

*Originalarbeiten – Original Papers*

## **Beitrag zur kausalen und formalen Pathogenese tödlicher Paraquatvergiftungen\***

L. Neoral, J. Dusek und B. Smysl

Landesabteilung für Gerichtliche Medizin des Fakultätskrankenhauses und Institut für Pathologische Anatomie der Universität Olomouc, Dr. S. Allende 3, CS-77509 Olomouc, Tschechoslowakei

### **A Contribution to the Pathogenesis of Letal Paraquat Poisoning**

**Summary.** Case reports of severe lung damage in patients treated with oxygen following paraquat poisoning lead the authors to design an experiment, in which the contributory role of oxygen was tested. It was shown on rats that administration of oxygen in paraquat – intoxicated rats causes, already in the LD<sub>50</sub>/20 dosage of paraquat, death in all experimental animals during the first 24 hours. Light and electron microscopic examination revealed edema, desquamation of alveolar epithelium with cell destruction of typ I and Typ II pneumocytes and total denudation of the alveolar basement membrane. Alveolar macrophages participated in the removal of the cellular debris. The toxic substance itself was not detectable in the blood of the rats 24 hours or later after the oral application.

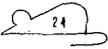
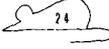
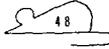
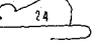
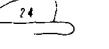
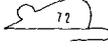
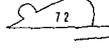
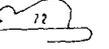
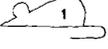
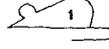
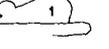
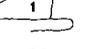
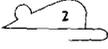
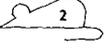
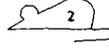
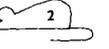
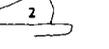
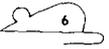
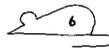
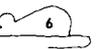
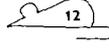
**Zusammenfassung.** Die durch Paraquat (dimethyl – dipyridilium) verursachten tödlichen peroralen Vergiftungen sind bei längerer Überlebenszeit durch eigenartigen Pneumotropismus mit schweren, den Tod verursachenden Lungenveränderungen gekennzeichnet. Sie waren außerordentlich schwer bei einem Vergifteten, der mit Hyperbaroxie behandelt wurde. Zur Klärung der Rolle des Sauerstoffs in Alveolarluft wurde ein Experiment an Ratten durchgeführt. In drei Versuchsgruppen wurde Paraquat (PQ) per os in LD<sub>50</sub>/20 verabreicht und die Ratten wurden nach verschiedenen Zeitintervallen in einem sauerstoffreichen Raum exponiert. Die Kontrollen erhielten bloß PQ oder O<sub>2</sub> unter gleichen Bedingungen – ohne Vergiftungserscheinungen oder pathologische Befunde im Lungengewebe nachzuweisen. Alle Versuchstiere der Gruppe, die unmittelbar nach PQ Verabreichung Luft mit 88–93 % O<sub>2</sub> Gehalt einatmeten, gingen in 16–24 Std. ein. Die elektronenoptischen Veränderungen des Lungengewebes wurden beschrieben. Die Schädigung betrifft besonders Pneumonozyten beider Typen in der Alveolarwand. Einatmung hoch sauerstoffreicher Luft vervielfacht die Toxizität und Letalität des Paraquats.

**Key words.** Paraquat, kausale und formale Pathogenese der Vergiftung – Vergiftungen, Paraquat

---

\* Herrn Doz. Dr. Dr. Lubomír Neoral zum 50. Geburtstag gewidmet

Tabelle 1

Kontrolle			Versuch		
a	b	c	A	B	C
	O <sub>2</sub>	PQ*	PQ*	PQ*	PQ*
					
					
					
					
					
					
					
			* LD <sub>50</sub> /20		

Der eigenartige Pneumonotropismus des Paraquats (dimethyldipyridilium; Gramoxone ICI) mit schwerer Schädigung des Lungengewebes bei peroralen Paraquatvergiftungen ist wohl bekannt. Doch möchten wir gern auf die besonders schwere Lungenschädigung, die nekroptisch bei einem mit Hyperbaroxie behandelten Vergifteten aufgefunden wurde, hinweisen. Dies wurde bereits von uns publiziert (Neoral et al. 1973). Eine ähnliche Beobachtung stammt von Copland, Kolin u. Shulman (1974). Befunde von solcher Art gaben dann den Anlaß zu folgenden Experimenten, welche die Rolle des Sauerstoffs in Patho- u. Thanatogenese dieser Vergiftung näher klären sollten.

