

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Preventivní medicína a epidemiologie



**PROSPEKTIVNÍ STUDIE DLOUHODOBÝCH NEUROLOGICKÝCH
NÁSLEDKŮ AKUTNÍ INTOXIKACE METANOLEM**

**PROSPECTIVE STUDY OF LONG-TERM NEUROLOGICAL
SEQUELAE OF ACUTE METHANOL POISONING**

DISERTAČNÍ PRÁCE

Školitel: prof. MUDr. Sergej Zacharov, Ph.D., FEAPCCT

Praha 2021 MUDr. Kateřina Kotíková

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracovala samostatně pod vedením svého školitele, že jsem uvedla a citovala všechnu použitou literaturu a prameny. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, dne

.....
MUDr. Kateřina Kotíková
Podpis

Identifikační záznam

Kotíková, Kateřina. Prospektivní studie dlouhodobých neurologických následků akutní intoxikace metanolem.

[Prospective study of long-term neurological sequelae of acute methanol poisoning].

Praha, 2021, 122 stran.

Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Klinika pracovního lékařství

1. LF UK. Školitel: Zacharov, Sergej.

ABSTRAKT

Kontext: Metanol je alkohol, který se hojně využívá v průmyslu, a má známé neurotoxické účinky. U akutní otravy metanolem je typickým nálezem na MRI a CT mozku bilaterální nekróza bazálních ganglií. Dopad expozice metanolu na periferní nervový systém není známý.

Cíl: Stanovit prevalenci a predisponující faktory hemoragických a nehemoragických mozkových lézí u pacientů, kteří přežili akutní otravu metanolem; zjistit, zda ¹²³I-ioflupan SPECT (DaT SPECT) lze potenciálně využít jako marker poškození bazálních ganglií při akutní otravě metanolem; posoudit úlohu akutní expozice metanolu v rozvoji periferní polyneuropatie (PNP) v letech následujících po propuštění z nemocnice.

Materiál a metodika: U pacientů s potvrzenou otravou metanolem byla provedena šestiletá prospektivní kohortová jednocentrová studie. Vyšetřovací protokol zahrnoval neurologické vyšetření včetně magnetické rezonance mozku, DaT SPECT a elektromyografického vyšetření, dále zrakové evokované potenciály, oční vyšetření s měřením tloušťky vrstvy nervových vláken sítnice, biochemická vyšetření a toxikologické testy. U 46 pacientů byla kontrolní vyšetření zahrnující MRI mozku provedena 3–8 a 24–28 měsíců po propuštění z nemocnice, u 42 pacientů byla MRI mozku provedena čtyřikrát během šestiletého období a DaT SPECT byl proveden dvakrát. 55 pacientů podstoupilo v rámci studie jednou až čtyřikrát elektromyografické vyšetření.

Výsledky: Ze 46 pacientů (střední věk 49 let, IQR 35–57 let, 37 mužů a 9 žen), kterým bylo provedeno MRI vyšetření, mělo 24 (52 %) pacientů celkem 40 abnormálních nálezů na mozku s hemoragickými lézemi zjištěnými u 15 (33 %) a nehemoragickými lézemi nalezenými u 9 (19 %) pacientů. Typickým místem krvácení do mozku bylo putamen, ale četné byly také hemoragické léze v globus pallidus a subkortikální bílé hmotě. Pacienti s hemoragickými lézemi mozku měli při přijetí do nemocnice nižší pH arteriální krve, vyšší deficit bází, vyšší hladinu glykemie a laktátu než pacienti bez krvácení (všichni $p < 0,05$). Dlouhodobé poškození zraku se vyskytovalo častěji ve skupině pacientů s hemoragickými lézemi CNS. U závažně intoxikovaných pacientů léčených bez systémové antikoagulační léčby bylo zjištěno krvácení do mozku, zatímco léčba vysokými dávkami heparinu ne vždy vedla k hemoragickému poškození mozku.

Čtyřicet dva pacientů (průměrný věk $46,3 \pm 4,2$ let; 8 žen) podstoupilo dvakrát DaT SPECT. U 35 hodnocených pacientů byla provedena MRI-volumetrie. Byla zjištěna pozitivní korelace mezi SBR a objemem levého putamen. Korelace mezi SBR a objemem pravého

putamen byly významné pouze pro putamen posterior ($r = 0,386$, $p = 0,022$). Byla pozorována významná korelace mezi SBR putamen posterior a pH arteriální krve ($r = 0,574$; $p < 0,001$) i dalšími toxikologickými parametry závažnosti otravy, včetně koncentrace laktátu, glukózy a kreatininu v séru ($p < 0,05$). SBR putamen posterior pozitivně korelovalo s globální tloušťkou RNFL ($p < 0,05$).

Periferní polyneuropatie byla zjištěna u 20/55 (36 %) pacientů, ve většině případů se jednalo o mírnou axonální senzomotorickou neuropatii. Pacienti s PNP byli významně starší ($57,3 \pm 5,3$ oproti $42,5 \pm 3,9$ roku; $p < 0,001$), měli vyšší hladinu glukózy v krvi ($5,93 \pm 0,97$ oproti $4,81 \pm 0,32$ mmol/l; $p = 0,035$) a nižší koncentraci vitamínu B1 ($45,5 \pm 7,4$ oproti $57,5 \pm 5,2$ $\mu\text{g/l}$; $p = 0,015$). Ve skupině pacientů s PNP byl významně vyšší počet chronických uživatelů alkoholu (18/20 proti 19/35; $p = 0,005$). Nezaznamenali jsme souvislost mezi výskytem PNP a akutními parametry závažnosti otravy – pH arteriální krve, koncentrací metanolu a etanolu při příjmu (všechny $p > 0,05$). Nebyl zjištěn rozdíl v počtu pacientů se zraťovými následky (9/20 s PNP oproti 12/35 pacientům bez PNP; $p = 0,431$) a CNS následky (9/20 s PNP oproti 15/35 pacientům bez PNP; $p = 0,877$).

Závěr: Prevalence hemoragických lézí byla vyšší než prevalence nehemoragických lézí. Nebyla nalezena souvislost mezi krvácením do mozku a systémovou antikoagulační léčbou během hemodialýzy. ^{123}I -ioflupan SPECT (DaT SPECT) odrážející dopaminergní axonální dysfunkci ve striatu je potenciálně dobrým ukazatelem funkčního poškození bazálních ganglií vyvolaného metanolem. Nebyla nalezena žádná souvislost mezi prevalencí PNP v souboru a akutní expozicí metanolu.

Klíčová slova: Otrava metanolem; Dlouhodobé zdravotní následky; Léze bazálních ganglií; Nekróza putamen; Krvácení do mozku, ^{123}I -ioflupan-SPECT; MRI-volumetrie; Periferní polyneuropatie; Elektromyografie

ABSTRACT

Background: Methanol is widely industrially used alcohol with known neurotoxic properties. Bilateral necrosis of basal ganglia is a typical finding detected on MRI and CT scan of the brain in acute methanol poisoning. The impact of methanol exposure on peripheral nervous system is unknown.

Aim: To study the prevalence and predisposing factors of haemorrhagic and non-haemorrhagic brain lesions in survivors of acute methanol poisoning; to investigate whether ¹²³I-ioflupane SPECT (DaT SPECT) has the potential as a marker of basal ganglia damage in acute methanol poisoning; to investigate the role of acute methanol exposure in the development of peripheral polyneuropathy (PNP) during the years following discharge from the hospital.

Methods: A six year prospective, single-centre, cohort study of patients with confirmed methanol poisoning was conducted. The examination protocol consisted of neurological examination, MRI of the brain, DaT SPECT and electromyographic examination, further, visual evoked potentials, ocular examination with retinal nerve fiber layer thickness measurement, series of biochemical and toxicological tests. In 46 patients, follow-up examinations including brain MRI were performed 3–8 and 24–28 months after discharge from the hospital, in 42 patients brain MRI was performed four times during a six-year period and DaT SPECT was performed twice, 55 patients underwent electromyographic examination once to four times within the study.

Results: Of 46 patients (median age of 49 years, IQR 35–57 years, 37 males and 9 females), who underwent MRI examination, 24 (52 %) patients had a total of 40 abnormal brain findings with haemorrhagic lesions detected in 15 (33 %) and non-haemorrhagic lesions found in 9 (19 %) patients. The typical site of brain haemorrhage was the putamen but haemorrhagic lesions in the globus pallidus and the subcortical white matter were prevalent as well. The patients with haemorrhagic brain lesions were more acidemic (lower arterial blood pH, higher base deficit) and had higher glycaemia and lactacidaemia on admission than those without haemorrhages (all $p < 0.05$). The long-term visual damage was present more often in the group of patients with haemorrhagic CNS lesions. Brain haemorrhage was found in severely intoxicated patients treated without systemic anticoagulant therapy, whereas treatment with high doses of heparin did not always result in haemorrhagic brain damage.

