

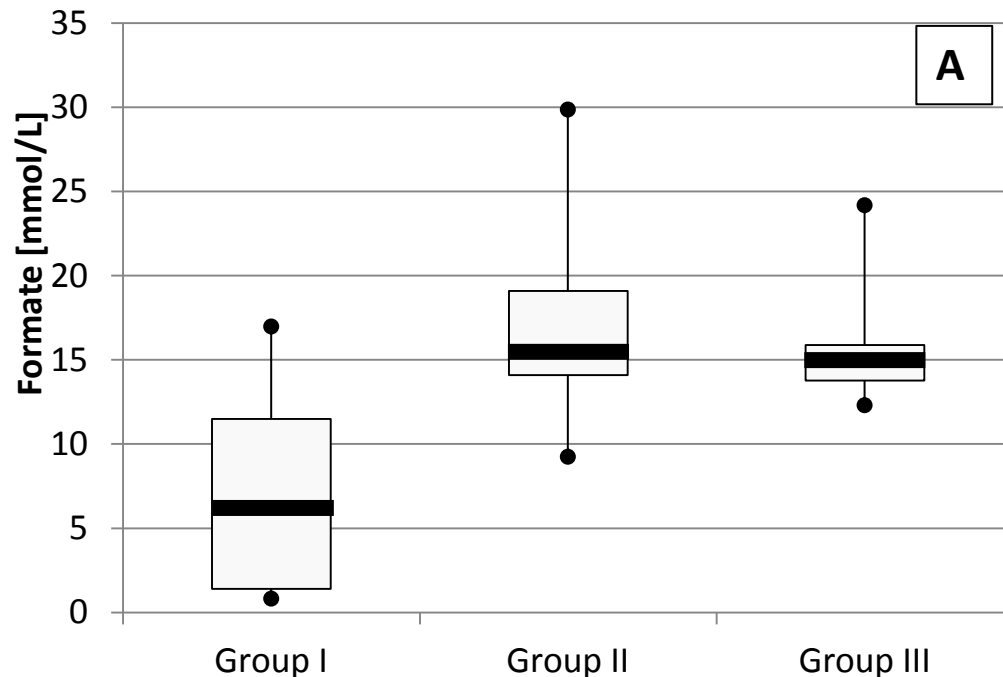
Dlouhodobé neurologické následky akutních intoxikací metanolem: prospektivní studie 2012-2014



S. Zacharov, D. Pelclová,
P. Ridzoň, M. Vaněčková,
P. Urban, P. Kačer, P. Diblík,
T. Navrátil, et al.

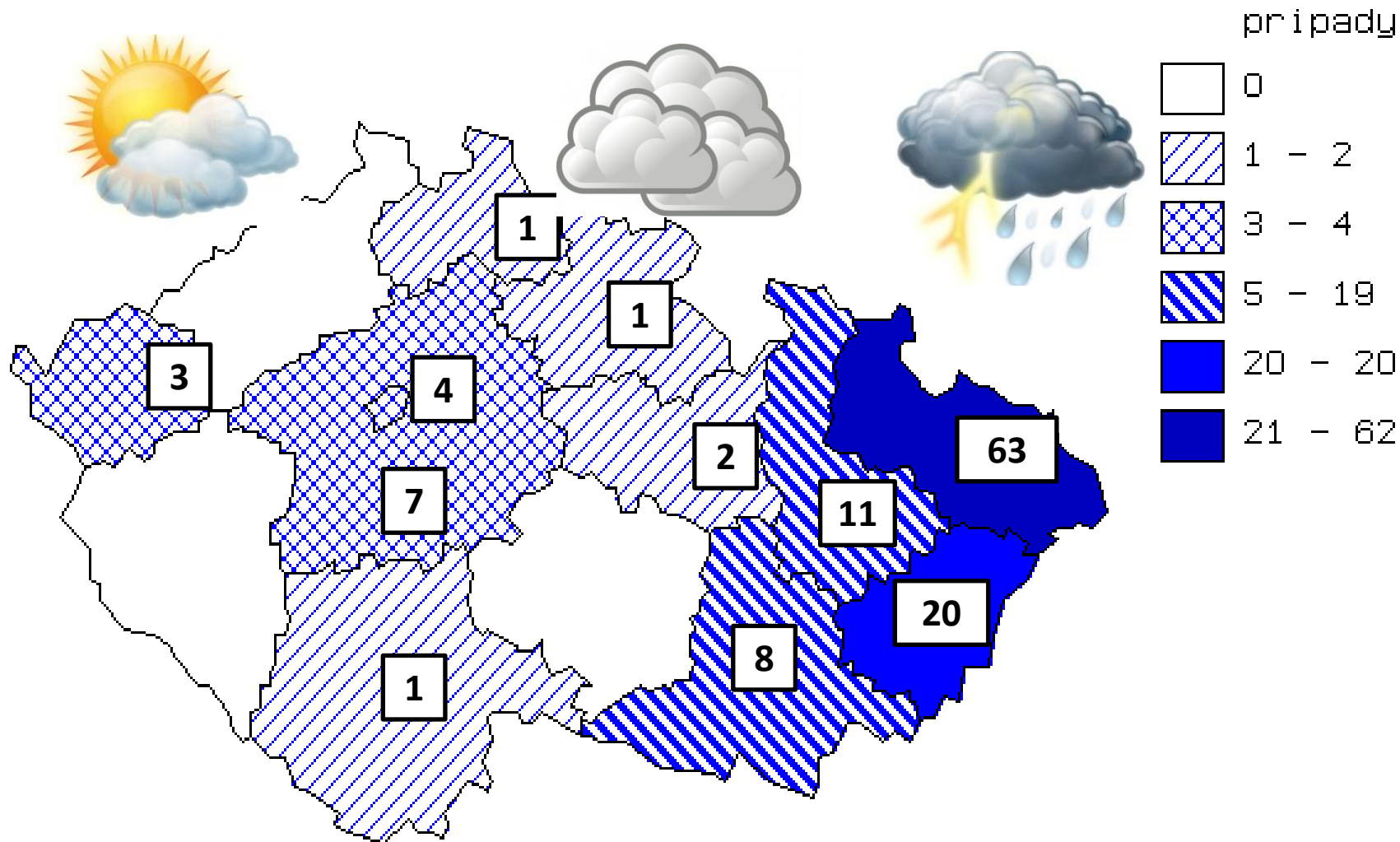
Great mystery of methanol

- velká variabilita účinků
stejných koncentrací
metanolu a kyseliny
mravenčí v krevním séru