## Material und Methode

73 weiße Wistar-Ratten wurden in 6 Gruppen geteilt. Davon 42 in 3 Versuchsgruppen von je 14 Tieren und 31 in 3 Kontrollgruppen mit 14, 14 u. 3 Tieren.

Den Versuchsgruppen A, B, C (Tab. 1) wurde wässrige Paraquatlösung in Dosis LD<sub>50</sub>/20, also 440 mg/kg nach Tadjer (1967), peroral verabreicht. Die Gruppe A wurde dann unmittelbar im sauerstoffreichen Raum von 88–95 % O<sub>2</sub> Gehalt exponiert. Gruppe B wurde auf dieselbe Art behandelt doch die Exposition sauerstoffreicher Atmosphäre erfolgte erst nach 24 Stunden. Gruppe C wurde, bei anders gleichen Bedingungen, erst nach 2 Wochen solchem Einfluß von O<sub>2</sub> ausgesetzt.

In den Kontrollgruppen a, b, c wurden: a) völlig normale unbehandelte 3 Ratten untersucht, b) gesunde Tiere nur einer O<sub>2</sub>-reichen Atmosphäre auf 24 Stunden ausgesetzt, c) die Tier bloß mit LD<sub>50</sub>/20 von Paraquat peroral behandelt und in Luft mit normalen O<sub>2</sub>-Gehalt gehalten.

Zur Schaffung des sauerstoffreichen Raumes wurde ein „Polyäthylenzelt“ aufgeschlagen und dies mit reinem Sauerstoff von Strömung 4–5 l/min. versorgt. Zum Messen des O<sub>2</sub>-Gehaltes wurde das Orsat-Instrument gebraucht.

Zur toxikologischen Analyse bzw. zur Paraquatbestimmung wurde defibriertes Aortenblut der Versuchstiere und das Verfahren nach Calderbank u. Yuin (1965) benutzt. Je 2 ml von Blut präzipitiert durch 20 % Trichloressigsäure, zentrifugiert und der Überstand durch eine Ionenaustauschkolonie von Katex DOWEX 50W–XI gegossen. Die Elution erfolgte durch gesättigte Lö-