Forty-two patients (mean age 46.3 ± 4.2 y; 8 females) underwent DaT SPECT twice. Volumetry was calculated in 35 of the patients assessed. The SBR for the left putamen was

positively correlated with its volume. Correlations between SBR and the volume of the right putamen were significant only for the posterior putamen ($r = 0.386$, $p = 0.022$). A strong correlation was observed between the SBR of the posterior putamen and arterial blood pH ($r=0.574$; $p<0.001$) and other toxicological parameters of severity of poisoning including serum lactate, glucose, and creatinine concentrations ($p<0.05$). The SBR of the posterior putamen positively correlated with the global RNFL thickness ($p<0.05$).

Peripheral neuropathy was observed in 20/55 (36%) patients, in most of the cases mild axonal sensorimotor neuropathy. The patients with PNP were significantly older (57.3 ± 5.3 versus 42.5 ± 3.9 years; $p < 0.001$), with higher blood glucose (5.93 ± 0.97 versus 4.81 ± 0.32 mmol/L; $p=0.035$) and lower vitamin B₁ (45.5 ± 7.4 versus 57.5 ± 5.2 $\mu\text{g/L}$; $p=0.015$) concentrations. The number of chronic alcohol abusers was significantly higher in the PNP group (18/20 versus 19/35; $p=0.005$). No association of PNP prevalence was found with acute parameters of poisoning severity – arterial blood pH, serum methanol and ethanol concentrations at admission (all $p>0.05$). No difference in the number of patients with visual (9/20 with PNP versus 12/35 patients without PNP, $p=0.431$) and CNS sequelae (9/20 with PNP versus 15/35 patients without PNP; $p=0.877$) of poisoning was present.

Conclusion: The prevalence of haemorrhagic lesions was higher than the prevalence of non-haemorrhagic ones. No association between brain haemorrhages and systemic anticoagulation during dialysis was found. ¹²³I-ioflupane SPECT (DaT SPECT) reflecting dopaminergic axonal dysfunction in the striatum demonstrates significant potential for the diagnosis of methanol-induced functional damage of the basal ganglia. No association was found between the prevalence of PNP and acute methanol exposure.

Keywords: Methanol poisoning; Long-term health sequelae; Basal ganglia lesion; Putamen necrosis; Brain haemorrhages; ¹²³I-ioflupane SPECT; MRI-volumetry; Peripheral polyneuropathy; Electromyography.

OBSAH

ABSTRAKT	4
ABSTRACT	6
OBSAH	8
PODĚKOVÁNÍ	10
SEZNAM ZKRATEK	11
1. ÚVOD	12
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	14
2.1. Toxické působení metanolu v lidském organismu	14
2.2. Klinické příznaky, terapie a prognóza intoxikace metanolem	15
2.3. Zrakové následky akutní intoxikace metanolem	17
2.4. Postižení centrální nervové soustavy následkem akutní intoxikace metanolem	18
2.5. Zobrazovací a funkční vyšetření bazálních ganglií	21
2.5.1. Magnetická rezonance a MR-volumetrie bazálních ganglií	21
2.5.2. Vyšetření distribuce a denzity dopaminového transportéru jednofotonovou emisní výpočetní tomografií (DaT SPECT)	22
2.6. Postižení periferní nervové soustavy následkem akutní intoxikace metanolem	23
3. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE	25
4. SOUBOR PACIENTŮ A METODIKA	26
5. VÝSLEDKY A DISKUZE	30
5.1. Prevalence, charakter, dynamika a predisponující faktory hemoragických a nehemoragických lézí mozku způsobených akutní intoxikací metanolem (Publikace I)	30
5.1.1. Prevalence a dynamika hemoragických a nehemoragických mozkových lézí	30
5.1.2. Predisponující faktory hemoragických mozkových lézí	33
5.1.3. Vliv systémové antikoagulační léčby aplikované během hemodialýzy na vznik hemoragických lézí v mozku	38
5.2. Význam DaT-SPECT v diagnostice poškození bazálních ganglií (Publikace II)	44
5.3. Postižení periferní nervové soustavy následkem akutní intoxikace metanolem (Publikace III)	55

6. ZÁVĚR	67
7. LITERATURA	70
8. SEZNAM TABULEK	85
9. SEZNAM OBRÁZKŮ	86
10. SEZNAM ORIGINÁLNÍCH PUBLIKACÍ AUTORKY	87
11. PŘÍLOHY: KOPIE HLAVNÍCH ORIGINÁLNÍCH PUBLIKACÍ	91
PUBLIKACE I	92
PUBLIKACE II	103
PUBLIKACE III	114

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych ráda vyjádřila poděkování především svému školiteli profesoru MUDr. Sergeji Zacharovovi, Ph.D., FEAPCCT, přednostovi Kliniky pracovního lékařství 1. LF UK a VFN v Praze, za jeho vstřícnost, trpělivost a odborné vedení.

Dále bych chtěla poděkovat svým současným i bývalým kolegům z Kliniky pracovního lékařství 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, kde naše studie probíhala, zejména MUDr. Petru Klepišovi za pomoc s měřením a hodnocením výsledků elektromyografického vyšetření, paní profesorce MUDr. Daniele Pelclové, CSc, panu docentu MUDr. Pavlu Urbanovi, CSc, panu profesoru Ing. Tomáši Navrátilovi, Ph.D., a MUDr. Jiřímu Hlušíčkovi, Ph.D.

Rovněž bych ráda poděkovala kolegům z 1. LF UK a VFN v Praze i dalších institucí, kteří se na této studii podíleli: paní profesorce MUDr. Manuele Vaněčkové, Ph.D., a panu profesoru MUDr. Zdeňku Seidlovi, DrSc., z Kliniky radiodiagnostiky, panu primáři MUDr. Davidu Zogalovi, Ph.D., MUDr. Václavu Ptáčníkovi, Ing. Jiřímu Trnkovi, Ph.D, a panu docentu MUDr. Karlu Kupkovi, CSc, z Ústavu nukleární medicíny, paní profesorce MUDr. Jarmile Heissigerové, Ph.D., a panu primáři MUDr. Pavlu Diblíkovi z Oční kliniky, panu profesoru MUDr. Evženu Růžičkovi, DrSc., panu docentu Jiřímu Klempířovi, Ph.D., MUDr. Haně Brožové, Ph.D., MUDr. Kamile Polákové a panu docentu Mgr. Ondřeji Bezdíčkovi, Ph.D., z Kliniky neurologie a Centra klinických neurověd, MUDr. Petru Ridzoňovi z Neurologické kliniky 3. LF UK a FTN, v neposlední řadě také MUDr. Ivaně Kurcové a jejím kolegům z Ústavu soudního lékařství a toxikologie a Mgr. Martinu Komarcovi, Ph.D., z Institutu biofyziky a informatiky.

SEZNAM ZKRATEK

ADH	alkoholdehydrogenáza
ALDH	aldehyddehydrogenáza
AUC	plocha pod křivkou
CDT	karbohydrát – deficientní transferin
CI	interval spolehlivosti
CNS	centrální nervový systém
CT	počítačová tomografie
CVVHD	kontinuální venovenózní hemodialýza
CVVHDF	kontinuální venovenózní hemodiafiltrace
DaT	dopaminový transportér
DM	diabetes mellitus
EMG	elektromyografie
EDD	extendovaná denní dialýza
EtOH	etanol
HbA1c	glykovaný hemoglobin
IHD	intermitentní hemodialýza
LMWH	nízkomolekulární heparin
MetOH	metanol
MRI	nukleární magnetická rezonance
OCT	optická koherenční tomografie
pKa	disociační konstanta
PNP	polyneuropatie
PSS	skóre závažnosti otravy
RCA	regionální citrátová antikoagulace
RNFL	vrstva nervových vláken sítnice
ROC	provozní charakteristika přijímače
SBR	specifické vazebné poměry
SPECT	jednofotonová emisní výpočetní tomografie
TIV	celkový intrakraniální objem
THF	tetrahydrofolát
TSH	thyreotropní hormon
VEP	zrakové evokované potenciály
VOI	oblast zájmu

1. ÚVOD

Metanol (metylalkohol) je nejjednodušší alkohol, vysoce toxický, bezbarvý, hořlavý s teplotou varu 64,7 °C. Dříve se označoval jako dřevěný líh, protože se v minulosti vyráběl suchou destilací dřeva. Poprvé byl izolován v roce 1661 Robertem Boylem, irským filozofem, vědcem, chemikem, fyzikem a prezidentem Londýnské královské společnosti. Na celém světě se nejvíce metanolu spotřebuje na výrobu formaldehydu. Používá se také jako součást nemrznoucích směsí nebo pohonných látek, jako denaturační činidlo a rozpouštědlo (English et al., 2015). K akutní otravě metanolem může dojít náhodou, v sebevražedném úmyslu nebo v důsledku konzumace metanolem ředěného alkoholu (Ravichandran et al., 1984; Kumar et al., 2003; Arumugham et al., 2006.).