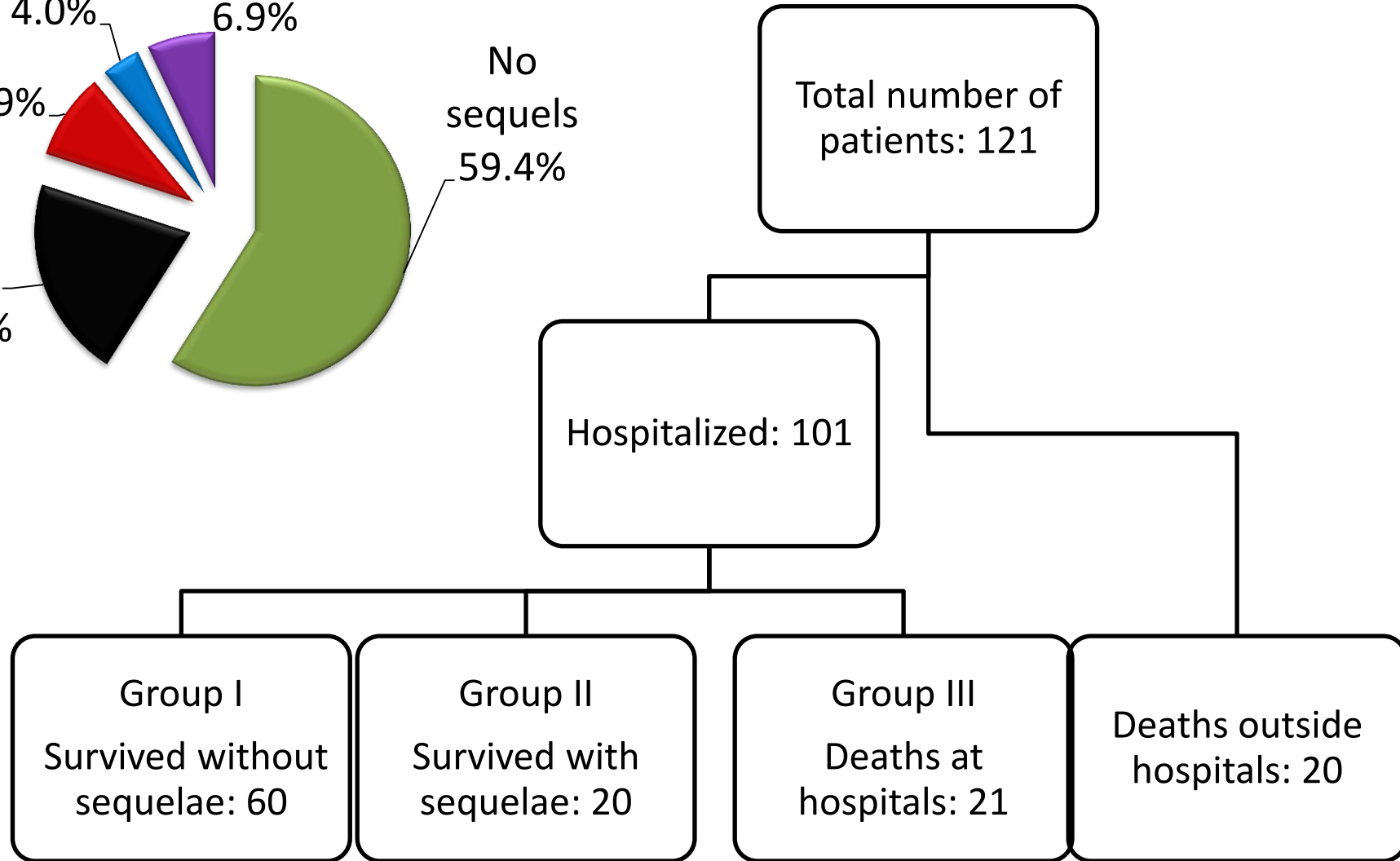
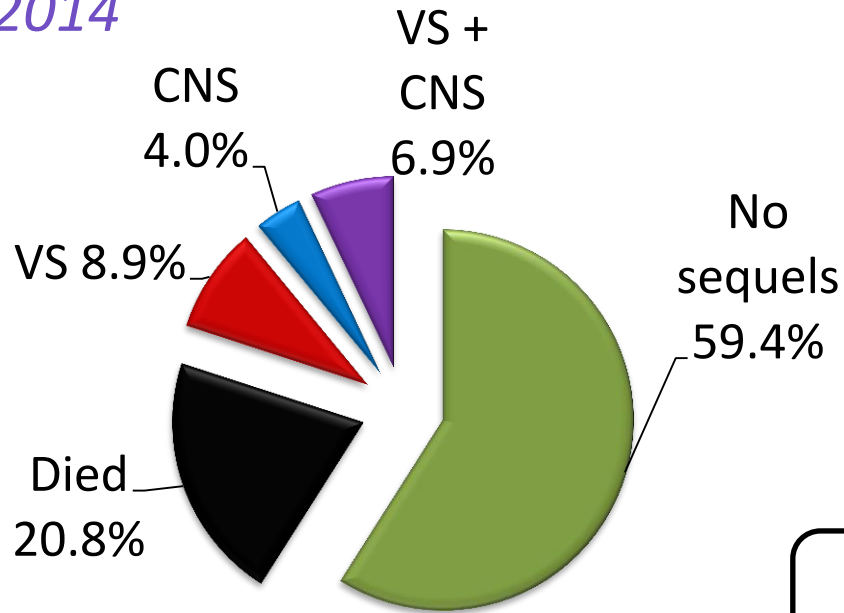


Zakharov S et al. Is the measurement of serum formate concentration is useful in the diagnostics of acute methanol poisonings? Prospective study in 38 patients // BCPT 2014

Hromadná otrava metanolem, počet případů podle krajů, stav k 1.1.2013



Ref.: Zakharov S et al. Czech Mass Methanol Outbreak 2012: Epidemiology, Challenges and Clinical Features // Clinical Toxicology 2014



