

Zofia Olszowy

Badania doświadczalne nad przebiegiem zatrucia glikolem etylenowym w aspekcie toksykologicznym i medyczo-sądowym.

Cz. 2. Wybrane parametry biochemiczne w doświadczalnym zatruciu glikolem etylenowym

Experimental investigations on the course of ethylene glycol poisoning from a medico-legal and toxicological aspect. Part 2. Chosen biochemical parameters in experimental ethylene glycol poisoning

Z Katedry Medycyny Sądowej Śląskiej AM w Katowicach

Kierownik: prof. dr hab. H. Sybirska

W doświadczalnym ostrym i podostrym zatruciu glikolem etylenowym, szczurom podawano glikol etylenowy w trzech zróżnicowanych dawkach tj. 1/2, 1/10, 1/100 DL50/kg.m.c. W czasie 26 godzinnej obserwacji siedmiokrotnie we krwi zwierząt wykonano badania gazometryczne, oznaczono stężenie glukozy, kwasu pirogronowego i mlekowego.

In experimental acute and subacute ethylene glycol poisonings, rats were administrated ethylene glycol in 3 different doses: 1/2 DL50/kgbm, 1/10 DL50/kgbm, 1/100 DL50/kgbm. Within 26 hours blood gas analysis was made 7 times and concentrations of glucose, lactic and pyruvic acids were determined. Obtained results of acid-base equilibrium showed deep metabolic acidosis. The correlation was made between the concentration of hydrogen ions in blood and the concentration of glycolic acid in tissues. This correlation had high parameters, but they were not always important for statistics. In the course of the acute experiment, glucose level in blood of rats showed hyperglycaemia. In a 28-day - experiment, hyperglycaemia significantly dependent on a size of ethylene glycol doses was found in animals. In comparison with the control group, concentration of pyruvic acid in the blood of rats was higher in the first phase of the acute experiment, and lower in the subacute experiment. The concentration of lactates was significantly lower in the first phase of the acute experiment, but higher in the second phase in comparison with the control group. In the subacute experiment, a rising concentration of lactates was observed.

Słowa kluczowe: glikol etylenowy, zatrucie, doświadczalne obserwacje na zwierzętach, równowaga kwasowo-zasadowa, glikemia, kwas pirogronowy, kwas mlekowy.

Key words: ethylene glycol, poisoning, experimental observation of rats, acid-base equilibrium, glycaemia, purvic acid, lactic acid.

WSTĘP

W przebiegu zatrucia glikolem etylenowym zwraca uwagę ciężka kwasica metaboliczna, będąca jednym z głównych elementów diagnostycznych i rokowniczych (1, 2, 16, 17).

Przyczyny kwasicy upatruje się w narastaniu stężenia metabolitów glikolu w krwi: kwasu glikolowego, glioksalowego, szczawowego (19, 20). Clay i Murphy (3) oraz inni (14, 17) uważają że główną rolę w kwasicy spełnia kwas glikolowy. Jacobsen i współpracownicy (8) obserwowali wysoką korelację stężenia glikolanów z niedoborem zasad. Litovitz (11) wskazuje na znaczącą rolę glioksalanów w rozwijającej się kwasicy. Collins i wsp. (4) i inni (3, 5, 18) zwracają uwagę na udział także innych kwasów organicznych zależnych od dehydrogenaz związanych z NAD.

Oksydacja glikolu etylenowego przez ADH podwyższa cytoplazmatyczny stosunek $\text{NADH}^+ + \text{H}^+ / \text{NAD}^+$. Naruszenie równowagi oksydoredukcyjnej warunkuje powstanie kwasicy mleczanowej (3, 9, 15). Hiperlakcydemia związana jest również z inaktywacją cyklu kwasu cytrynowego przez produkty mitochondrialnej kondensacji kwasu glioksalowego: jabłczany, adypiniany, glutarany i mrówczany (3, 9, 17).