V posledních dvaceti letech byly otravy metanolem hlášeny z celého světa (Hovda et al., 2005a; Paasma et al., 2007; Zakharov et al., 2014a,b; Hassanian-Moghaddam et al., 2015; Mana et al., 2019). V roce 2018 Americká asociace toxikologických středisek hlásila 2 192 případů akutní expozice metanolu, včetně 1 356 expozic přípravkům do ostříkovačů, 655 expozic toxickým alkoholům obsahujícím metanol, 157 expozic metanolu obsaženému v jiných produktech pro automobily a 24 případů, kdy byli jednotlivci vystaveni metanolu v čisticích prostředcích (Gummin et al., 2018). Statistiky z roku 2017 ze Spojených států amerických ukázaly, že neúmyslné expozice byly hlášeny v 90,3 % všech případů, zatímco 8,3 % bylo způsobeno úmyslným požitím, které zahrnovalo sebevraždy v 51,2 % a zneužívání v 38,8 % (National Health Insurance Research Database, 2017).

V posledních letech se nejvíce hromadných intoxikací metanolem objevuje v rozvojových zemích, ve kterých se metanol používá jako levná náhrada alkoholu. Metanolové otravy se vyskytly v Turecku (Duman et al., 2003; Kalkan et al., 2003; Yacyia et al., 2003; Azmak, 2006; Gülmen et al., 2006; Unsal et al., 2012), Indii (Mittal et al., 1991; Saxena, 1999; Mohan et al., 2001; Shah et al., 2012; Dilip et al., 2013), Keni (Ahmad, 2000), Iránu (Moghadami et al., 2008; Massoumi et al., 2012; Hassanian-Moghaddam et al., 2015), Bangladéši (Chowdhury et al., 2014), Libyi (Ben Taleb & Bahelah, 2014), Indonésii (Koehrer et al., 2011; Giovanetti, 2013), Sudánu (Abdul Rahim & Al Shiekh, 2012), Tunisu (Brahmi et al., 2007) a dalších rozvojových zemích.

Hromadné otravy metanolem se objevují i v zemích Evropské unie; v posledních dvaceti letech například v roce 2001 v Estonsku (Paasma et al., 2007; Paasma et al., 2013), v roce 2002 v Norsku (Hovda et al., 2005a) a v roce 2012 v České republice (Zakharov et al., 2014b).

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. Toxické působení metanolu v lidském organismu

Metanol je v nezměněné podobě relativně málo toxický, škodlivé jsou zejména z něho vznikající metabolity – formaldehyd a později kyselina mravenčí. Metylalkohol je oxidován v játrech na formaldehyd enzymem alkoholdehydrogenázou (ADH) a dále na kyselinu mravenčí aldehyddehydrogenázou (ALDH). Přeměna formaldehydu na mravenčí kyselinu je poměrně rychlá, poločas metabolizace je 1–2 minuty (Eells et al., 1981). Kyselina mravenčí je dále oxidována za přítomnosti tetrahydrofolátu (THF) na oxid uhličitý a vodu. Rychlost metabolizace mravenčí kyseliny je závislá na velikosti zásob THF v játrech a také na aktivitě enzymu 10-formyl-tetrahydrofolát-dehydrogenázy.

Lidé mají na rozdíl od nižších savců zásoby THF v játrech relativně nízké (Tephly, 1991). Ke kumulaci kyseliny mravenčí dochází, pokud rychlost, kterou se kyselina tvoří, překročí kapacitu její eliminace. Mravenčí kyselina inhibuje v mitochondriích cytochrom c oxidázu, tím dochází k buněčné hypoxii, poklesu zásob adenosintrifosfátu (ATP) a uvolnění kyseliny mléčné. Kumulace kyseliny mravenčí spolu s kyselinou mléčnou vede k závažné metabolické acidóze (Liesivuori and Savolainen, 1991).

Existuje přímá souvislost mezi vysokými hodnotami koncentrace kyseliny mravenčí v séru a vysokou morbiditou a mortalitou intoxikovaných pacientů (Brent et al., 2001). Metanol cytotoxickým působením kyseliny mravenčí poškozuje axony zrakového nervu, buňky oční sítnice a neurony bazálních ganglií mozku, zejména putamen (Sharpe et al., 1982; Sivilotti et al., 2001). Působení mravenčí kyseliny na centrální nervový systém (CNS) umocňuje závažná metabolická acidóza, která usnadňuje přechod kyseliny mravenčí hematoencefalickou bariérou, což způsobuje edém mozku a/nebo nekrotické poškození putamen, nucleus pallidus i subkortikální bílé hmoty (Gaul et al., 1995; Feany et al., 2001; Blanco et al., 2006; Zakharov et al., 2016).

2.2. Klinické příznaky, terapie a prognóza intoxikace metanolem

K časným projevům toxicity metanolu patří opilstost, nevolnost, zvracení, bolesti břicha, slabost, zmatenost a ataxie, poté nastupuje období latence, které může trvat 12–24 hodin (Tephly TR, 1991). V této době dochází k oxidaci metylalkoholu a akumulaci kyseliny mravenčí. Je-li současně konzumován etanol, bezpříznakové období může být prodlouženo až na 36 hodin. (Zakharov et al., 2014b). Poté dochází k metabolické acidóze, zhoršují se zrakové funkce, od rozmazaného vidění až po úplnou slepotu (Barceloux et al., 2002).

V případě těžké otravy dochází k závažnému kvantitativnímu i kvalitativnímu poškození vědomí až k bezvědomí, mohou se objevit i křeče (Bennett et al., 1953, Kruse, 1992). Závažné neurologické projevy, hlavně bezvědomí, nepříznivě ovlivňují prognózu (Paasma et al., 2009, 2012). Výrazněji bývá také poškozen zrak. Snižuje se ostrost vidění a dochází ke ztrátě barevného vidění – pacienti popisují obraz sněžného pole nebo sněhovou bouři, pocity oslnění a zhasínání. V těžkých případech dochází k úmrtí pacientů nebo k přežití s těžkými trvalými následky ze strany CNS a zraku (Barceloux et al., 2002, Kraut, 2015, Zakharov et al., 2015b).

Otrava metanolem je obvykle diagnostikována na základě anamnézy pacienta, laboratorní toxikologické analýzy a přítomnosti neuro-ofthalmologických příznaků. Závažná metabolická acidóza s vysokým aniontovým a osmolárním oknem (gapem) a vysokými hladinami metanolu a kyseliny mravenčí v séru tuto diagnózu potvrzuje (Blanco et al., 2006, Zakharov et al., 2015d).

Měření aniontového a osmolárního gapu má velký význam z hlediska včasné diagnostiky akutní otravy metanolem. Aniontový gap je spolehlivým ukazatelem závažnosti otravy u pacientů s pozdním projevem, u kterých již byla velká část požitého metanolu metabolizována. Zvýšený osmolární gap může pomoci v diagnostice metanolové otravy v časně fázi (Hovda et al., 2004, Zakharov et al., 2015d).

Účinná a efektivní léčba je vedena snahou co nejdříve za pomoci antidota, etanolu nebo 4-metylpirazolu (fomepizolu), inhibovat ADH a tím zabránit vzniku toxických metabolitů (Zakharov et al., 2015a). Etanol má asi desetkrát vyšší afinitu k ADH než metanol. Sérová koncentrace etanolu musí být dostatečně vysoká, aby zablokovala přeměnu metanolu na mravenčan (McCoy et al., 1979; Peterson, 1981; Jacobsen et al., 1982 b, 1986). Dalším účinným antidotem je fomepizol. Jeho afinita k ADH je tisíckrát vyšší než afinita metanolu (Baud et al., 1986; Burns et al., 1997; Bekka et al., 2001; Brent et al., 2001; van der Knaap et al., 2005; Kraut et al., 2008; Pohanka, 2015;).

Fomepizol byl poprvé schválen pro použití v USA k léčbě intoxikace etylenglykolem v roce 1997 a k léčbě intoxikace metanolem v roce 2000 (Mycyk & Leikin, 2003; Beatty et al., 2013). V Evropě je od roku 2002 schválen jako antidotum při otravě etylenglykolem (Sturkenboom et al., 2009). V roce 2014 byl přidán do Seznamu základních léků WHO, ale jeho dostupnost je stále omezená a cena poměrně vysoká. Je-li podání antidota opožděné nebo množství nedostačující, mortalita intoxikovaných pacientů může dosahovat 40 % a u pacientů, kteří otravu přežijí, se objevují závažné zdravotní následky intoxikace (Abramson & Singh, 2000; Hovda et al., 2005a; Hassanian-Moghaddam et al., 2007; Paasma et al., 2007, 2009; Zakharov et al., 2014b; Roberts et al., 2015.).