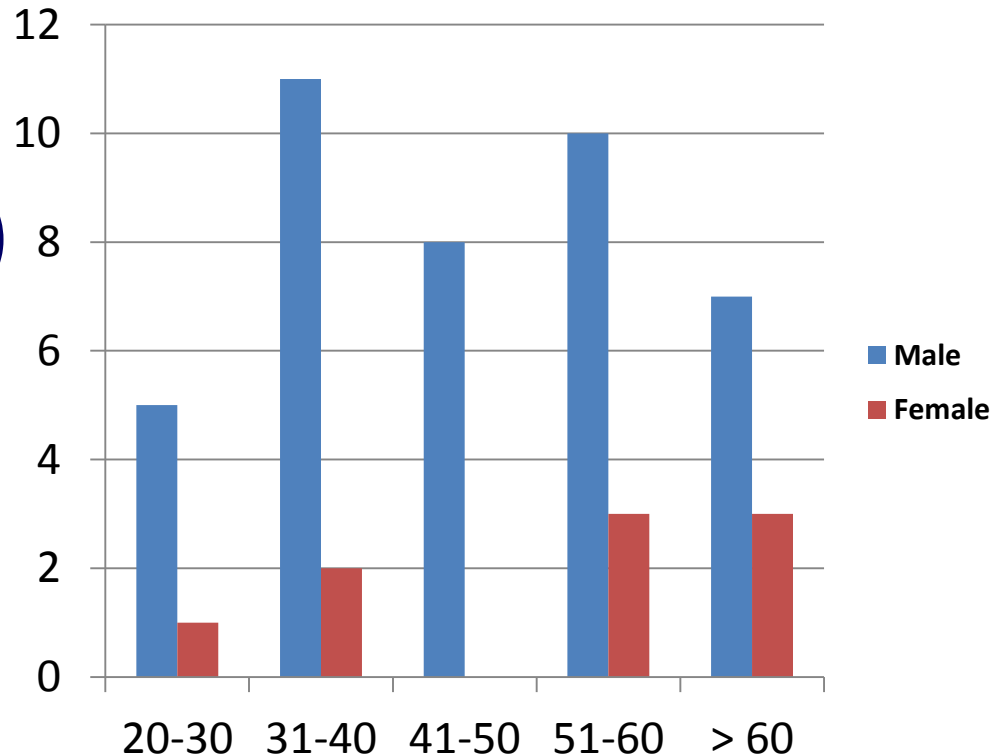
Prospektivní studie VFN a 1 LF UK, IKEM: dlouhodobé následky otrav metanolem



- Oční vyšetření, OCT, ERG, VEP
- Neurologické vyšetření, MR mozku, EMG
- Neuropsychologické/adiktologické vyšetření
- Toxikologické vyšetření (EtGlu, MethOH, Form)
- Biochemické vyšetření vč. CDT, vit. B₁, B₁₂
- Genetické vyšetření variant ADH, ALDH, MEOS - IKEM
- Vyšetření biomarkerů poškození BBB, myelinu, neuronů v akutní fázi (2015) - VŠCHT

Soubor pacientů

- 50 osob (9 žen : 41 mužů) – 63 % přeživších otravu
- Při propouštění:
 - 37 „bez následků“ (74%)
 - 13 „s následky“ (26%)
- porucha zraku – 7 (14%)
- kombinovaná porucha (zrak, CNS) - 6 (12%)



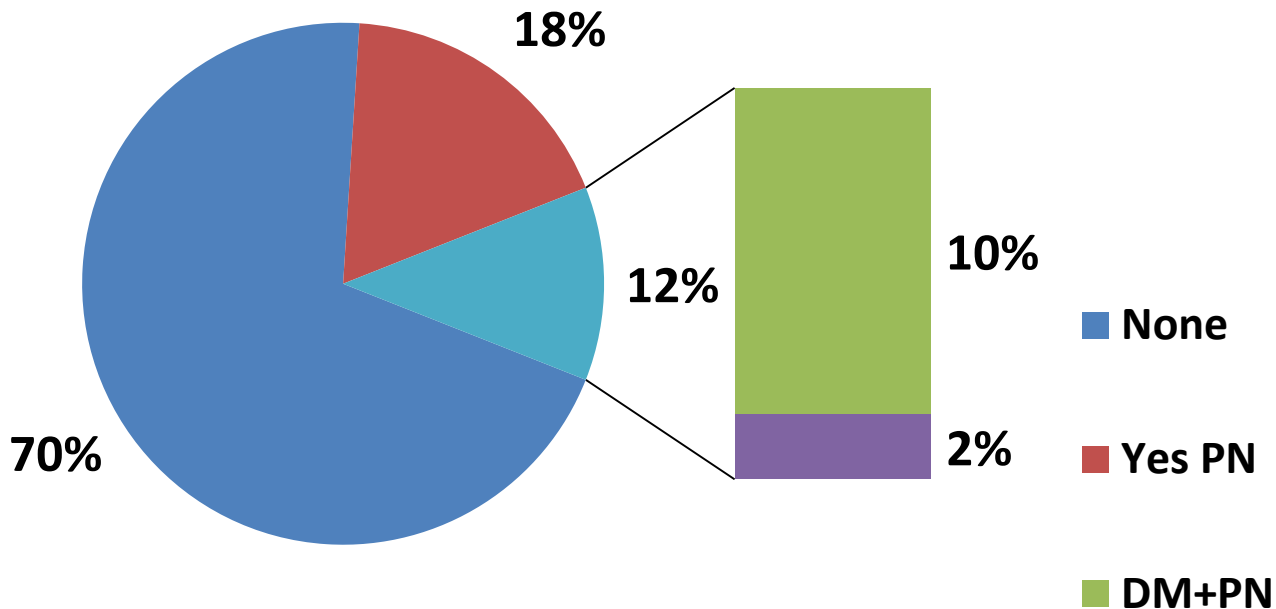
Dlouhodobé poškození nervového systému:

1. Poškození myelinového obalu – myelinoklastický účinek

kyseliny mravenčí: neuropatie nervus opticus, toxická PNP

- Rozvoj PNP po akutní intoxikaci metanolem: pouze *case reports*
- Paasma R. et al, 2007: 8/22 (36%) nových případů polyneuropatie za 6 let
- Ridzoň P et al, výsledky vyšetření 2013:

PNP ve skupině 50 pacientů 3-8 měs. po otravě



- Alkoholická NP?
- Myeloklastický účinek kyseliny mravenčí na axony PNS?
- Kombinace?..

Dlouhodobé poškození nervového systému:

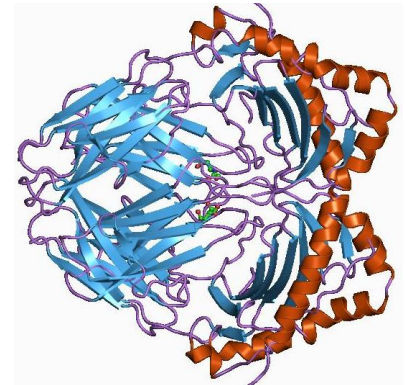
1. Poškození myelinového obalu

A. *Nervus opticus*

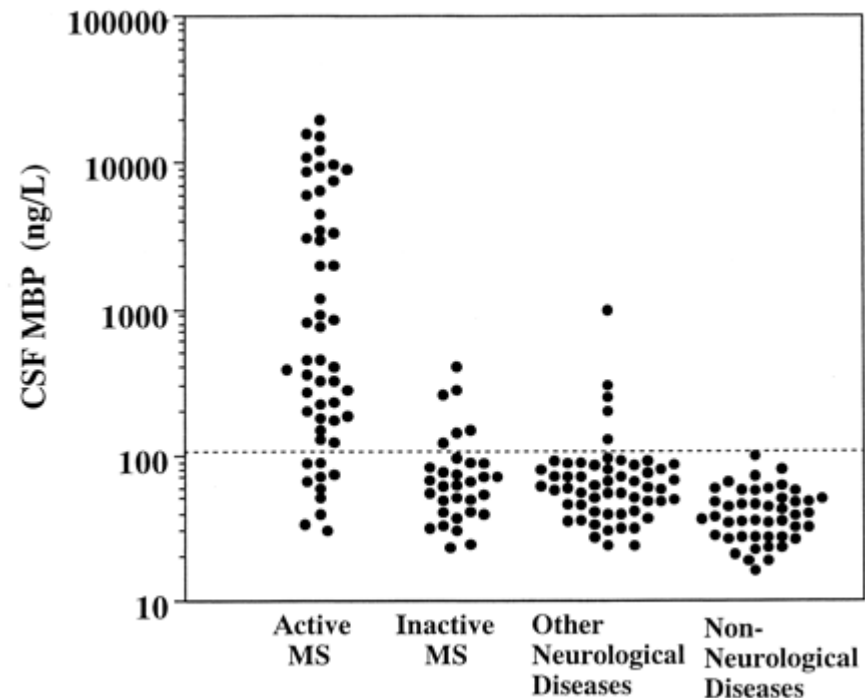
- Morfologický průkaz (MR mozku) – 2/50
- Fyziologický průkaz (VEP) – 20/50

B. *Biochemický průkaz* – Myelin Basic Protein (MBP)

- „major constituent of the myelin sheath of Schwann cells and oligodendrocytes“
- biochemický marker demyelinizace (roztroušená skleróza, PNP, ALS, aj.)

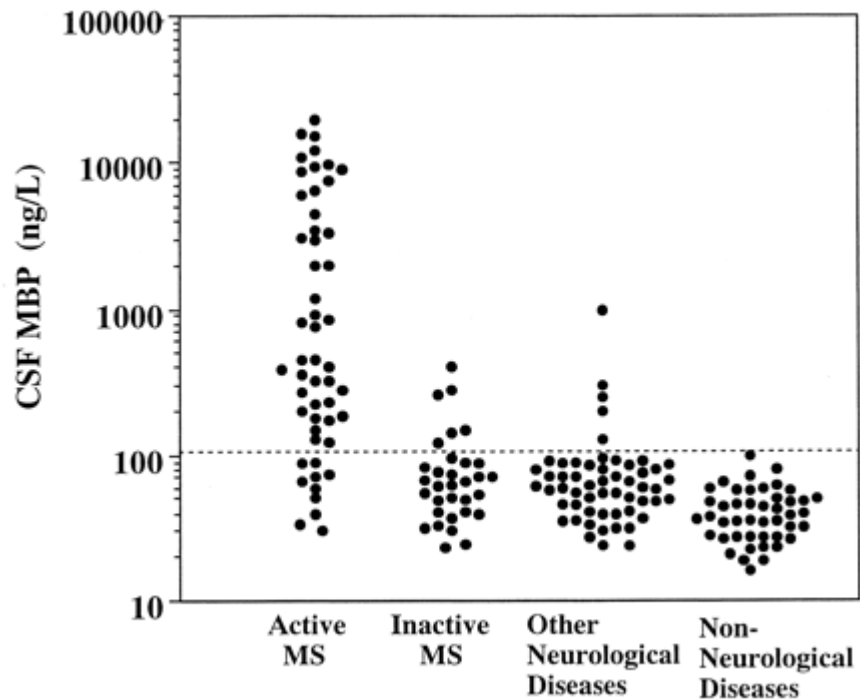
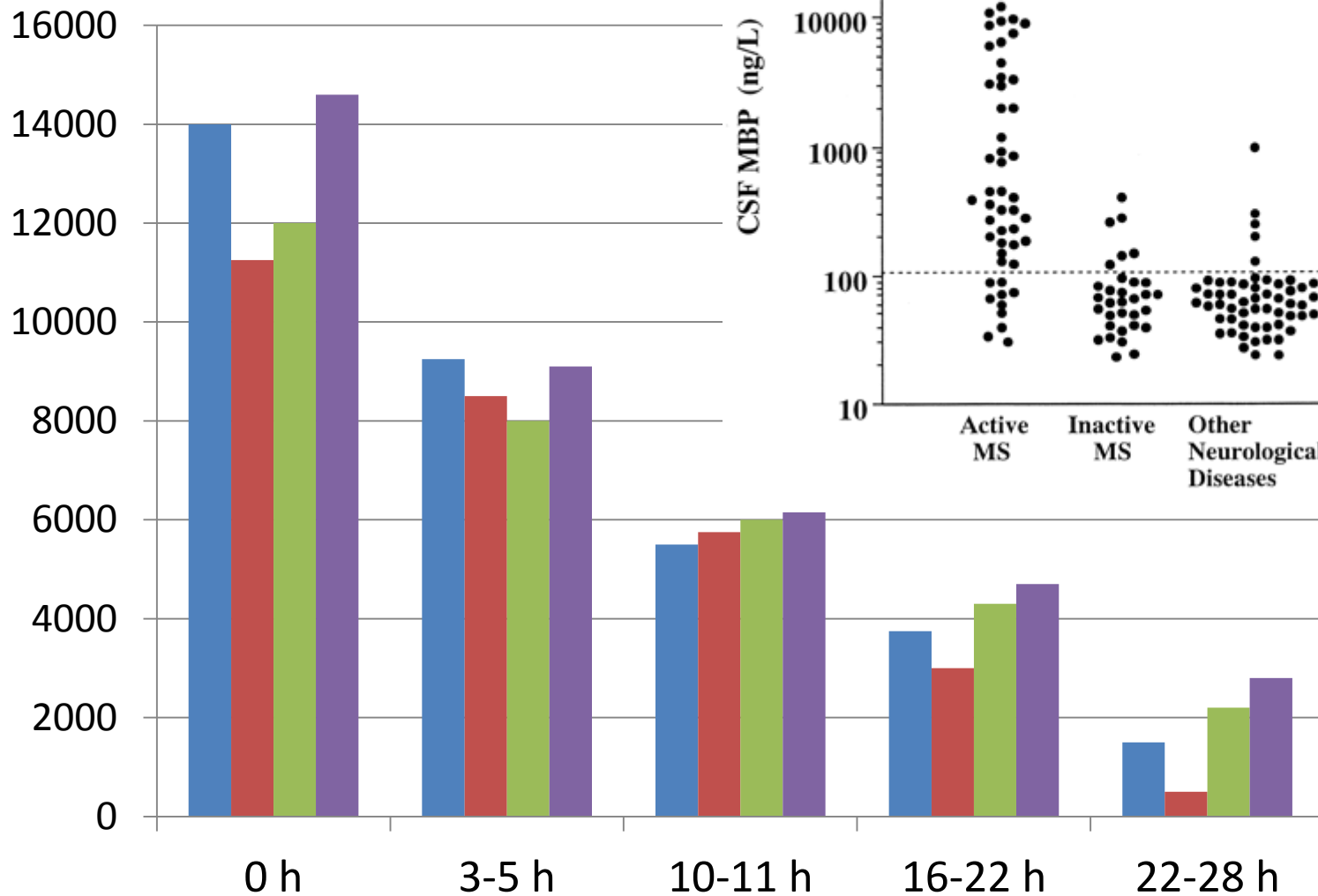