Według Haddada i wsp. (7) kwasica w zatruciu glikolem etylenowym ma charakter wieloprzyczynowy. W dominującej części jest ona wynikiem nagromadzenia produktów przemiany glikolu oraz ich toksycznego działania, wzrostu produkcji glicyny zużywającej wodorowęglany, narastającej niewydolności nerek i zapaści naczyniowo - sercowej. Dołącza się jeszcze depresja centralnego układu nerwowego i ośrodka oddechowego, która w miarę upływu czasu prowadzi do narastania zaburzeń oddechu i powstania kwasicy o charakterze mieszanym (1, 6). Niewydolność nerek związana z upośledzeniem ukrwienia w wyniku obrzęku narządu, uszkodzenia cewek nerkowych przez kryształ szczawianu wapnia (3, 9, 10) oraz zaburzenia osmotyczne połączone z zaburzeniami wodnymi (1, 12, 13), pogłębia już istniejącą kwasicę metaboliczną z uwagi na niedostateczną regenerację zasad przez nerki (17).

W ocenie zakłóceń metabolicznych w następstwie zatrucia glikolem etylenowym zwrócono uwagę na przemianę węglowodanową bowiem działanie toksyczne metabolitów prowadzi do rozkojarzenia procesów biochemicznych, między innymi także metabolizmu glukozy (12, 17).

CEL PRACY

Dla celów poznawczych i interpretacyjnych, w warunkach kontrolowanego zatrucia glikolem etylenowym, podjęto jednoczesną ocenę parametrów biochemicznych krwi tj. równowagę kwasowo - zasadową (rkz), poziom kwasu mlekowego, kwasu pirogronowego i glukozy.

Zaplanowane badania powinny odpowiedzieć na pytanie:

1. Czy kontrolowane dobowe wahania parametrów biochemicznych różną się po podaniu glikolu w porównaniu z kontrolą?
2. Czy istnieje korelacja pomiędzy stężeniem jonów wodorowych a stężeniem kwasu glikolowego w badanym materiale?

MATERIAŁ I METODY

W czasie doświadczeń (ostrego, podostrego) badania biochemiczne krwi wykonano siedmiokrotnie. Pierwsze badanie wykonano po dwóch godzinach od podania glikolu (w grupie kontrolnej - wody) a pozostałe w odstępach czterogodzinnych (patrz schemat doświadczenia cz. 1., ryc. 2.).

• Równowaga kwasowo-zasadowa

Krew do badania pobierano 1 ml strzykawką na heparynę (0,1 ml heparyny + 0,4 ml krwi). Oznaczenia prowadzono na aparacie Corning 619.

• Glukoza

Stężenie glukozy we krwi oznaczono metodą enzymatyczną stosując zestaw diagnostyczny Blutzucker - Test. Do odczytu stosowano spektrofotometr „Specol” MK-6 E.

• Kwas mlekowy

Kwas mlekowy oznaczono metodą enzymatyczną korzystając z zestawu Test - Combination Lactate.

• Kwas pirogronowy

Do oznaczania kwasu pirogronowego korzystano z gotowych zestawów diagnostycznych Test - Combination Pyruvat. Oznaczanie kwasu mlekowego i pirogronowego prowadzono na spektrofotometrze VSU - 2P.

Uzyskane wyniki oznaczeń biochemicznych poddano analizie statystycznej. Badania statystyczne, po obliczeniu średniej arytmetycznej i odchylenia standardowego, przeprowadzono metodą analizy wariancji jednoczynnikowej i testu Duneta, a także stosując test t dla dwóch średnich, poprzedzony testem F dla dwóch wariancji. W celu wykrycia „zależności” pomiędzy stężeniem kwasu glikolowego w badanych narządach i stężeniem jonów wodorowych we krwi zastosowano analizę • regresji i korelacji. Dokonano weryfikacji znamienności statystycznej wyznaczonych korelacji za pomocą testu t dla współczynnika korelacji.