Dále je třeba korigovat závažnou metabolickou acidózu a pokusit se o rychlou eliminaci metanolu a kyseliny mravenčí hemodialýzou (Jacobsen et al., 1986; Barceloux et al., 2002; Kraut et al., 2008; Zakharov et al., 2014a, 2016, 2017a). V klinické praxi se při akutní otravě metanolem využívá intermitentní i kontinuální hemodialýza. Intermitentní hemodialýza však rychleji eliminuje reziduální metanol a nově se tvořící mravenčan. V případech se závažnou metabolickou acidózou zaručuje významně vyšší rychlost korekce acidémie (Jones et al., 2007). Také studie provedená Zakharovem a kol. uvádí lepší výsledky při použití intermitentní hemodialýzy, hlavně pokud se jedná o rychlost eliminace metanolu a kyseliny mravenčí, a zároveň zdůrazňuje význam rychlé eliminace mravenčanu u pacientů s pozdní diagnózou (Zakharov et al., 2014a). V jiné publikaci Zakharov a kol. poukazuje na rychlejší korekci acidémie při použití intermitentní hemodialýzy (Zakharov et al., 2017a).

Po experimentálních studiích na opicích Noker a kol. předpokládali, že sloučeniny kyseliny listové by mohly stimulovat oxidaci mravenčanu a tím snižovat jeho akumulaci, a navrhovali použít foláty v léčbě metanolové intoxikace u lidí (Noker et al., 1980). Americká akademie klinické toxikologie doporučuje v terapii akutní intoxikace metanolem podávat kyselinu listovou (Barceloux et al., 2002). Ve studii Zakharov a kol. však nebyla prokázána klinická účinnost kyseliny listové v prevenci poškození zraku u lidí (Zakharov et al., 2014c). Ani Ghosh a Boyd nenalezli přímý důkaz, že by kyselina listová byla účinná v léčbě otravy nemrznoucí směsí obsahující metanol u lidí (Ghosh, Boyd, 2003).

Pozdní diagnóza a s ní související pozdní zahájení léčby vede k vyšší mortalitě a k vyšší pravděpodobnosti vzniku trvalých zrakových nebo neurologických následků (Hassanian-Moghaddam et al., 2007). Stejně tak pacienti s vyššími koncentracemi metanolu a nižšími koncentracemi etanolu v séru jsou obvykle závažněji otráveni (Hovda et al., 2004, Zakharov et al., 2016). Rizikovými faktory špatné prognózy při metanolové otravě jsou těžká metabolická

acidóza s vysokým aniontovým gapem, deficit bází, vysoký laktát v séru a nízké pH arteriální krve (Barceloux et al., 2002; Paasma et al., 2012).

Dalšími rizikovými faktory jsou alterovaný stav vědomí při přijetí, pozdější zahájení léčby, počet a charakter komplikací léčby (Hassanian-Moghaddam et al., 2007; Paasma et al., 2012; Zakharov et al., 2017c). Je známo, že koncentrace laktátu v séru koreluje s klinickým stavem u kriticky nemocných pacientů a lze jej použít jako prognostický ukazatel úmrtnosti a dlouhodobé morbidity v kritických stavech (Schuster, 1984; Smith et al., 2001; Jansen et al., 2008). Stejně tak stresem indukovaná hyperglykémie pozorovaná u kriticky nemocných je známým negativním prognostickým faktorem (Sanaei-Zadeh et al., 2011, Zakharov et al., 2014b).

2.3. Zrakové následky akutní intoxikace metanolem

U pacientů, kteří přežili akutní otravu metanolem, dosahuje prevalence dlouhodobých zrakových následků až 40 % (Zakharov et al., 2015b; Urban et al., 2016; Hlusicka et al., 2018, 2019a, 2019b). Působením kyseliny mravenčí dochází k poruše mitochondriální oxidativní fosforylace inhibicí aktivity cytochrom c oxidázy a tím k neuropatii optického nervu a destrukci sítnice.

Studie zabývající se toxickým působením metanolu na zvířecích modelech demonstrují inhibici cytochrom c oxidázy kyselinou mravenčí v laminárních a retrolaminárních oblastech zrakového nervu (Martin-Amat et al., 1977; Baumbach et al., 1977; Hayreh et al., 1977). Zrakové následky intoxikace se projevují rozmazaným viděním, snížením ostrosti zraku, fotofobií a změnami v zorném poli až po úplnou slepotu (Nurieva et al., 2018).

Poškození zrakového nervu lze objektivně posoudit vyšetřením evokovaných zrakových potenciálů (VEP), poškození sítnice pak optickou koherentní tomografií (OCT), pomocí které se měří tloušťka vrstvy nervových vláken (RNFL) sítnice (Jones and Brusa, 2003; Urban et al., 2016; Klein et al., 2017). K nejzávažnějšímu poklesu globální tloušťky nervových vláken dochází v temporálních segmentech sítnice (Nurieva et al., 2018). Tento pokles velmi úzce souvisí s abnormálním nálezem při vyšetření VEP a zrakové ostrosti (Zakharov et al., 2015b).

Nejvýznamnějším prognostickým faktorem chronického poklesu tloušťky RNFL je pH arteriální krve při přijetí do nemocnice (Nurieva et al., 2018). Prodloužení latence zrakového evokovaného potenciálu je projevem akutní demyelinizace axonů zrakového nervu (Urban et

al., 2016). U některých pacientů může dojít k následné remyelinizaci nervus opticus během dvou let následujících po akutní otravě metanolem (Nurieva et al., 2016).

U pacientů s dlouhodobými zrakovými následky otravy jsou zároveň častěji diagnostikované mozkové léze, 70 % versus 27 % u pacientů bez poškození zraku (Zakharov et al., 2015b). Ve studii Nurieva a kol. (2018), pacienti s abnormální tloušťkou RNFL měli na nukleární magnetické rezonanci (MRI) známky mozkových lézí v 10 ze 13 případů, zatímco pacienti s normální tloušťkou RNFL měli CNS následky v 8 z 29 případů.

Průběh a následky otravy metanolem mohou být také ovlivněny genetickými polymorfismy. Je popsána souvislost mezi přítomností alely apolipoproteinu E4 a abnormálním morfologickým nálezem na OCT. U pacientů, kteří jsou nosiči alely ApoE4, se prokázala nižší tloušťka RNFL, delší latence vlny P1 zrakového evokovaného potenciálu a častější poškození mozku vyvolané metanolem ve srovnání s pacienty bez alely ApoE4 (Nurieva et al., 2019).

2.4. Postižení centrální nervové soustavy následkem akutní intoxikace metanolem

Toxické působení kyseliny mravenčí, metabolitu metanolu, vede k nekróze bazálních ganglií, hlavně putamen, často s krvácením, dále k postižení bílé hmoty zejména v subkortikální oblasti, méně často k poškození v oblasti mozkového kmene, mozečku a nucleus caudate (Blanco et al., 2006, Singh et al., 2013, Vaneckova et al., 2015; Hassanian-Moghaddam et al., 2017). Likosky a kol. (2005) popsal případ metanolem intoxikovaného pacienta, u kterého počítačová tomografie (CT) mozku odhalila kromě subarachnoidálního krvácení masivní hemoragie v laterálních komorách i ve 3. a 4. komoře.

Podle některých autorů je putamen zvláště citlivé na působení kyseliny mravenčí. Není zcela jasné, proč při metanolové otravě dochází k postižení převážně putamen. Příčinou může být nahromadění kyseliny mravenčí v oblasti putamen v důsledku lokální insuficience hematoencefalické bariéry (Önder et al., 1999; Singh et al., 2013). Jiná hypotéza předpokládá, že vysoká koncentrace kyseliny mravenčí v putamen je způsobena nedostatečným žilním odtokem při sekundární hypotenzi (Hubacek et al., 2015). Také se předpokládá, že putamen má vyšší nároky na přísun kyslíku a glukózy než jiné oblasti mozku, proto je citlivější na buněčnou hypoxii (Blanco et al., 2006). Specifickou citlivost putamen přičítají autoři zhoršené žilní drenáži, nedostatečnému arteriálnímu průtoku, hypotenzi a ischemii, vyšším nárokům na

spotřebu kyslíku a mimořádné zranitelnosti vůči přímému histotoxickému účinku kyseliny mravenčí (Symon et al., 1973; Brierly and Graham, 1984; McLean et al., 1989; Hantson et al., 1997; McLean et al.). Neurony bazálních ganglií i jejich axony jsou náchylné k poškození vyvolanému hypoxií a oxidačním stresem (Zakharov et al., 2017b).