MBP in CSF (Ohta M et al, 2000)



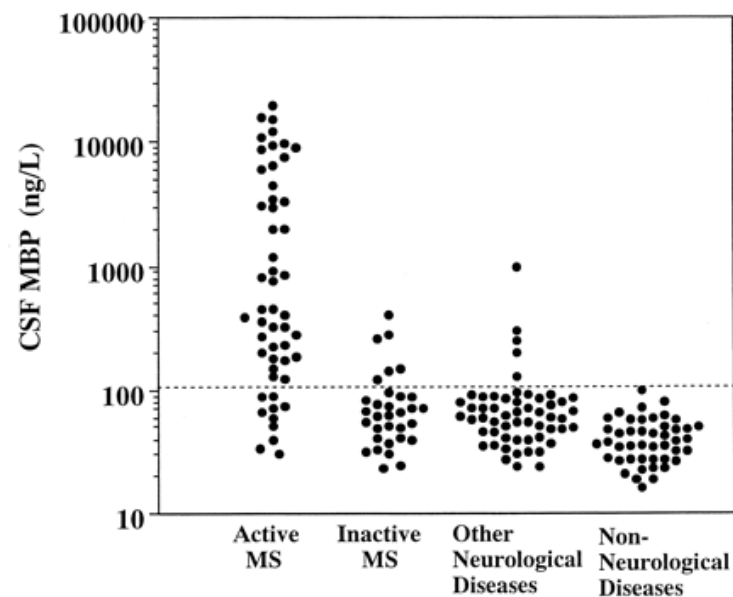
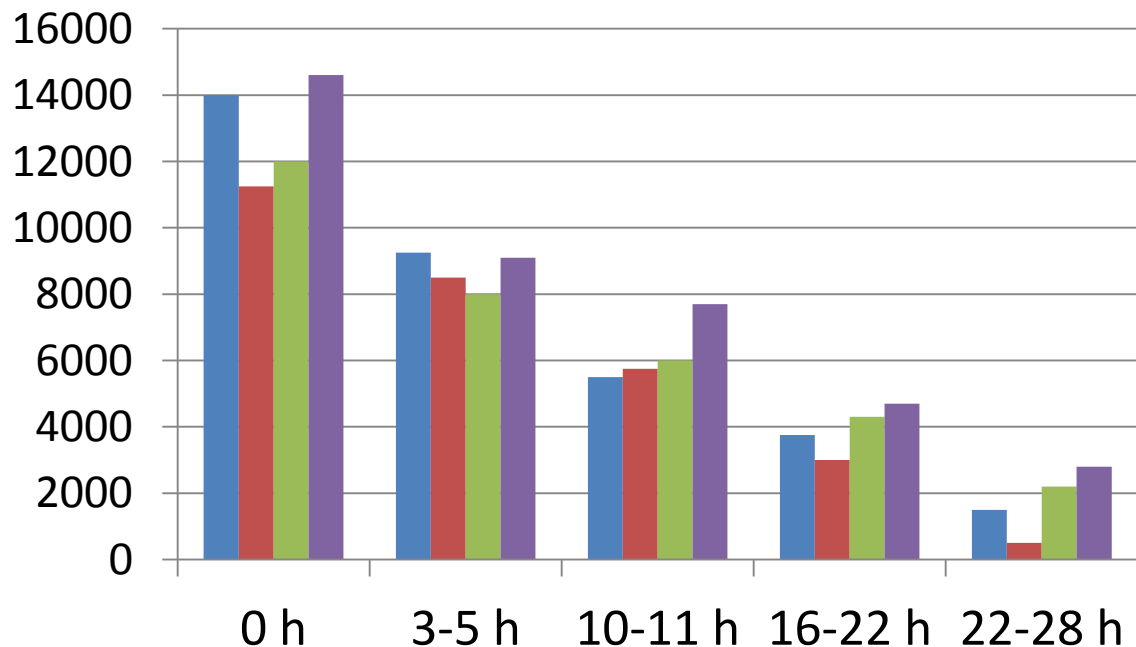
Myelin basic protein (MBP) v krevním séru v akutní fázi otravy metanolem (4 pacienti)

MBP, ng/L



Myelin basic protein (MBP) v krevním séru v akutní fázi otravy metanolem: závěry (I)

1. Koncentrace MBP v krevním séru v akutní fázi otravy je srovnatelná s koncentrací MBP v CSF u pacientů s aktivní roztroušenou sklerózou
2. Koncentrace MBP je nejvyšší při příjmu a klesá lineárně v průběhu prvních 24 hodin léčby
3. Koncentrace MBP v séru po 24 hodinách léčby je 6-7 krát nižší než při příjmu



Myelin basic protein (MBP) v krevním séru v akutní fázi otravy metanolem: závěry (II)

4. Koncentrace MBP v séru po 24 hodinách léčby zůstává 5-28 krát vyšší než dolní „pozitivní“ *reference limit* pro MBP v CSF – 102 ng/L (Ohta M et al, 2000)
5. Pattern je stejný u 4 pacientů (celkem 20 vzorků séra)
6. První biochemický důkaz myelinoklastického mechanismu poškození NS u akutních otrav metanolem
7. Další úkoly: větší počet osob/vzorků, korelace s pH, koncentrací MetOH, Formiátu, efekt „dávka-účinek“, mechanismus poškození myelinu, prognostický význam markeru (následky).
8. Možnosti extrapolace na chronické profesionální inhalační expozice metanolu?..
(Finkelstein et al., 2002)

Dlouhodobé poškození nervového systému:

2. Zvýšená propustnost hematoencefalické bariery (BBB) pro formiát

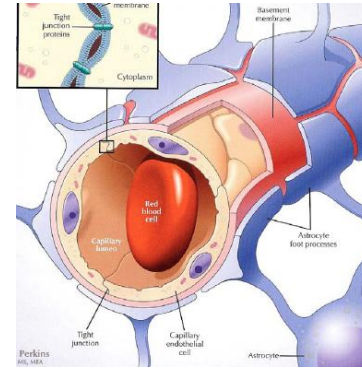
A. Zvýšením osmolality krevního séra – „osmolal opening“

(1000 mg/L MetOH: +34 mOsm/kgH₂O; 1500 mg/L EtOH: +36 mOsm/kgH₂O)