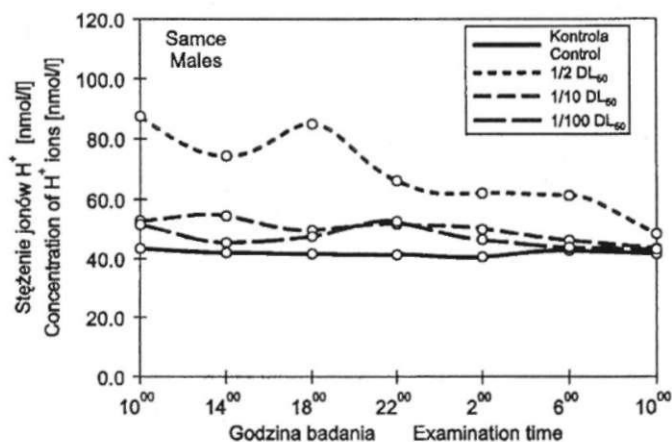
Obliczenia zrealizowano wykorzystując program EXCEL 5.0 dla WINDOWS, wyposażony w pakiet procedur statystycznych.

WYNIKI I OMÓWIENIE

W warunkach fizjologicznych w organizmie istnieje stała tendencja do zakwaszania środowiska wewnętrznego, związana z prawidłowym przebiegiem przemian ustrojowych. Większość reakcji biochemicznych w warunkach wzrostu stężenia jonów wodorowych ulega zahamowaniu, stąd sprawne usuwanie ich nadmiaru ma duże znaczenie dla prawidłowych przemian ustrojowych.

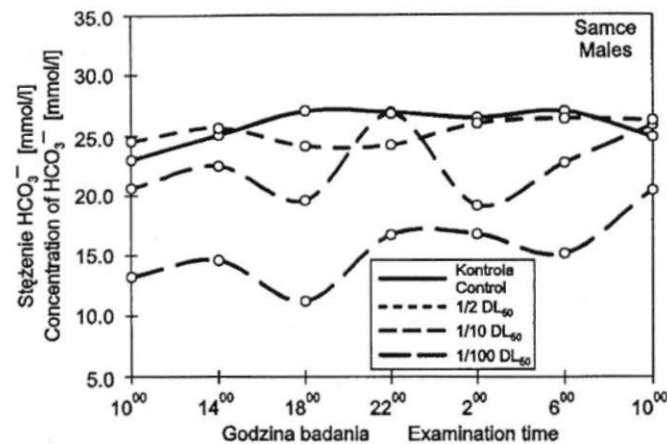
W zatruciu glikolem etylenowym największe zagrożenie dla życia stanowi kwasica metaboliczna. Odzwierciedleniem istniejącej kwasicy w eksperymentalnym zatruciu glikolem etylenowym były we krwi szczurów wysokie stężenia jonów wodorowych, spadek stężenia wodorowęglanów, głęboki niedobór zasad (BE). Kształtowanie się parametrów równowagi kwasowo-zasadowej było zależne od wielkości podanej dawki glikolu i modelu doświadczenia (ostry, podostry).

W doświadczeniu ostrym (rycina 1-4) przebieg badanych parametrów różnił się od uzyskanych w doświadczeniu podoстрыm (rycina 5-8). Niewątpliwym wpływem na te różnice miały istotnie wyższe i dłużej utrzymujące się stężenia metabolitów w doświadczeniu podostrym. Kwasica miała charakter mieszany a jej wyrazem było zachowanie się pCO_2 , odpowiedzialnego za jej oddechową komponentę.



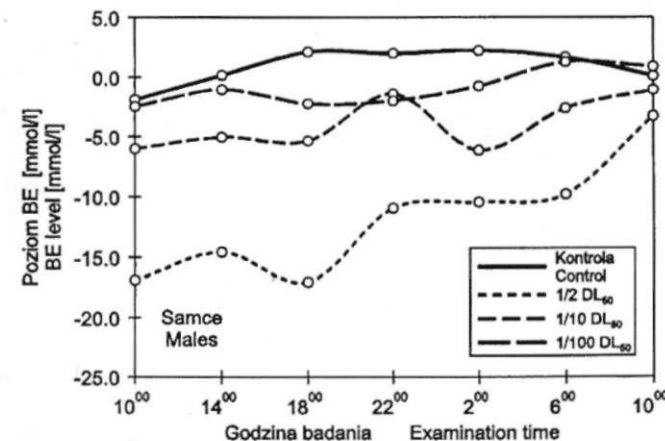
Ryc. 1. Stężenia $[H^+]$ we krwi szczurów po jednorazowym podaniu glikolu etylenowego.