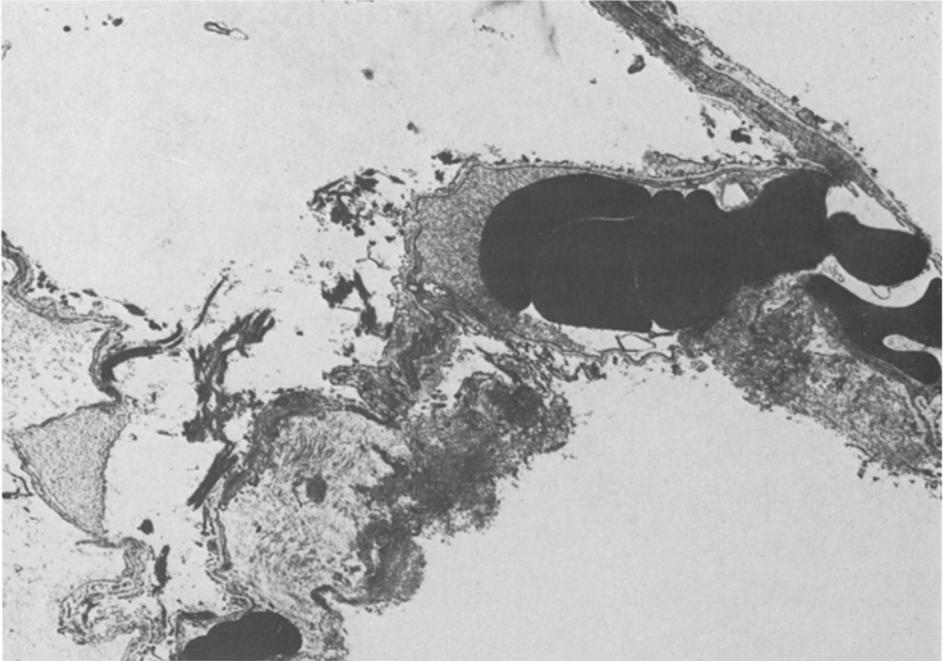


Abb. 1

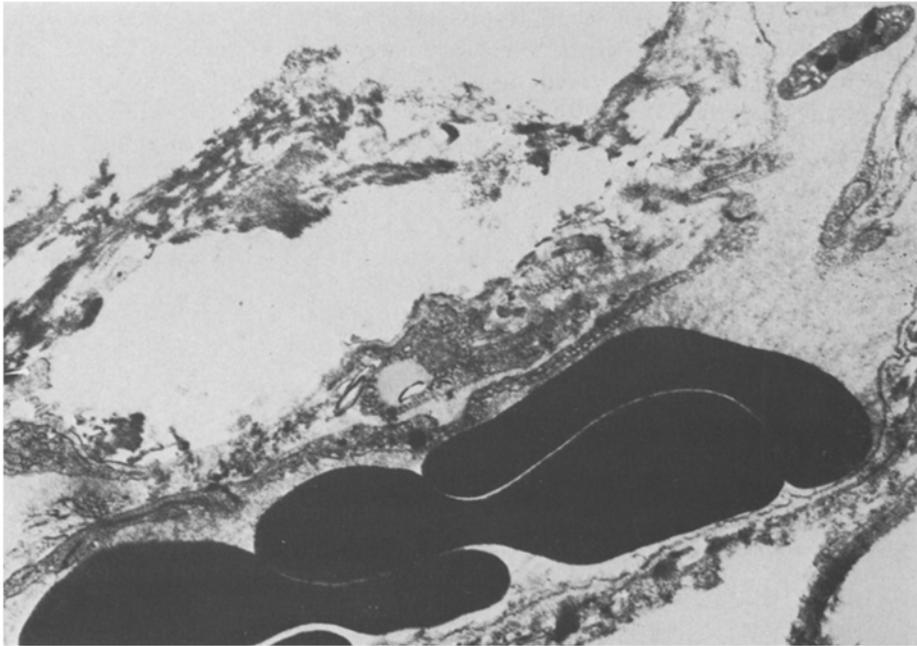


Abb. 2

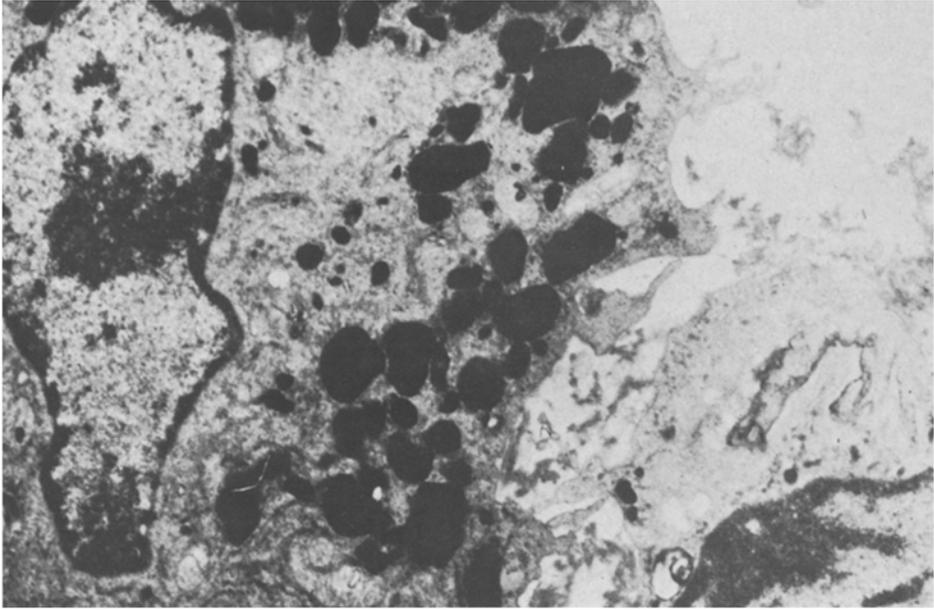


Abb. 3



Abb. 4

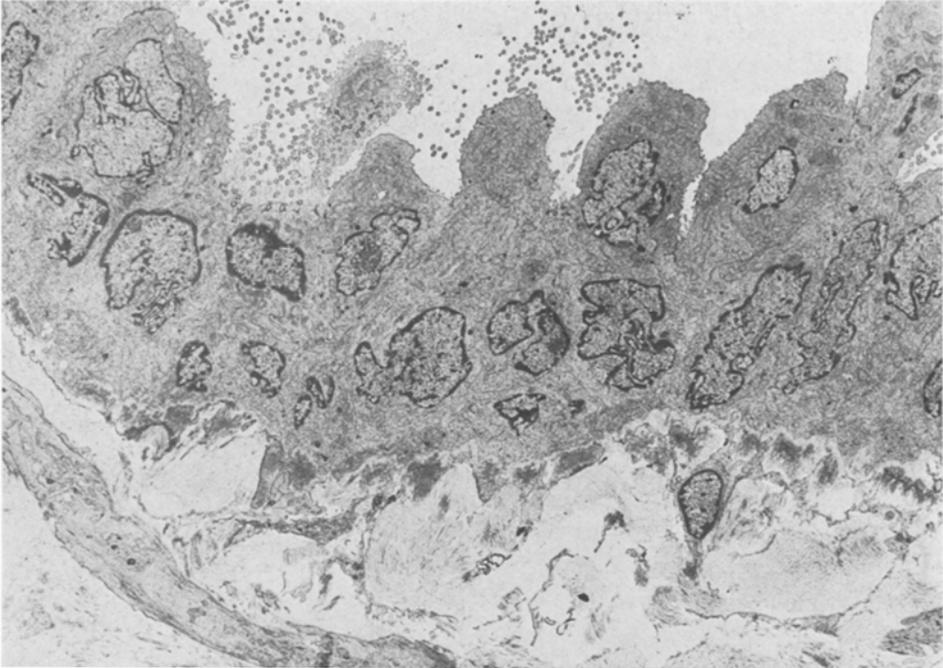


Abb. 5

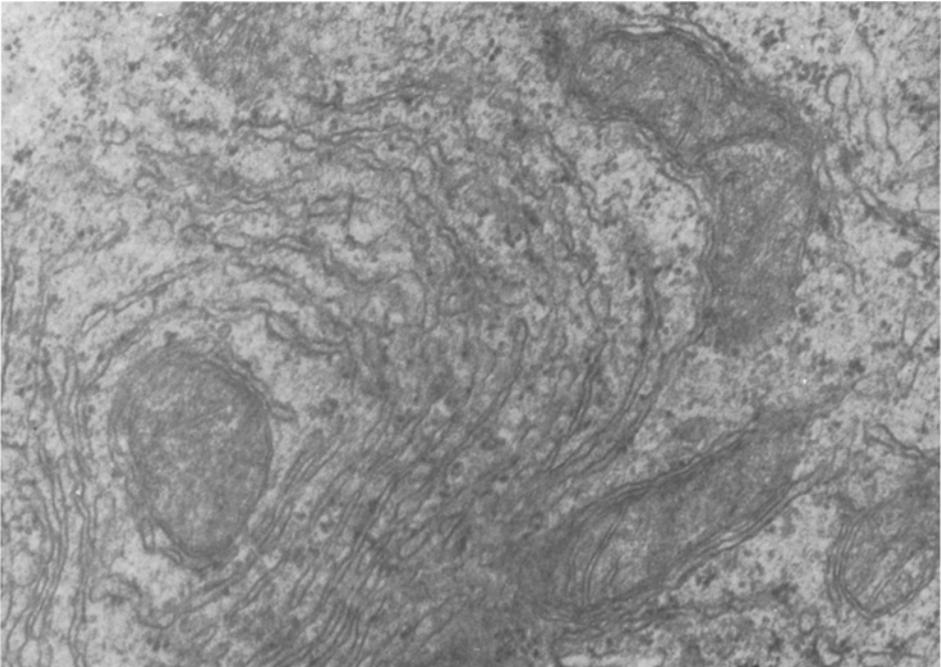


Abb. 6

sung von Ammonium chloratum. Das Eluat wurde dann durch Natrium-dithionat reduziert. Zum Teil reduziertes Paraquat gibt eine blaue Färbung und diese wurde mit maximaler Absorption in sichtbaren Band bei 600 nm gemessen.

Die Entnahme der Blutproben erfolgte in Versuchsgruppen und passender Kontrollgruppe 24 St., 48 St., 72 St., 1 Woche nach Paraquatverabreichung.

Zu elektronenoptischen Untersuchungen wurden Lungenexzisionen, nachdem die Tiere eingegangen waren oder getötet wurden, in eiskaltem Glutaraldehyd entnommen. Für histologische