Souvislost mezi hemoragickou nekrózou putamen a hemoragickou lézí bílé hmoty byla poprvé popsána Orthnerem (Orthner, 1953). Klinické příznaky způsobené těmito lézemi však popsal až v roce 1988 Phang et al. (1988), který pozoroval na CT rozsáhlou hemoragickou nekrózu v bazálních gangliích a krvácení do mozkových komor u 6 z 21 pacientů s intoxikací metanolem. Taheri a kol. (2010) i Vyas a kol. (2009) považují intrakraniální krvácení včetně krvácení do putamen za vzácnou komplikaci, která je způsobena neznámým mechanismem a spojena s vysokou mírou úmrtnosti. Mozkové krvácení jako následek metanolové intoxikace je obvykle oboustranné a není expanzivní (Taheri et al., 2010). Někteří autoři uvádějí souvislost mezi krvácením do mozku u metanolové intoxikace a použitím systémové antikoagulace během hemodialýzy (Giudicissi et al., 1995, Hernández et al., 2004). Aisa a kol. (2016) neprokázali korelaci mezi krvácením v CNS po expozici metanolu a heparinem používaným při hemodialýze.

Pozdní neurologické příznaky se u pacientů, kteří přežili otravu metanolem, objevují se zpožděním dnů až týdnů po intoxikaci (Bezdicek et al., 2014) a zahrnují pyramidové příznaky (Hageman et al., 1999), poruchy chůze (McLean et al., 1980; Davis et al., 1999) a zřídka dystonii (LeWitt et al., 1988; Davis et al., 1999). Poškození bazálních ganglií se může klinicky manifestovat sekundárním parkinsonismem, který je charakterizován rigiditou, bradykinezi, mírným třesem, hypomimií až maskovitým výrazem tváře, letargií a kognitivními deficity (Ley et al., 1983; Rachinger et al., 2002; Server et al., 2003; Osborne et al., 2010; Sharma et al., 2013). Extrapyramidové příznaky jsou obvykle trvalé, ale po léčbě levodopou (Ley et al., 1983; Davis et al., 1999) může dojít ke zlepšení, i když ne u všech pacientů (McLean et al., 1980). Mezi další neurologické následky těžké intoxikace metanolem patří příčná myelitida, onemocnění motorického neuronu připomínající amyotrofickou laterální sklerózu, vizuální anosognosie a pseudobulbární obrna (Srivastava and Kadam, 2013; Vaneckova et al., 2014; Zakharov et al. 2014b). Podle studie Peterové a kol. (2017) pacienti po intoxikaci metanolem nevykazovali chůzi typickou pro parkinsonismus. Jejich chůze byla pomalejší se širokou základnou a zkrácenými kroky, což by odpovídalo dysfunkci frontálního laloku v důsledku poškození bazálních ganglií metanolem a přerušení spojů mezi frontální korovou oblastí a bazálními ganglii (Peterova et al., 2017).

Léze v bazálních gangliích způsobené akutní metanolovou intoxikací se klinicky projevují kognitivním deficitem frontálního typu (Bezdicek et al., 2014). Jiná studie uvádí, že objem bazálních ganglií a frontální bílé hmoty koreluje s trvalou vizuální pozorností a motorickým výkonem pacientů intoxikovaných metanolem (Mana et al., 2019).

Dlouhodobé neurologické následky akutní otravy metanolem mohou způsobovat sníženou pohyblivost, potíže s chůzí, chronickou bolest končetin i problémy v sociálním životě, nižší šanci na opětovné získání stejné pracovní pozice a potřebu zdravotně sociální rehabilitace (Bezdicek et al., 2017; Peterova et al., 2018; Zakharov et al., 2019; Rulisek et al., 2020). Proto včasná a účinná léčba intoxikace metanolem a minimalizace sekundárního poškození zraku a nervového systému zůstávají výzvou pro zdravotníky na celém světě (Halavaara et al., 2002; Hovda et al., 2004; Hubacek et al., 2015).

Dlouhodobé CNS a zrakové následky otravy metanolem výrazně snižují kvalitu života pacientů přeživších akutní otravu (Rulisek et al., 2020). Prevalence CNS následků u pacientů, kteří přežili intoxikaci metanolem, je však často podhodnocena (Paasma et al., 2009). Dosud publikované retrospektivní studie zahrnovaly malý počet případů s CT nebo MRI vyšetřením mozku provedeným v akutním stavu, chyběly kontrolní vyšetření při propuštění a v letech následujících po propuštění z nemocnice.

2.5 Zobrazovací a funkční vyšetření bazálních ganglií

2.5.1. Magnetická rezonance a MR-volumetrie bazálních ganglií

Typickými nálezy na MRI a CT u pacientů intoxikovaných metanolem jsou ložiska bilaterální nekrózy bazálních ganglií, někdy s krvácením, a hemoragické léze v subkortikální bílé hmotě (Kim et al., 2006; Jain et al., 2013; Vaneckova et al., 2015). Méně často se na MRI vyskytuje poškození v oblasti globus pallidus, nucleus caudate, thalamu, mozečku, mozkového kmene, pons a mozkové kůry, dále atrofie zrakového nervu (McLean et al., 1980; Kuteifan et al., 1998; McNeill et al., 2008).

Nejčastějším nálezem na MRI je oboustranná nekróza putamen, které je predilekční oblastí při otravě metanolem (Vaneckova et al., 2019). CT i MRI zobrazují podobné nálezy v oblasti putamen, MRI však lépe zobrazí anatomické detaily a může odhalit i malé hemoragické léze (Koopmans et al., 1988). Relativně časté je i selektivní postižení globus pallidus a v případě jeho léze je nutné zvážit možnost intoxikace metanolem (Vaneckova et al., 2015).

Poškození bílé hmoty v subkortikální oblasti a zároveň oboustranné léze v putamen bilaterálně jsou známkami závažné metanolové toxicity (Kuteifan et al., 1998). Ve studii provedené Taherim a kol. (2010) bylo vyhodnoceno 42 případů intoxikace metanolem a bylo zjištěno, že u pacientů, kteří zemřeli, bylo častěji diagnostikováno krvácení do putamen a nekrózy v subkortikální oblasti. Aquilonius a kol. (1980) uvedl, že existuje zřejmý vztah mezi stupněm nekrotických změn v putamen a výsledným klinickým stavem pacienta.

Ve studii Sefidbakhta a kol. (2007) z 9 pacientů intoxikovaných metanolem dva pacienti s nejtěžšími radiologickými nálezy zemřeli. Jednalo se o nálezy bilaterální nekrózy putamen, difúzních hypodenzních ložisek bílé hmoty a bilaterální okcipitální nekrózy u prvního pacienta a nálezy difúzní hypodenzity mozkového parenchymu a generalizovaného subarachnoidálního krvácení u pacienta druhého. Bilaterální hemoragická nekróza putamen a nucleus caudate, subkortikální nekróza, oboustranná symetrická nekróza v oblasti tegmenta a optických nervů jsou negativními prognostickými nálezy na MRI (Gaul et al. 1995).

Oboustranná nekróza putamen se považuje za charakteristický nález na MRI u otravy metanolem, ale vyskytuje se i u choroby Wilsonovy, Leighovy choroby, Kearns-Sayneho syndromu a striatální degenerace spojené s Leberovou optickou atrofií (Lawlen et al., 1983; Seidenwurm et al., 1986; Koopmans et al., 1988). Také intoxikace oxidem uhelnatým, hypoxicko-ischemická encefalopatie a akutní intoxikace kyanidem mohou vést k poškození

putamen a je třeba je zvážit v diferenciální diagnostice (Glazer et al., 1996; Comoglu et al., 2001; Server et al., 2003).

Ke kvantitativnímu hodnocení změn v různých mozkových strukturách se stále častěji využívá MRI-volumetrická analýza mozku. Pacienti se známkami metanolem indukovaného poškození mozku mají na MRI výrazně snížené objemy bazálních ganglií. K nejvýznamnějším změnám dochází v putamen (Vaneckova et al., 2019). V postižené oblasti vzniká edém a později nekróza, gliová jizva a postmalatické pseudocysty, které vedou ke sníženému objemu mozkových struktur (Viola et al., 2000). Bylo prokázáno, že objem bazálních ganglií koreluje se závažností metabolické acidózy a zároveň objem putamen koreluje s tloušťkou RNFL na OCT (Hlusicka et al., 2020).