Fig. 1. Concentrations of $[H^+]$ in blood of rats after one dose of ethylene glycol.



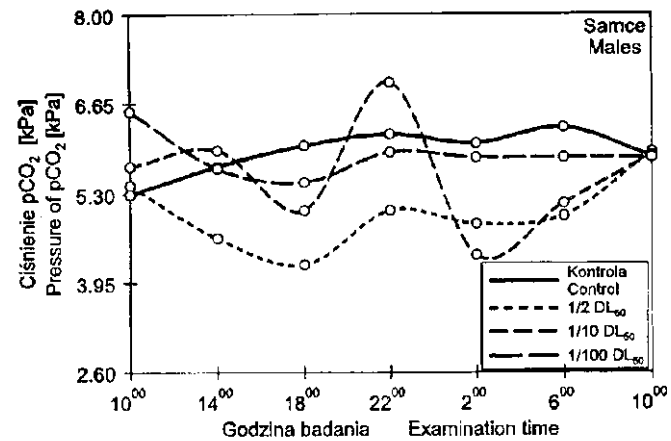
Ryc. 2. Stężenia $[HCO_3^-]$ we krwi szczurów po jednorazowym podaniu glikolu etylenowego.

Fig. 2. Concentrations of $[HCO_3^-]$ in blood of rats after one dose of ethylene glycol.



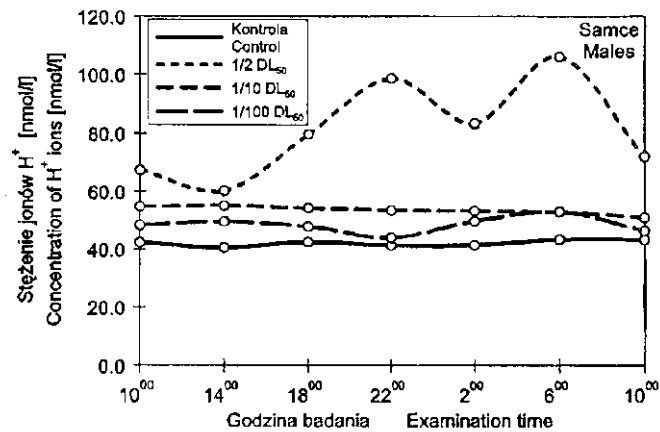
Ryc. 3. Poziom BE we krwi szczurów po jednorazowym podaniu glikolu etylenowego.

Fig. 3. BE Level in blood of rats after one dose of ethylene glycol.



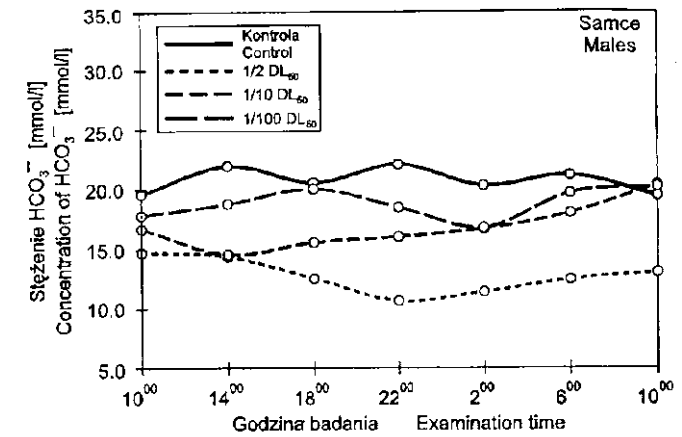
Ryc. 4. Ciśnienie pCO₂ we krwi szczurów po jednorazowym podaniu glikolu etylenowego.

Fig. 4. Pressures of pCO₂ in blood of rats after one dose of ethylene glycol.



