoću oksidativnih i hidrolitičkih sistema uz učešće enima oksidaza, glutathion transferaza i esteraza.**
- **Mnogi organofosfati nisu snažni inhibitori esteraza (indirektni inhibitori) dok se ne aktiviraju u jetri (uglavnom mikrozomalnim oksidativnim enzimima).**
- **Iz parationa nastaje najtoksičniji paraokson a iz trihlorfona aktivniji dihlorvos.**

TOLERANCIJA

- **Kod hronične ekspozicije životinja malim količinama organofosfata može da se razvije tolerancija.**
- **Postoji nekoliko mehanizama pomoću kojih se tolerancija razvija prema subhroničnim i hroničnim trovanjima organofosfatima:**
 - **(a) *nishodna regulacija nikotinskih i muskarinskih receptora***
 - **(b) *modifikacija oslobađanja ACh iz presinaptičkih struktura***
 - **(c) *kompensatorna sinteza enzima koji učestvuju u detoksikaciji inhibitora AChE***
 - **(d) *promene u samoj strukturi enzima AChE.***

KLINIČKA SLIKA TROVANJA

- **Simptomi akutnog trovanja organofosfatima su posledica preterane holinergičke stimulacije i zavise od doze (ekspozicije), vrste životinje, jedinjenja i (donekle) načina unošenja.**

LOKALNI EFEKTI

- **Lokalni efekti mogu da se pojave samo na oku ili u plućima (bez sistemskog trovanja) pri neznatnom izlaganju parama ili kapljicama organofosfata.**
- **Promene na oku (mioza, povećan intraokularni pritisak) i u plućima (pojačana bronhosekrecija i otežano disanje) su od prolaznog značaja.**
- **Na kontaminiranoj koži na mestu kontakta dolazi do fascikulacije mišića (i znojenja) zbog lokalne resorpcije.**

SISTEMSKI EFEKTI

- **Sistemiški efekti mogu da se grupišu u muskarinske, nikotinske i simptome vezane za CNS.**
- **(1) Muskarinski efekti se pojavljuju prvi a obuhvataju: stimulaciju glatke muskulature (izuzev krvnih sudova i sfinktera u gastrointestinalnom i urinarnom traktu) i egzokrinih žlezda, negativne efekte na srcu, dejstvo na oku.**
 - **profuzna salivacija, lakrimacija, konstrikcija pupila, obilno seromukozno pražnjenje iz nosa, znojenje, bledilo, anoreksija, nauzeja, povraćanje, abdominalni bol, pojačani gastrointestinalni šumovi, kolike, pojačan motilitet želuca i creva, dijareja, bradikardija, kašalj, pojačani šumovi u plućima (zbog bronho-konstrikcije, laringospazma i obilne bronhosekrecije), dispneja, edem pluća, cijanoza i inkontinencija fecesa i urina.**

- **(2) Nikotinski efekti su posledica delovanja nakupljenog acetilholina na poprečno-prugastu muskulaturu (trzajevi muskulature jezika, očne jabučice, lica i na kraju celog tela, tremor, spazam i hipertoničnost do ukočenosti i rigidnosti, a na kraju slabost, flaciditet i paraliza), vegetativne ganglije i nadbubrežnu žlezdu (oslobađanje kateholamina).**



- **(3) efekti na CNS nastaju zbog direktnog dejstva organofosfata a uključuju izraziti nemir, zaplašenost, ataksiju, jak opšti tremor, dremljivost, mentalnu konfuziju, konvulzije, gubitak refleksa i komu.**
- **U stvari prvo dolazi do stimulacije a zatim depresije CNS.**



- **Simptomi i znaci akutnog trovanja ne manifestuju se u potpunosti kod svih jedinki, ne uzrokuju svi organofosfati iste toksične efekte i ne reaguju sve vrste životinja jednako.**
- **Kod goveda kliničkom slikom trovanja dominiraju muskarinski efekti, pre svega na respiratornom sistemu.**
- **Kod ovaca su simptomi manje jasni nego kod goveda.**
- **Svinje su osetljive na trovanje i u kliničkoj slici se zapažaju nikotinski efekti (tremor muskulature ekstremiteta, ušiju, repa i kapaka).**
- **Kod pasa su jako izraženi gastrointestinalni poremećaji (povraćanje, dijareja i abdominalni bol) praćeni inkoordinacijom pokreta.**

- **Simptomi akutnog trovanja javljaju se za 15 minuta do 3 sata, a posle ekstremno visokih doza već za 2 do 3 minuta posle ekspozicije.**
- **Kod subakutnog trovanja klinički znaci se pojavljuju za 4 do 8 sati.**
- **Do uginjavanja dolazi zbog poremećaja respiracije (bronhokonstrikcije, bronhosekrecije i laringospazma) i to pre svega zbog paralize disanja (usled depresije respiratornog centra i periferne paralize respiratornih mišića).**