2.5.2. Vyšetření distribuce a denzity dopaminového transportéru jednofotonovou emisní výpočetní tomografií (DaT SPECT)

Do putamen je axonálním prouděním transportován dopamin syntetizovaný v substantia nigra pars compacta (Luo et al., 2019). Striatum (putamen a nucleus caudate) tvoří spolu se substantia nigra, thalamem a frontální oblastí mozku kortiko-striato-thalamo-kortikální smyčku (Haber, 2016). Proto poškození putamen, ke kterému dochází v důsledku poklesu počtu neuronů, může ovlivnit různé oblasti mozku.

Dopaminový transportér (DaT) je protein nacházející se v membráně dopaminergních buněk. Uspodňuje opětovné vychytávání dopaminu v presynaptických nervových zakončeních. Moderní zobrazovací techniky používají ^{123}I -ioflupan pro označení DaT a umožňují hodnotit dopaminergní funkce pomocí jednofotonové emisní výpočetní tomografie (DaT SPECT) (Darcourt et al., 2010). Absorbce ^{123}I -ioflupanu ve striatu odpovídá počtu funkčních dopaminergních neuronů v substantia nigra pars compacta (Colloby SJ, et al., 2012; Kordower, 2013).

Zobrazení vychytávání radiofarmaka ve striatu se využívá v diagnostice idiopatického parkinsonismu (například Parkinsonova nemoc, multisystémová atrofie, progresivní supranukleární obrna, demence s Lewyho tělísky) a jako diagnostický test pro odlišení nigrostriatální degenerace od zachovalé dopaminergní funkce (například u esenciálního třesu) v klinicky nejistých případech podezření na Parkinsonův syndrom (Sixel-Döring et al., 2011; Mirpour et al., 2018).

Zatím byly publikovány jen jednotlivé případy intoxikovaných pacientů, u kterých se vyšetřovala a posuzovala funkce dopaminergního systému ve striatu pomocí funkčních

zobrazovacích metod (Airas et al. 2008, Doe de Maindreville et al., 2017). Nicméně, nebyly provedeny žádné systematické studie, které by se tomuto tématu věnovaly. Proto zatím není jasné, zda se nekróza v oblasti putamen u intoxikovaných pacientů projeví úbytkem striatální DaT vazby v důsledku axonální denervace.

Zároveň není známo, jestli existuje souvislost mezi objemy putamen, nucleus caudate, globus pallidus stanovenými pomocí MRI-volumetrie a specifickými vazebnými poměry (SBR) zjištěnými pomocí ¹²³I-ioflupane na DaT SPECT. Dále také nebylo prokázáno, zda existuje souvislost mezi kvantitativními parametry DaT SPECT a závažností otravy, prognostickými faktory a aplikovanými léčebnými metodami.

2.6. Postižení periferní nervové soustavy následkem akutní intoxikace metanolem

V současné době neexistují studie, které by se systematicky a dlouhodobě zabývaly působením akutní intoxikace metanolem na periferní nervy pacientů v letech následujících po propuštění z nemocnice. Spojitost klinicky významné periferní polyneuropatie (PNP) s profesní expozicí organickým rozpouštědlem obsahujícím metanol zůstává nejasná (Albers et al., 1999; Hageman et al., 1999). Jsou popsány jen vzácné klinické případy chronické motorické dysfunkce a PNP po akutní otravě metanolem (Guggenheim et al., 1971; Quartarone et al., 2000; Chiò et al., 2004; Jarwani et al., 2012). V kohortové studii Paasma et al. se u 8/27 (30 %) pacientů, kteří přežili otravu metanolem, vyvinula PNP za šest let po propuštění z nemocnice (Paasma et al., 2009).

Gille a kol. (1998) popsali případ, u kterého se kromě známých neurologických následků vyvinula chronická motorická neuropatie s PNP. Jiná z kazuistik uvedená v literatuře se týká 34letého pacienta, který náhodně požil metanol a jiná rozpouštědla a u kterého se objevila porucha motorických neuronů, podobná amyotrofické laterální skleróze. S ohledem na věk pacienta, rodinnou anamnézu, absenci jiných neurologických poruch a nástup klinických obtíží byla tato porucha vyhodnocena jako následek akutní otravy metanolem (Chiò et al., 2004).

Jarwani a kol. (2012) uvádějí případ 26letého pacienta, u kterého se zároveň vyvinula porucha centrálního i periferního nervového systému. U pacienta s bilaterální optickou neuropatií se objevila radikulopatie a PNP doprovázená axonopatií. MRI zobrazující centrální nervový systém odhalila nekrózu putamen. Na elektromyografickém vyšetření (EMG) byla zjištěna senzorická i motorická PNP, která byla doprovázena sekundární axonopatií, a časná polyradikulopatie, zejména na dolních končetinách. Navzdory podpůrné terapii kortikosteroidy

a kyselinou listovou nebylo pozorováno žádné zlepšení sensorických ani motorických funkcí (Jarwani et al., 2012).

Experimentální studie na potkanech neprokázaly přímý účinek akutní expozice metanolu na neuromuskulární funkce, ale tyto studie mají svá omezení, protože hlodavci ve srovnání s lidmi rychleji odbourávají metanol a mají větší zásobu folátu (Moral et al., 2015).

Jedinou kohortovou studii periferní PNP u pacientů, kteří přežili akutní otravu metanolem, publikoval Paasma et al. (2009). V této studii však nebyla provedena žádná EMG vyšetření a diagnóza byla stanovena na základě klinického neurologického vyšetření. Nebyla také uvedena souvislost s laboratorními toxikologickými a biochemickými údaji, ani souvislost se zrakovými a CNS následky metanolové intoxikace.

Tyto ojedinělé publikace mají značné limitace, protože na vzniku PNP se mohou podílet další faktory. Například účinek dalších látek obsažených ve směsích rozpouštědel (Albers et al., 1999; Hageman et al., 1999; Chiò et al., 2004; Sainio, MA, 2015) chronické zneužívání alkoholu (Monforte et al., 1995), deficit vitaminů B₁₂ a B₁, který může být projevem chronického alkoholismu a/nebo malnutrice (Chi-Ren et al., 2011), nedostatečně kompenzovaný diabetes mellitus (DM) nebo nedostatečně substituovaná hypofunkce štítné žlázy (Johannsen et al., 2001; El-Salem et al., 2006).

Limitující jsou i neúplné biochemické a toxikologické údaje, absence základního EMG vyšetření a systematického sledování, především však velmi omezený počet pacientů. V literatuře také nejsou k dispozici žádné údaje o tom, zda závažnost akutní otravy metanolem a charakter očního a mozkového poškození způsobeného metanolem mohou mít vliv na pozdější vývoj periferní PNP u pacientů intoxikovaných metanolem.

3. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Cílem této závěrečné práce bylo zhodnotit prevalenci, charakter a dynamiku dlouhodobých neurologických následků akutní otravy metanolem během let následujících po intoxikaci.

Disertační práce je zaměřená na sledování poškození centrálního i periferního nervového systému následkem akutní expozice metanolu a zabývá se následujícími úkoly:

1. Stanovením prevalence, charakteru a dynamiky hemoragických a nehemoragických mozkových lézí pacientů intoxikovaných metanolem v průběhu šesti let po propuštění z nemocnice.
2. Posouzením souvislostí mezi výskytem CNS následků intoxikace a parametry závažnosti otravy metanolem, prognostickými faktory, terapeutickými metodami a zrakovými následky intoxikace.
3. Zhodnocením významu zobrazovacích a funkčních vyšetřovacích metod v diagnostice dlouhodobých CNS následků akutní intoxikace metanolem (MRI, DaT SPECT).
4. Zjištěním souvislosti mezi nálezy periferní PNP na EMG a parametry závažnosti intoxikace, souvislosti s dalšími diagnózami a souvislosti se zrakovými a CNS následky metanolové intoxikace. Na základě těchto údajů je mým úkolem posoudit, zda akutní intoxikace metanolem může způsobit periferní PNP v letech následujících po intoxikaci.

4. SOUBOR PACIENTŮ A METODIKA

Údaje k této práci jsem získávala na základě dlouhodobého sledování pacientů s potvrzenou diagnózou akutní intoxikace metanolem, kteří byli léčeni v nemocnicích během hromadné otravy metanolem v České republice od září do prosince 2012. V této době bylo v nemocnicích v naší republice léčeno celkem 108 osob akutně intoxikovaných metanolem, z toho 84 pacientů intoxikaci přežilo.