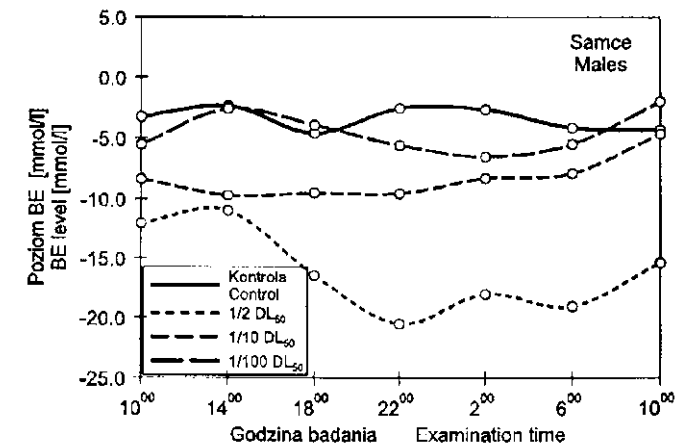
Ryc. 5. Stężenia [H⁺] we krwi szczurów po 28-dniowym podawaniu glikolu etylenowego.

Fig. 5. Concentrations of [H⁺] in blood of rats after 28 days of ethylene glycol administration.



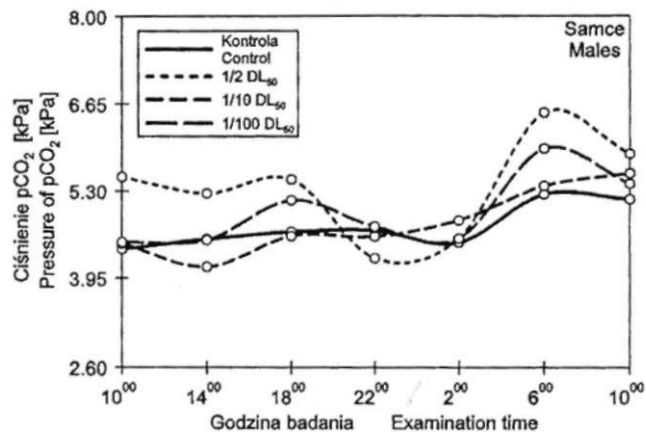
Ryc. 6. Stężenia [HCO₃⁻] we krwi szczurów po 28-dniowym podawaniu glikolu etylenowego.

Fig. 6. Concentrations of [HCO₃⁻] in blood of rats after 28 days of ethylene glycol administration.



Ryc. 7. Poziom BE we krwi szczurów po 28-dniowym podawaniu glikolu etylenowego.

Fig. 7. BE Level in blood of rats after 28 days of ethylene glycol administration.



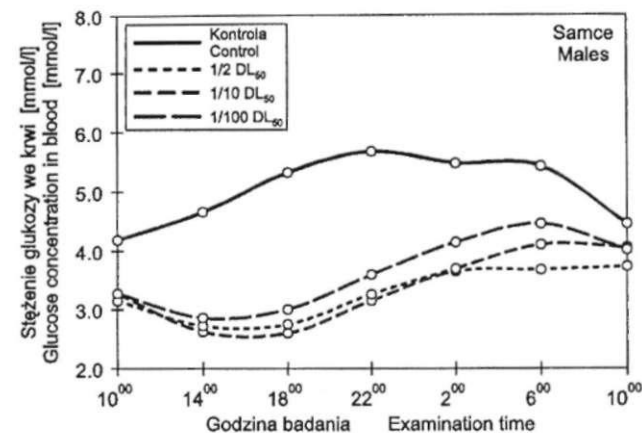
Ryc. 8. Ciśnienie pCO₂ we krwi szczurów po 28-dniowym podawaniu glikolu etylenowego.

Fig. 8. Pressures of pCO₂ in blood of rats after 28 days of ethylene glycol administration.

Do nielicznych należą informacje o kształtowaniu się glikemii w przebiegu zatrucia glikolem etylenowym. Z uwagi na zmiany metaboliczne w kwasicy (9) teoretyczne rozważania wskazują na występowanie w zatruciu glikolem etylenowym hiperglikemii. Uzyskana krzywa glikemiczna dla szczurów w doświadczeniu ostrym wskazuje na występowanie hipoglikemii (rycina 9). W doświadczeniu podostrym, w pierwszej fazie badań, obserwowano hiperglikemię a w końcowej hipoglikemię (rycina 12). Obserwowana hipoglikemia może być wynikiem odstawienia pokarmu na 12 godzin przed podaniem glikolu, brakiem dostępu do niego w trakcie realizowania badań i wyczerpania się rezerwy glikogenu.