B. Poškozením astrocytů makroglie – snížení pH krve pKa Formiátu – 3,8 (slabá kyselina)

pH 7,3 → pH 7,0 = x2-krát více nedisociované kyseliny mravenčí (prochází vnitřní membránou mitochondrií) → blokáda cytochrom c oxidázy v astrocytech → buněčná hypoxie

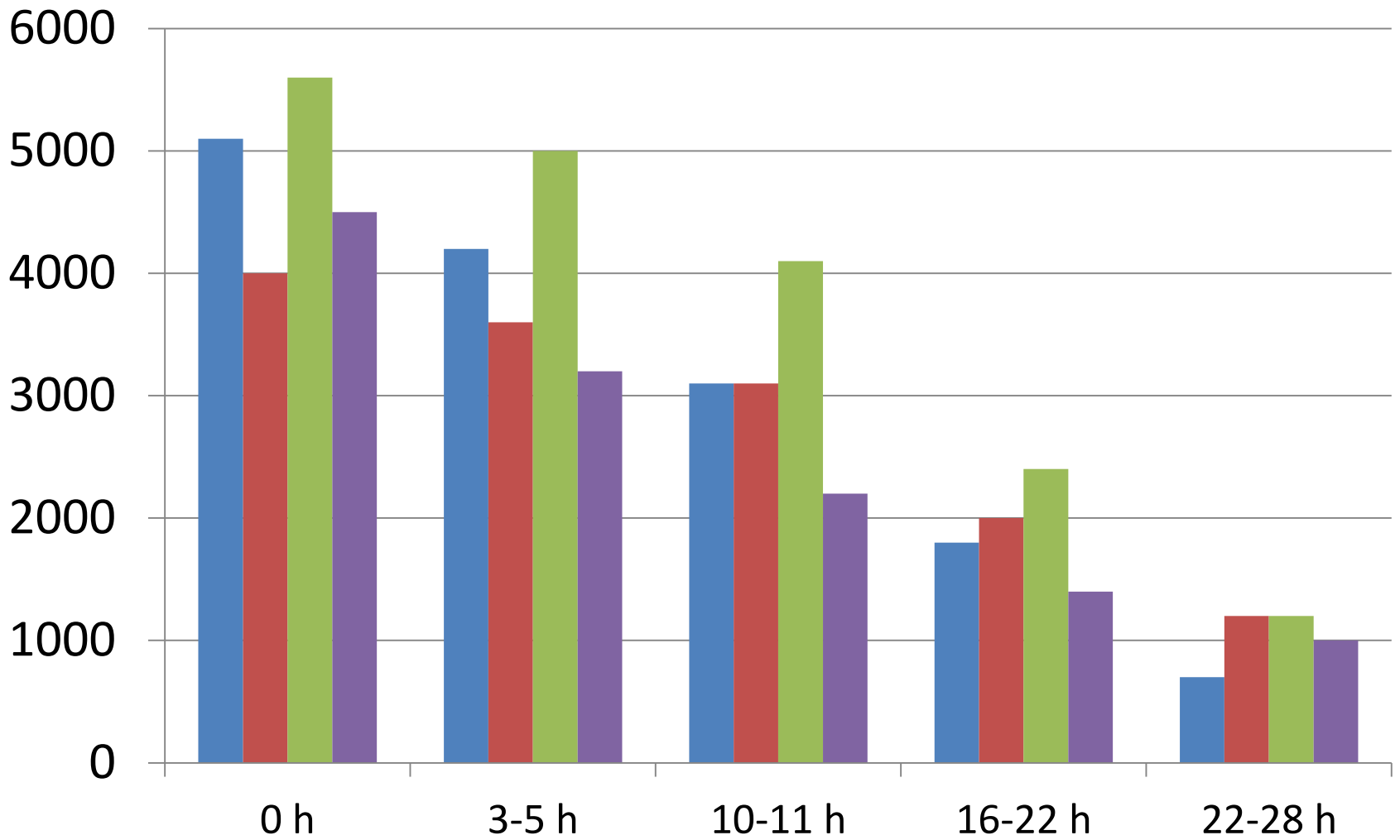
- **Hypoxie astrocytů makroglie – zvýšení produkce Protein Disulfide Isomerase (PDI) jako stresový adaptační mechanismus (S. Tanaka et al, 2000)**



Poškození astrocytů hematoencefalické bariery (BBB)

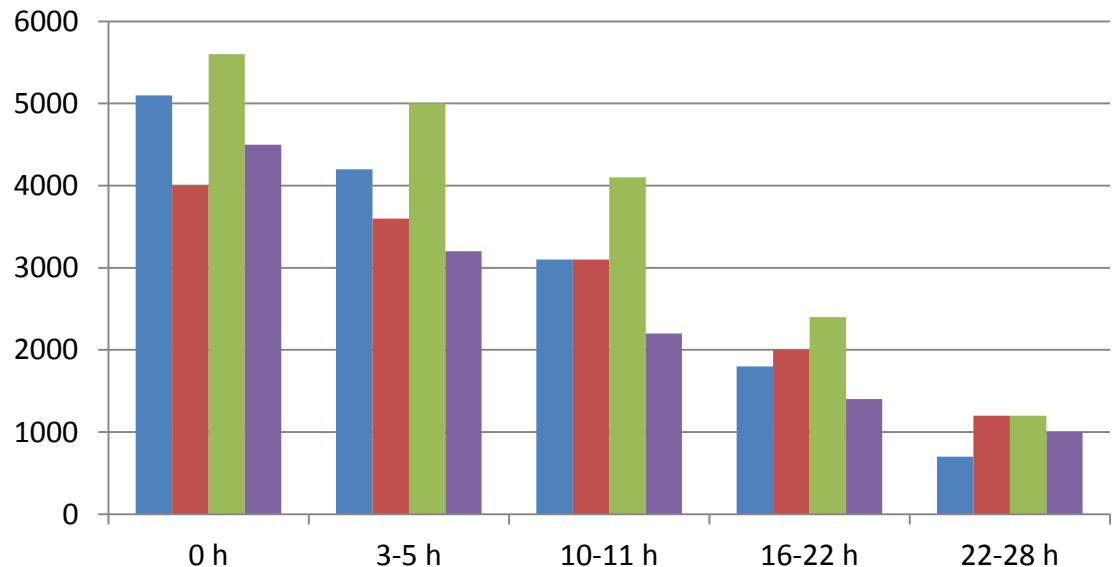
- PDI v krevním séru pacientů v akutní fázi otravy metanolem

ng/L



Poškození astrocytů hematoencefalické bariery (BBB): závěry (I)

1. Koncentrace PDI v krevním séru v akutní fázi je nejvyšší při příjmu a klesá lineárně v průběhu prvních 24 hodin léčby
2. Koncentrace PDI v séru po 24 hodinách léčby je 4-5 krát nižší než při příjmu
3. Vyšší koncentrace PDI v séru mohou svědčit o selhání adaptačních mechanismů v astrocytech k hypoxii způsobené KM a jejich destrukci
4. Destrukce astrocytů vede k vyšší propustnosti BBB pro kyselinu mravenčí