Zwecke wurde neutrales Formalin benutzt und die übliche Paraffineinbettung und Färbung mit Hämatoxilin-Eosin. Gitterfasern nach GÖMÖRY, Trichromfärbung nach MASSON angewendet.

## Ergebnisse

Die Ergebnisse bestätigten die Voraussetzungen in überraschendem Ausmaß. Alle 14 Versuchstiere der Gruppe A gingen im sauerstoffreichen Raum binnen 16–24 Stunden ein. Die Ratten aller anderen Gruppen überlebten das Experiment und hatten auch keine Lungengewebschädigungen, nachdem sie in Zeitintervallen von 24, 48, 72 Stunden, 1, 2 u. 6 Wochen getötet wurden, aufgewiesen.

In allen entnommenen Blutproben nach Ablauf von 24 Stunden wurde kein Paraquat mehr nachgewiesen.

Elektronenoptisch wurden in der Versuchsgruppe A im Alveolarraum der Lunge fibrilläre elektronendichte Proteinsubstanzen von Fibrin gefunden. Alveolardenudation mit fehlenden Epithelien und nackter Basalmembrane, die hie und da mit dünner Schicht von Proteinmaterial bezogen war, waren gut sichtbar. Die Endothelialsäume der Kapillaren in der Alveolarwand schienen unbeschädigt. (Abb. 1, 2). An mehreren Stellen waren dystrophierende und zugrundegehende Alveolarepithelien beider Typen sowie auch Fibrinfasern im engen Kontakt mit alveolären Histiozyten aufzufinden. Die zugrundegehenden granulären Pneumonozyten, welche vermutlich das „Surfactant Factor“ produzieren, sind durch Anwesenheit von lamellären Körperchen (lamellar bodies) gekennzeichnet. (Abb. 3, 4). An Arteriolen und an Brochiaepithelien waren keine bedeutsame Strukturveränderungen zu erkennen. (Abb. 5 u. 6).

Im üblichen histologischen Bilde stand ein schweres Lungenödem im Vordergrund.