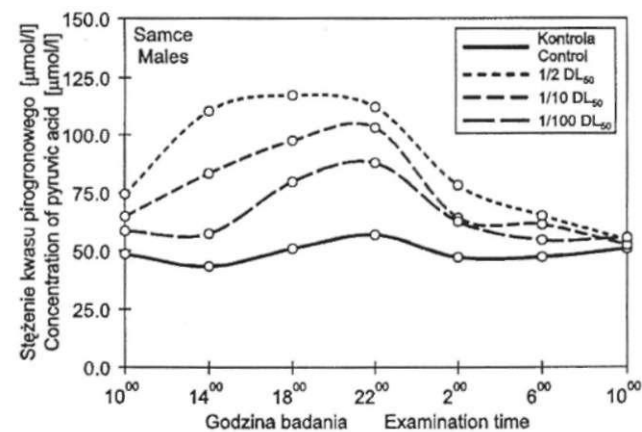
Oznaczone stężenia kwasu pirogronowego (ryciny 10, 13) i mlekowego (ryciny 11, 14) we krwi szczurów w przebiegu obu doświadczeń, potwierdzają ich udział w kwasicy (9). W doświadczeniu ostrym - w drugiej fazie, stężenie mleczanów było znacznie wyższe w porównaniu z oznaczonym w grupie kontrolnej. Natomiast w pierwszej fazie obserwowany był wzrost kwasu pirogronowego co może wskazywać na hamowanie syntezy glukozy.

Podjęta próba wykazania korelacji pomiędzy stężeniem jonów wodorowych a stężeniem kwasu glikolowego w tkankach, z uwagi na liczbę danych, możliwa była w 30 przypadkach: w 14 w doświadczeniu ostrym i w 16 w doświadczeniu podostrym, po dawce glikolu 1/2 i 1/10 DL₅₀. Wszystkie korelacje były dodatnie, jakkolwiek nie wszystkie istotne. Oznacza to, że ze wzrostem stężenia kwasu glikolowego w danym narządzie rośnie stężenie jonów wodorowych we krwi (3, 8).



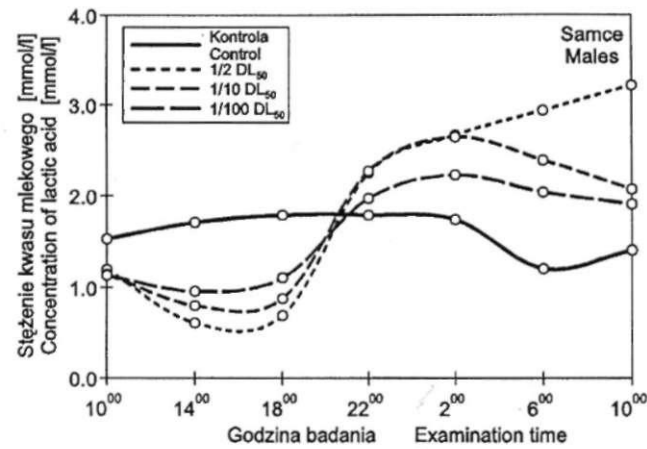
Ryc. 9. Stężenia glukozy we krwi szczurów po jednorazowym podaniu glikolu etylenowego.

Fig. 9. Glucose concentrations in blood of rats after one dose of ethylene glycol.



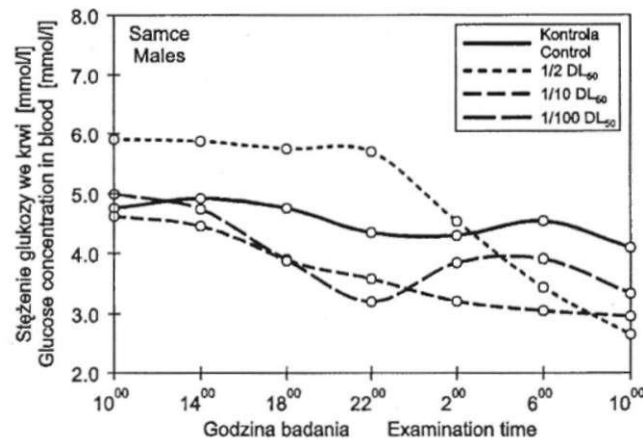
Ryc. 10. Stężenia kwasu pirogronowego we krwi szczurów po jednorazowym podaniu glikolu etylenowego.