Poškození astrocytů hematoencefalické bariéry (BBB): závěry (II)

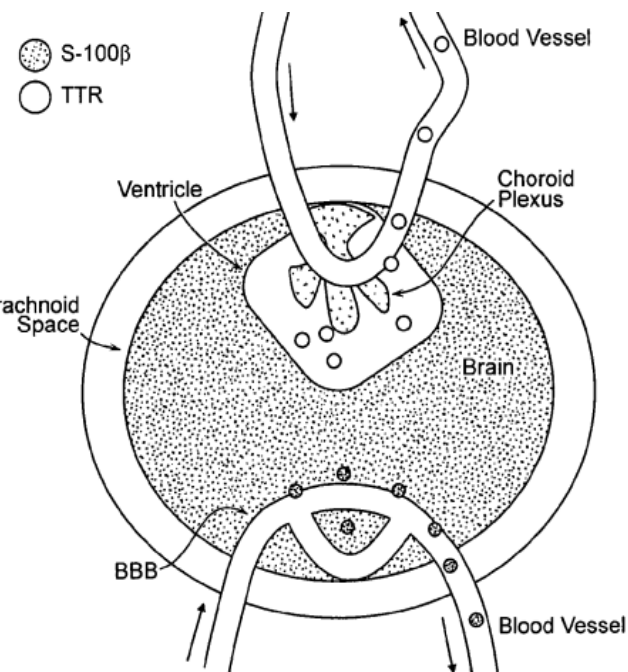
5. První biochemický důkaz poškození astrocytů makroglie u akutních otrav metanolem, které může vést k větší propustnosti BBB pro kyselinu mravenčí

6. V plánu: měření přímých markerů dizrupce BBB – proteinů z choroidního plexu a z CSF v krevním séru:

- monomeru TTR (transthyretin) – choroidní plexus

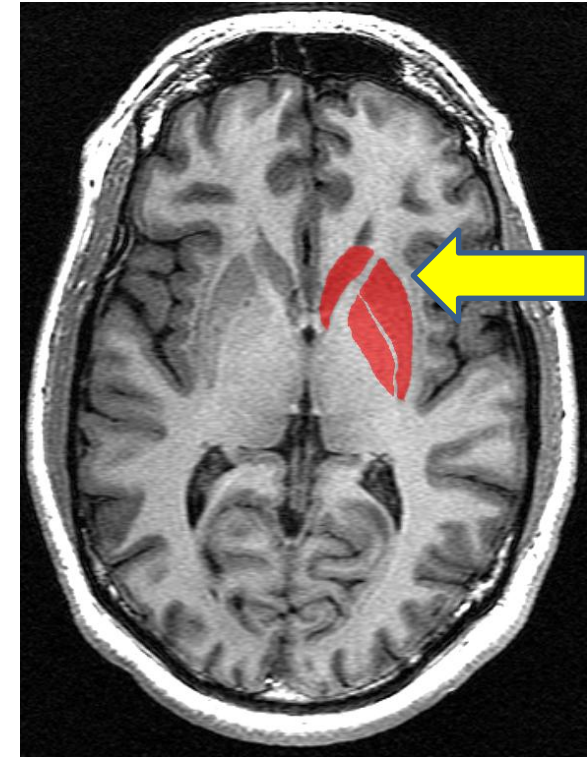
- S100 β proteinu – perivaskulární astrocyty

7. Další úkoly: větší počet osob/vzorků, korelace s pH, koncentrací MetOH, Formiátu, efekt „dávka-účinek“, prognostický význam markerů (následky otravy)



Parkinsonův syndrom po intoxikaci metanolem

- Putamen je jedním z hlavních terčů kyseliny mravenčí v mozku
- 15/50 pacientů nález na MRI/CT mozku
- Kazuistiky:



Ley CO, Gali FG, 1983; Mozas et al, 1991; aj. Finkelstein Y, Vardi J. Progressive parkinsonism in a young experimental physicist following long-term exposure to methanol. Neurotoxicology 2002:

A case is described of an experimental 40 y.o. physicist who developed parkinsonism, apparently as delayed toxic effect of long exposure to vapors of methanol in the laboratory. Clinical and magnetic resonance imaging (MRI) supported the diagnosis, after exclusion of hereditary diseases and primary degenerative diseases...One proposed reason is that formic acid has the ability to impair dopaminergic pathways .

Dlouhodobé poškození nervového systému:

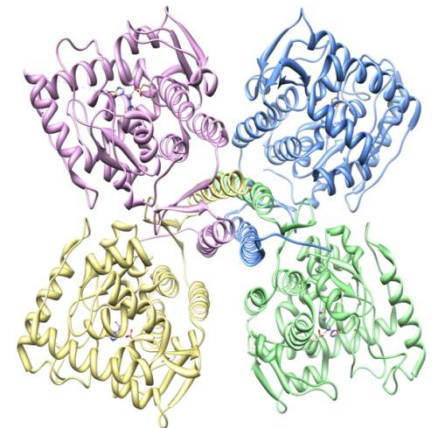
3. Poškození dopaminergních neuronů CNS

A. Experimentální údaje:

- Acute methanol administration significantly decreases dopamine level in striatum (*Jeganathan PS, Namasivayan A, 1987*)
- Methanol causes a depletion in dopamine levels and degeneration of the dopaminergic nigrostriatal pathway (*Aziz MH et al, 2002*)
- Prenatal methanol exposure alters expression of dopaminergic markers in the striatum of a parkinsonian mouse model (*Mackey VR, Charlton CG, 2009*).