- **Kod mačaka dominiraju muskarinski efekti i u slučaju akutnog trovanja simptomi se javljaju posle 5 do 30 minuta od ekspozicije.**



- **Odložena neurotoksičnost se ponekada javlja u ljudi, pilića, teladi, pasa, mačaka, kunića i zamorčića 7 do 21 dan posle izlaganja organofosfatima i nije uzrokovana njihovim antiholinesteraznim dejstvom.**
- **Neuropathy target esterase (NTE).**

PATOANATOMSKI NALAZ

- **Nije karakterističan kod akutnog trovanja, a ako životinje brzo uginu ponekada nema nikakvih lezija.**
- **Kod životinja koje su uginule nekoliko časova posle pojavljivanja kliničkih znakova trovanja nalazi se:**
 - **edem pluća,**
 - **kongestija, cijanoza i agonalna krvarenja na srcu,**
 - **hemoragije u drugim organima ili samo u skeletnim mišićima,**
 - **kongestija i edem mozga i drugih organa,**
 - **mestimična nekroza mišića.**

- **Na leševima životinja uginulih zbog hroničnog trovanja organofosfatima nalazi se:**
 - **žuto prebojavanje svih tkiva i unutrašnjih organa**
 - **tačkasta subperikardijalna krvarenja,**
 - **edem parenhimatoznih organa,**
 - **degeneracija i fokalna nekroza u jetri i bubrezima,**
 - **žučna bešika prepuna tamnog sadržaja,**
 - **promene u mokraćnoj bešici (tačkasta krvarenja na sluzokoži prekrivenoj sa sluzi, nedostatak ili sasvim mala količina mokraće),**
 - **promene u gastrointestinalnom traktu (obilna sluz, tačkasta krvarenja i mestimične ulceracije)!**

DIJAGNOZA TROVANJA

- **Postavlja se na osnovu anamneze, kliničke slike, patoanatomskog nalaza, i određivanja stepena aktivnosti holinesteraze i organofosfata u tkivima.**
- **Diferencijalnom dijagnozom treba da se isključi trovanje karbamatima i hlorovanim uglovodonicima (koji dovode do hipertermije, ozbiljnije ekscitacije i konvulzija ali nemaju brojne parasimpatičke efekte).**

- **Smatra se da teška trovanja i uginjavanja nastaju kada aktivnost enzima opadne na samo 10-20% svoje normalne (fiziološke) vrednosti.**

TERAPIJA TROVANJA



- **Atropin-sulfat** blokira mnoge periferne i centralne efekte organofosfata.
- Pošto je povećana tolerancija otrovanih životinja na atropin, ovaj antidot se daje u dozi od 0,2 do 0,5 mg/kg (1/4 intravenski a ostatak intramuskularno ili subkutano).
- Po potrebi davanja se ponavljaju u intervalima od 3 do 6 sati tokom dana pa i duže.
- Odgovarajuća atropinizacija postoji kada su pupile proširene, salivacije prekinuta a životinja se oporavlja.

- **Kontraindikovano je davanje morfina, fizostigmina, barbiturata, opijatnih analgetika i derivata fenotijazina.**
- **Kada se kod otrovanih životinja pojave ozbiljne fascikulacije, podrhtavanje, spazam i grčevi mišića ili dođe do paralize daju se oksimi (ali samo već atropiniziranim životinjama) koji reaktiviraju holinesterazu (pralidoxime 2-PAM, obidoxime, methoxim, HI-6, HI-7, TMB-4.**
- **Pralidoksim-hlorid se malim životinjama daje intramuskularno ili lagano intravenski (kao 10% vodeni rastvor) u dozi od 25 do 50 mg/kg.**
- **Velikim životinjama se daje lagano intravenski (tokom 6 minuta) u dozi od 25 do 50 mg/kg u obliku 20% rastvora (maksimalno 100 mg/kg intravenski “kap po kap”). Po potrebi davanje može da se ponovi.**

- **Ostale terapijske mere su:**
 - **oksigenoterapija (kod izrazite cijanoze i dispneje)**
 - **uklanjanje izvora trovanja**
 - **pranje deterdžentom i vodom ako je ekspozicija bila preko kože**
 - **smanjenje GI resorpcije oralnim davanjem tečnog parafina**
 - **potporna terapija (tečnost, rastvori elektrolita, vitamini).**
- **Otrovana životinja se uz tretman za nekoliko dana oporavlja od akutnog trovanja organofosfatima.**