Fig. 10. Concentrations of pyruvic acid in blood of rats after one dose of ethylene glycol.



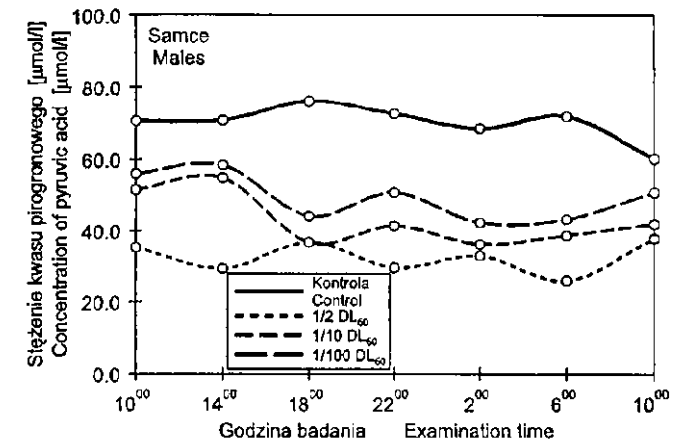
Ryc. 11. Stężenia kwasu mlekowego we krwi szczurów po jednorazowym podaniu glikolu etylenowego.

Fig. 11. Concentrations of lactic acid in blood of rats after one dose of ethylene glycol.



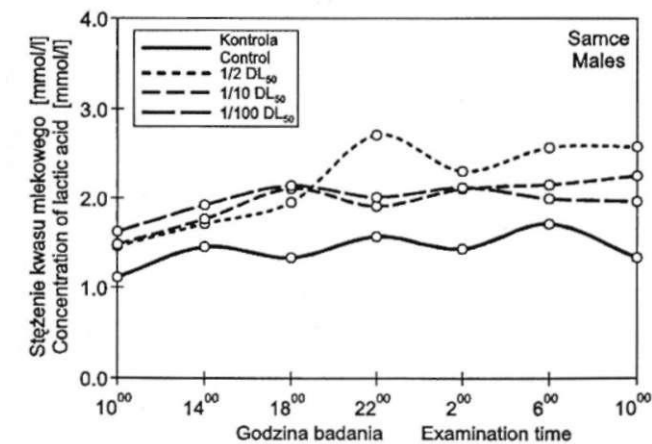
Ryc. 12. Stężenia glukozy we krwi szczurów po 28-dniowym podawaniu glikolu etylenowego.

Fig. 12. Glucose concentrations in blood of rats after 28 days of ethylene glycol administration.



Ryc. 13. Stężenia kwasu pirogronowego we krwi szczurów po 28-dniowym podawaniu glikolu etylenowego.

Fig. 13. Concentrations of pyruvic acid in blood of rats after 28 days of ethylene glycol administration.



Ryc. 14. Stężenia kwasu mlekowego we krwi szczurów po 28-dniowym podawaniu glikolu etylenowego.

Fig. 14. Concentrations of lactic acid in blood of rats after 28 days of ethylene glycol administration.

WNIOSKI

1. W badaniach biochemicznych krwi: równowaga kwasowo zasadowa, poziom kwasu mlekowego i pirogronowego, stwierdzono wyraźne różnice pomiędzy zwierzętami grupy kontrolnej a zwierzętami zatrutymi glikolem etylenowym. Obserwowana kwasica utrzymywała się do zakończenia doświadczeń. Potwierdzono udział w kwasicy kwasu mlekowego i pirogronowego. Narastające zaburzenia oddechu, prezentowane wzrostem pCO_2 , przemawiają za kwasicą o charakterze mieszanym.