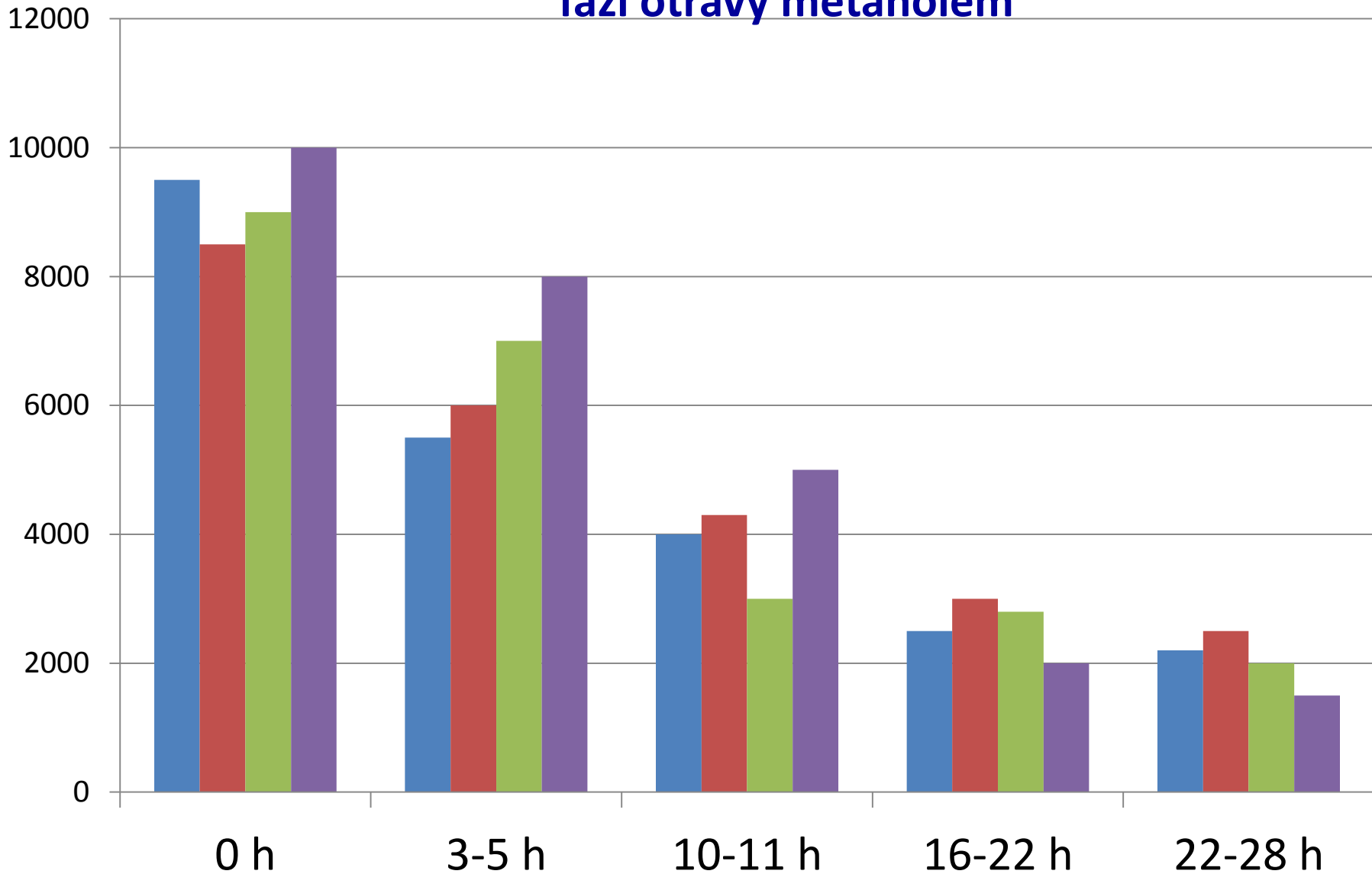
B. Biochemický marker dopaminergních neuronů:

Tyrosine Hydroxylase (TH) v krevním séru



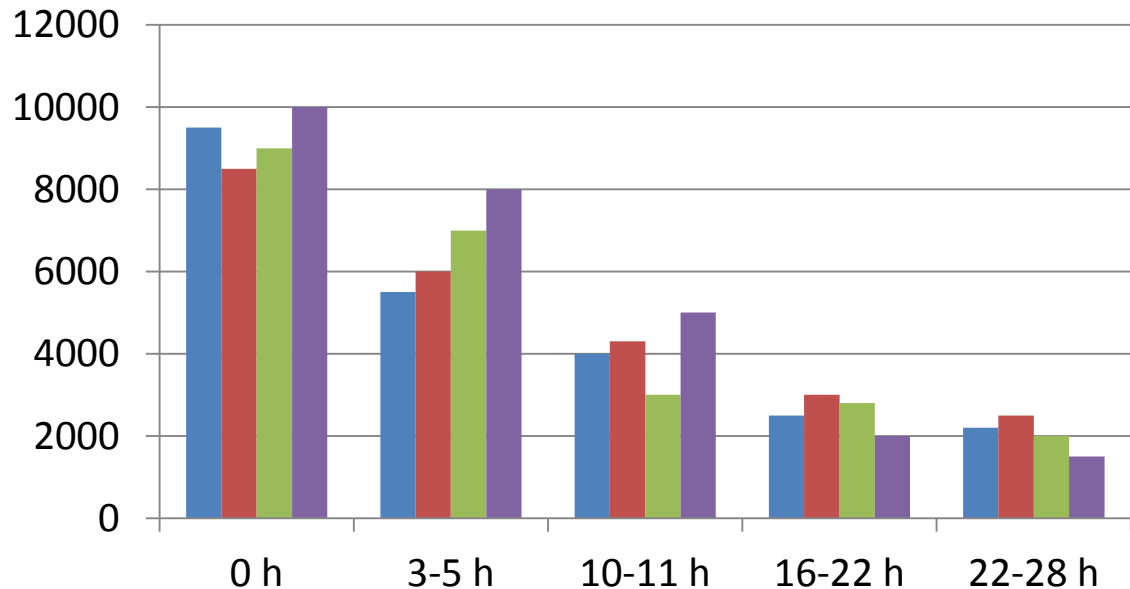
Poškození dopaminergních neuronů CNS

ng/L Tyrosine hydroxylase (TH) v krevním séru pacientů v akutní fázi otravy metanolem



Tyrosine hydroxylase (TH) v krevním séru pacientů v akutní fázi otravy metanolem: závěry

1. Koncentrace TH v krevním séru je nejvyšší při příjmu a klesá v průběhu prvních 24 hodin léčby
2. Koncentrace TH v séru po 24 hodinách léčby je 4-5 krát nižší než při příjmu
3. Biochemický důkaz poškození dopaminergních neuronů u akutních otrav metanolem
4. Další postup: follow-up neurologických následků, korelace s dynamikou TH, jiné biomarkery neuronálního poškození



Závěr

- 1. Myelinoklastický účinek kyseliny mravenčí je prokazatelný významnou elevací MBP v krevním séru v prvních 24 hodinách akutní otravy metanolem.**
- 2. Stupeň poškození astrocytů makroglie v prvních 24 hodinách otravy může určovat propustnost BBB pro kyselinu mravenčí a vysvětlovat variabilitu závažnosti účinků na CNS.**
- 3. PDI v krevním séru může sloužit markerem poškození astrocytů a mít prognostický význam pro následky otravy ze strany CNS.**
- 4. Významná elevace TH v krevním séru v prvních 24 hodinách otravy svědčí o poškození dopaminergních neuronů v CNS jako možné příčině rozvoje symptomů parkinsonismu v důsledku otravy.**
- 5. Studie dlouhodobých následků akutních otrav metanolem může být nápomocná ke zjištění významu pro zdraví chronické inhalační profesionální expozice metanolu v pracovním prostředí.**