V rámci této prospektivní longitudinální jednocentrové kohortové studie jsme tedy vyšetřovali pacienty, kteří byli propuštěni z nemocnice s diagnózou akutní intoxikace metanolem a kteří souhlasili s účastí v naší studii. Jednalo se o 55 pacientů (průměrný věk $47,9 \pm 3,6$ let; 9 žen). V době hospitalizace byli pacienti léčeni dle doporučení Evropské asociace toxikologických center a klinických toxikologů a doporučení Americké akademie klinické toxikologie (Barceloux et al., 2002). Jako antidota byly použity blokátory ADH, etanol a fomepizol (4-metylpyrazol), byla substituována kyselina listová, pacienti s těžkou acidózou dostávali bikarbonát, z eliminačních metod byla použita intermitentní hemodialýza nebo kontinuální hemodialýza/hemodiafiltrace (Zakharov et al., 2012, 2014a,b).

Z hlediska neurologického, vyšetřovací protokol v době hospitalizace zahrnoval CT nebo MRI mozku. Pacienti, u kterých MRI nebo CT mozkové skeny odhalily léze bazálních ganglií, byli propuštěni s diagnózou následky na CNS způsobené akutní intoxikací metanolem. Pacienti, u kterých byly během hospitalizace zjištěny příznaky optické neuropatie s patologickými nálezy na zrkové ostrosti, perimetru, barevném vidění, kontrastní citlivosti a přetrvávajícími lézemi na fundoskopii, byli propuštěni s diagnózou zrkové následky akutní otravy metanolem.

Informace o klinickém stavu, výsledcích laboratorních vyšetření (pH arteriální krve, koncentraci metanolu a etanolu v séru, hladině glukózy, kreatininu, laktátu a další), výsledcích neurologického a očního vyšetření, použitých způsobech léčby a průběhu hospitalizace jsme získávali z propouštěcích zpráv pacientů.

Po propuštění z nemocnice byli pacienti, které jsme zařadili do studie, vyšetřeni celkem čtyřikrát během šesti let (3–8 měsíců a poté 2, 4 a 6 let po propuštění). Při těchto kontrolních vyšetřeních jim byla odebrána anamnéza, podstoupili laboratorní biochemická vyšetření, neurologické vyšetření (včetně MRI, SPECT, EMG) a oční vyšetření (včetně VEP a OCT). Studii schválila Etická komise Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a před vyšetřením byl od všech pacientů získán písemný informovaný souhlas.

Z 55 pacientů, kteří do studie vstoupili, bylo u 46 pacientů (střední věk 49, 35-57, 9 žen) provedeno MRI 3–8 měsíců a 24–28 měsíců po propuštění z nemocnice. MRI mozku bylo prováděno na přístroji Gyroscan Phillips 1,5 T (Royal Philips, Amsterdam, Nizozemsko) s následujícím protokolem: axiální T2 vážený obraz s tloušťkou řezu (THK) 6,0 / 0,6 mm v oblasti celého mozku s parametry: TR 4241 ms, TE 100 ms a FA 90 °; FLAIR: TR 11000 ms, TE 140 ms, TI 2800 ms a FA 90 °; vážený obraz T1: TR 569 ms, TE 15 ms a FA 69 °; T2 vážený obraz - FFE: TR 665 ms, TE 23 ms a FA 18 °; single-shot difúzně vážený obraz: TR 2901 ms, TE 75 ms a FA 90 °; a T1 vážený obraz po podání kontrastní látky Gd - DTPA a T2 vážený obraz s potlačením signálu tuku (SPIR) v koronárních řezech zaměřených na orbitální oblast: TR 5506 ms, TE 100 ms a FA 90 °. Všechna MRI data byla zpracována pomocí prototypového softwaru MorphoBox. Takto získané údaje umožnily odhadnout jednotlivé objemy struktury mozku v cm³ a relativní objemy jako procento z celkového intrakraniálního objemu (TIV).

Za pacienty s následky metanolové intoxikace na CNS byli považováni ti, u kterých byla na MRI přítomna symetrická nekróza bazálních ganglií a jiné poškození mozku (v mozkovém kmeni, nucleus caudate, mozečku, v subkortikální bílé hmotě a atrofie optického nervu) odpovídající diagnóze akutní otrava metanolem. U pacientů nebyla dříve diagnostikována neurologická, neurodegenerativní, neurovaskulární nebo psychiatrická porucha kromě chronického užívání alkoholu.

U 46 pacientů z této skupiny byl medián požitého objemu toxických lihovin 300 ml (rozmezí 50–2 000 ml). Alkoholické nápoje obsahovaly kolem 40 % alkoholu, z toho přibližně 50 % metanolu a 50 % etanolu. Pouze 10 (22 %) pacientů bylo diagnostikováno do 12 hodin po požití metanolu, 30 (66 %) do 48 hodin a tři pacienti (6 %) za více než 48 hodin. U dalších třech pacientů (6 %) nebylo možné spolehlivě určit dobu požití. V 22 (48 %) případech byla zjištěna anamnéza chronického abúzu alkoholu.

Pacienti byli podle výsledků MRI rozděleni do dvou skupin: ve skupině I byli pacienti s krvácením do mozku a ve skupině II pacienti bez krvácení do mozku. Skupina II byla dále rozdělena do dvou podskupin, na podskupinu „s nehemoragickými mozkovými lézemi“ a podskupinu „bez mozkových lézí“. Obě skupiny byly srovnávány z hlediska věku, antikoagulační léčby, klíčových laboratorních parametrů při přijetí (sérové koncentrace metanolu, mravenčanu, laktátu, glukózy, pH arteriální krve, bikarbonátu, deficitu bází), terapeutických intervencí (typu antidota, alkalizace a substituce folátu) a z hlediska přítomnosti zrakových následků otravy.

U 42 pacientů (průměrný věk $46,3 \pm 4,2$; 8 žen) bylo MRI mozku provedeno celkem čtyřikrát během šestiletého období a DaT SPECT (jednofotonová emisní počítačová tomografie se zobrazením dopaminových receptorů v mozku) dvakrát, čtyři a šest let po propuštění z nemocnice.

Pro DaT SPECT byl použit ^{123}I -ioflupan (DATSCANTM, GE Healthcare, B. V Eindhoven, Nizozemsko). Ioflupan je analog kokainu, který se s vysokou afinitou váže na presynaptické přenašeče dopaminu, a tak radioaktivně značený ^{123}I -ioflupan lze použít jako marker k vyšetřování integrity dopaminergních neuronů. Ioflupan se také váže na serotoninové přenašeče 5-HT neuronů, ale s nižší vazebnou afinitou. Dávkování a skenování bylo prováděno v souladu s doporučením výrobce. Snímky byly získány pomocí skeneru SPECT se dvěma hlavami, GE Infinia HawkEye4 (GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA) vybaveného paralelním kolimátorem. Zobrazování bylo zahájeno 3 hodiny po intravenózní bolusové injekci radiofarmaka se standardní aktivitou (185 MBq) a trvalo celkem 45 minut. K automatické semikvantitativní analýze obrazu se používal komerčně dostupný software DaTQUANTTM (GE Healthcare, Little Chalfont, UK), který vypočítal specifické vazebné poměry (SBR) pro striatum, nucleus caudate a putamen. Ty byly dále porovnávány s výsledky laboratorních vyšetření, objemovými údaji a s měřením tloušťky RNFL.

55 pacientů zahrnutých do studie podstoupilo jednou až čtyřikrát EMG. EMG bylo prováděno pomocí čtyřkanalového přístroje TrueTrace EMG CL 2. Cílem tohoto vyšetření bylo posoudit rychlosti vedení vzruchu a velikosti potenciálu elektrické odpovědi v motorických vláknech (n. tibialis bilat. a n. peroneus bilat.) i vláknech senzoričkových (n. suralis bilat.). Diagnóza periferní PNP byla stanovena na základě klinických příznaků a výsledků EMG vyšetření. Byly také identifikovány parametry, které nesouvisely s expozicí metanolu a mohly nepříznivě ovlivnit periferní nervový systém. Neurolog vyšetřující intoxikované pacienty, nebyl seznámen s jejich vstupními laboratorními výsledky, závažností otravy, klinickým průběhem, léčebnými opatřeními a výsledky vyšetření při propuštění z nemocnice.

Oftalmologické vyšetření obsahovalo standardní oftalmologické testy, OCT s měřením tloušťky RNFL prováděnou na přístroji „OCT Spectralis Tracking Laser Tomography“ (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Německo, software verze 5.8.3) a VEP měřené na přístroji TruTrace 4 Alien Technik CZ.

Laboratorní vyšetření zahrnovala vyšetření kompletního krevního obrazu, minerálů, jaterních testů, glukózy, glykovaného hemoglobinu, albuminu, pre-albuminu, ledvinných

a jaterních testů, cholesterolu, lipidů, thyreostimulačního hormonu, vitamínů B1 a B12, transferinu, karbohydrát-deficientního transferinu (CDT) a etylglukuronidu v moči.