## Besprechung

Die Ergebnisse sind im Einklang mit den von Clements u. Fisher (1970) u. Stockes u. Walker (1970) bereits geäußerten Vorstellungen über die kausale Pathogenese in dem Sinne, daß die oxydierte Form des Paraquatmoleküls durch bestimmte Nukleotide leicht durch Elektronenempfang reduzierbar ist und unter Bildung von Peroxiden reoxydiert werden kann. Dies geschieht durch molekulären O<sub>2</sub>. Es ist begreiflich, daß die Zellen, welche in direktem Kontakt mit molekulärem Sauerstoff stehen, am meisten betroffen werden. Solche Zellen „par excellence“ sind die alveolären Lungenepithelien. Ihre Schädigung wurde bereits von Vijeyratnam u. Corrin (1971) u. Robertson (1973) beschrieben. Durch diesen Mechanismus werden nicht nur die membranösen Pneumonozyten (Typ I) sondern auch die als wesentlich resistenter betrachteten granulären Pneumonozyten (Typ II) vernichtet. Besonders schwerwiegend ist die Schädigung und Nekrose der letzteren anzusehen, weil diese als Produzenten des „surfactant factors“ bezeichnet werden. Ein Mangel an diesem Faktor führt dann zum *circulus vitiosus* und kann zur toxischen Wirkung von Sauerstoff, auch noch nach Giftausscheidung aus dem Organismus, führen. (Robertson 1973).

Von dem Besprochenen sollten folgende Schlußfolgerungen gezogen werden.

1. Paraquat ist, was die Schädigung des Lungengewebes und die Letalität betrifft, unter Bedingungen der Einatmung sauerstoffreicher Luft mindestens 20 mal toxischer.
2. Die wichtigste Lungenschädigung im Anfang der Vergiftung betrifft die granulären Pneumonozyten (Typ II).
3. Die Behandlung mit Paraquat vergifteter Personen durch Hyperbaroxie ist zu vermeiden.

### Literatur

- Auwers, K., Reis, H.: Über einige neue Derivate des p-Oxybenzaldehydes, des p-Cyanophenols und der p-Oxybenzoesäure. *Chem. Ber.* **29**, 2355–2360 (1896)
- Caldebrank, A., Yuen S.: An ion-exchange method for determining paraquat residues in food crops. *Analyst.* **90**, 99 (1965)
- Clements, J., Fisher H.: The oxygen dilemma. *New Engl. J. Med.* **282**, 976–978 (1970)
- Carpenter, K., Cottrell, H.J., De Silva, W.H., Heywood, B.J., Leeds, W. G., Rivett, K.F., Soundy, M.-L.: Chemical and biological properties of two new herbicides – Ioxynil and Bromoxynil. *Weed Res.* **4**, 175–195 (1964)
- Copland, G., Kolín, A., Shulman, H.: Fatal pulmonary intraalveolar fibrosis after paraquat ingestion. *New. Engl. J. Med.* **291**, 290–292 (1974)
- Neoral, L., Kosatík, A., Smysl, B., Kubišta, P., Němcová, O.: Příspěvek k toxikologickému průkazu, patogenese a časové závislosti změn u akutní otravy Gramoxonem (paraquatem). *Soud. lék.* **18**, 1–5 u. 49–58 (1973)
- Robertson, B.: Paraquat poisoning as an experimental model of the idiopathic respiratory distress syndrome. *Bull. Physio-path. Resp.* **9**, 1433–1452 (1973)
- Stokes, D., Walker, D.: Paraquat toxicity. *Brit. med. J.* **3**, 462–463 (1970)
- Tadger, C.: The identification of paraquat in biological material using thin-layer chromatography. *J. forens. Sci.* **12**, 549–553 (1967)
- Vijeyaratnam, G., Corrin, B.: Experimental paraquat poisoning: a histological and electron and electron-optical study of the changes in the lung. *J. Path.* **103**, 123–129 (1971)

*Eingegangen am 23. September 1976*