2. Glikemia (hipo- hiperglikemia) w doświadczalnym zatruciu glikolem etylenowym była zależna od wielkości podanej dawki oraz od rodzaju zatrucia (ostre, podostre).

3. Korelacja pomiędzy stężeniem jonów wodorowych a stężeniem kwasu glikolowego w badanym materiale była mało wyraźna ze względu na niewielką liczbę wspólnych punktów pomiarowych (równoległe oznaczone stężenia kwasu glikolowego i stężenie jonów wodorowych). Stwierdzano ją głównie dla tkanki mózgowej. Zagadnienie to wymaga szerszego opracowania.

PIŚMIENNICTWO.

I. Bogdanik T.: Toksykologia kliniczna. Warszawa, PZWL, 1988, 461-465. -
2. Broering-Ramey B.: Acute ethylene glycol poisoning. J. Emerg. Nurs., 1993, 19 (2), 86-88. -3. Clay K. L., Murphy R. C.: On the metabolic acidosis of ethylene glycol intoxication. Toxicol. Appl. Pharmacol., 1977, 39, 39-49. -4. Collins J. M., Hennes D. M., Holzgang C. R., Gourley R. T., Porter G. A.: Recovery after prolonged oliguria due to ethylene glycol intoxication. Arch. Intern. Med., 1970, 125, 1059-1062. -5. Gabow P. A., Clay K., Sullivan J. B., Lepoff R.: Organic acids and ethylene glycol intoxication. Ann. Intern. Med., 1986, 105, 16-20. -6. Gosselin R. E., Smith R. P., Hodge H. C.: Clinical toxicology of commercial products. Williams and Wilkins Co., Baltimore, London, 1984, ed. 4. -7. Haddad L., Winchester J. F.: Clinical management of poisoning and overdose. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1983. -8. Jacobsen D., Overbo S., Ostborg J., Sejersted O. M.: Glycolate causes the acidosis in ethylene glycol poisoning and is effectively removed by hemodialysis. Acta Med. Scand., 1984, 216, 409-416. -9. Kokot F.: Gospodarka wodno-elektrolitowa i kwasowo- zasadowa w stanach fizjologii i patologii. Warszawa, PZWL, 1988, 213-242. -10. Levy R.: Renal failure secondary of ethylene glycol intoxication. JAMA, 1960, 193, 1210.

II. Litovitz T.: The alcohols: ethanol, methanol, isopropanol, ethylene glycol. Pediatr. Clin. North Amer., 1986, 33, 311-323. -12. Mądro R., Gašior M.: Ostre zatrucia glikolem etylenowym. Arch. Med. Sąd. Krym., 1981, 2, 125. -13. Moriarty R. W., McDonald R. H.: The spectrum of ethylene glycol poisoning. Clin Toxicol., 1974, 7, 538-596. -14. Mundy R. L., Hall L. M., Teague R. S.: Pyrazole as an antidote for ethylene glycol poisoning. Toxicol. Appl. Pharmacol., 1974, 28, 320-322. -15. Oliva P. B.: Lactic acidosis. Am. J. Med., 1970, 48, 209-213. -16. Pach

J., Wiernikowski A.: Klinika ostrych zatruc. Akademia Medyczna w Krakowie. Kraków, 1989, 232-235. -17. Parry M. F., Wallach R.: Ethylene glycol poisoning. Am. J. Med., 1974, 57, 143-150. -18. Rawat A. K.: Effects of ethanol infusion on the redox state and metabolite levels in rat liver in vivo. Eur. J. Biochem., 1968, 6, 585-592. -19. Woolf A. D., Wynshaw-Boris A., Rinaldo P., Levy H. L.: Intentional infantile ethylene glycol poisoning presenting as an inherited metabolic disorder. J. Pediatr., 1992, 120 (3), 421-424. -20. Woolf A. D., Wynshaw-Boris A., Rinaldo P.: Ethylene glycol, glycolic acid and metabolic acidosis of unknown origin. Clin. Chem., 1993, 39, 1753-1754.

Adres autora:

Katedra Medycyny Sądowej Śląskiej AM
ul. Medyków 18
40-752 Katowice