Pacienti v rámci naší studie také vyplňovali anamnestický dotazník, dotazník kvality života SF-36 a podstoupili adiktologické vyšetření.

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1. Prevalence, charakter, dynamika a predisponující faktory hemoragických a nehemoragických lézí mozku způsobených akutní intoxikací metanolem (Publikace I)

5.1.1. Prevalence a dynamika hemoragických a nehemoragických mozkových lézí

Jedním z cílů mé závěrečné práce bylo zhodnotit prevalenci, závažnost a charakter i dynamiku poškození CNS u pacientů intoxikovaných metanolem.

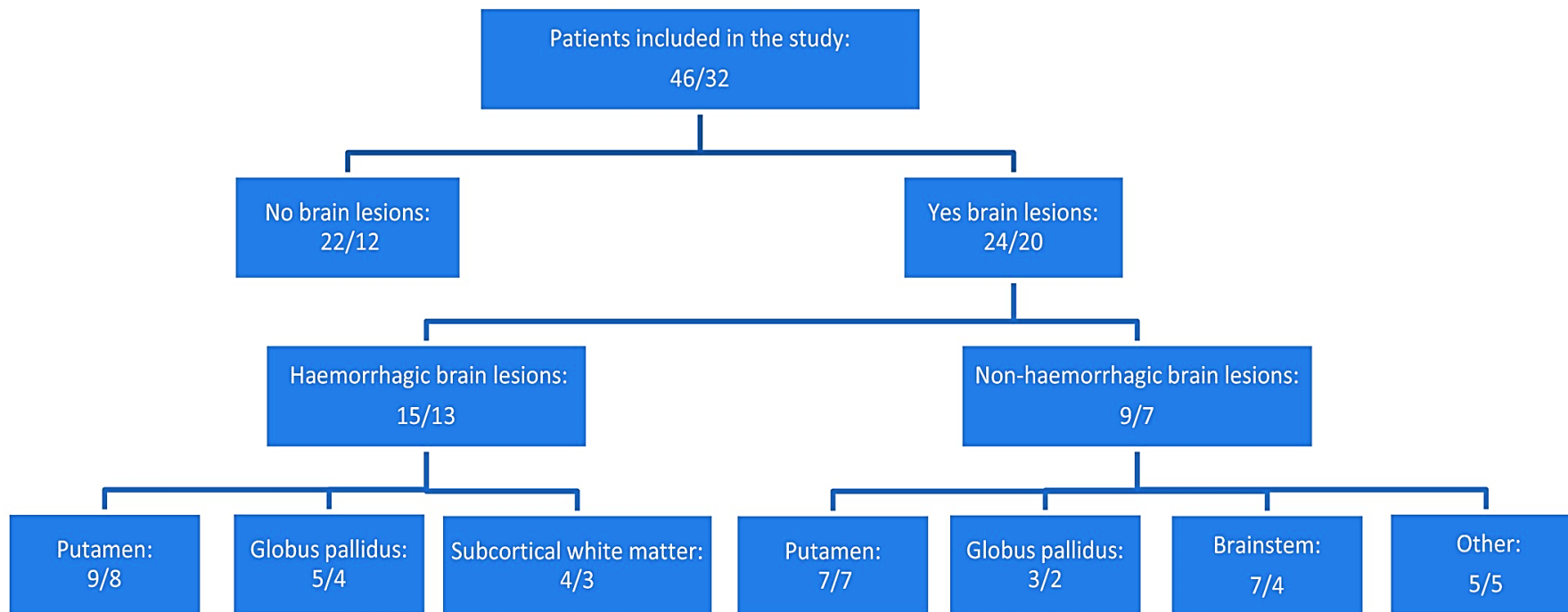
Z 55 pacientů, kteří souhlasili s účastí ve studii, bylo u 46 pacientů (střední věk 49, 35–57, 9 žen) MRI vyšetření provedeno 3–8 měsíců a 24–28 měsíců po propuštění z nemocnice. Ve sledovaném souboru mělo 24 (52 %) pacientů celkem 40 abnormálních nálezů v mozku odpovídajících CNS následkům akutní otravy metanolem. Hemoragické léze byly zjištěny u 15 ze 46 (33 %) pacientů a nehemoragické léze u 9 (19 %) pacientů. U pacientů se známkami poškození CNS byly hemoragické léze přítomny v 15 z 24 (63 %) případů.

Nejčastějšími lézemi nalezenými u 16 ze 46 (35 %) pacientů byly bilaterálně symetrické nekrotické léze putamen. U pacientů s nekrózou putamen byly hemoragické léze detekovány v devíti (56 %) případech. U zbývajících 7 (44 %) ze 16 pacientů nebyly v putamen nalezeny žádné známky krvácení.

Z 24 případů s CNS následky otravy metanolem na MRI bylo putamen poškozeno v 16 případech. Nicméně globus pallidus, mozkový kmen a subkortikální bílá hmota, zejména ve frontálních a parietooccipitálních oblastech, mohou být také postiženy. V těchto oblastech jsme na MRI detekovali celkem 19 patologických nálezů.

Nekrotické léze v globus pallidus jsme našli u 8 (17 %) pacientů, léze v mozkovém kmeni byly přítomny u 7 (15 %) pacientů a depozita v bílé hmotě s primárně subkortikální lokalizací u 4 (9 %) pacientů. Z osmi pacientů s nekrotickými lézemi v globus pallidus bylo krvácení přítomno v pěti (63 %) případech. Krvácení bylo dále diagnostikováno ve všech čtyřech případech se zjištěnými lézemi subkortikální bílé hmoty. Další nekrotické léze byly u 5 pacientů nalezeny v nucleus caudate, v mozečku a optickém nervu (Obrázek 1).

U 31 ze 46 (67 %) pacientů nebyly na MRI nalezeny žádné známky krvácení do mozku. 9 pacientů z 31 (29 %) mělo na MRI nehemoragické mozkové léze, z toho pět (16 %) pacientů symetrickou nekrózu putamen, dva (6 %) pacienti symetrickou nekrózu globus pallidus, jeden (3 %) lézi mozkového kmene a poslední pacient (3 %) jednostrannou atrofii optického nervu.



Obrázek 1. Diagram MRI nálezů v mozku u pacientů zahrnutých do studie. Číselník udává celkový počet případů a jmenovatel udává počet případů se systémovou antikoagulační léčbou.

Během hospitalizace s akutní intoxikací metanolem bylo ze 46 pacientů CT vyšetření mozku provedeno u 8 (17 %) pacientů s neurologickými příznaky. V pěti (11 %) případech bylo CT provedeno už při přijetí z důvodu bezvědomí. U všech pěti pacientů nebyla při přijetí nalezena žádná mozková léze a během hospitalizace nebylo provedeno kontrolní CT nebo MRI vyšetření. U třech (7 %) pacientů bylo CT provedeno později v průběhu hospitalizace kvůli bezvědomí nebo jiným neurologickým příznakům. U dvou z těchto pacientů se uskutečnilo ještě kontrolní MRI vyšetření mozku.

U pacienta s CT vyšetřením provedeným 5. den hospitalizace byla přítomna oboustranná nehemoragická nekróza putamen. Následné MRI vyšetření o 3 měsíce později odhalilo oboustrannou nekrózu putamen s krvácením.

V případě dalšího pacienta s CT vyšetřením provedeným 7. den a MRI mozku 14. den hospitalizace byla na CT přítomna bilaterální nehemoragická nekróza putamen a fokální subkortikální nekróza v okcipitální oblasti, na MRI o sedm dní později byla zjištěna progresse nálezu, nicméně nebyly nalezeny žádné známky krvácení do mozku.

V posledním případě, s CT vyšetřením 3. den a MRI vyšetřením 10. den hospitalizace, byly na CT nalezeny nekrotické léze bílé hmoty, léze mozkového kmene a symetrická nekróza putamen s významnou progresí na MRI 10. den hospitalizace, známky krvácení na MRI zjištěny nebyly.

U ostatních 38 (83 %) pacientů bylo první MRI zobrazení mozku provedeno až v rámci naší studie 3-8 měsíců po propuštění z nemocnice. U těchto 38 pacientů nebyly v době hospitalizace přítomny žádné neurologické příznaky, ale následné MRI vyšetření odhalilo krvácení do mozku u 11 (29 %) z nich.

Ačkoli známky nekrotických lézí v bazálních gangliích byly na CT/ MRI nalezeny během prvních 2–3 dnů hospitalizace, krvácení se zjevně objevilo později, po 10–14 dnech hospitalizace.

Dynamika změn na CT a MRI vypovídá o možném vývoji mozkových lézí u závažně intoxikovaných pacientů. Prvním stadiem vývoje mozkových změn je pravděpodobně edém v subkortikální bílé hmotě a bazálních gangliích, dále vznikají ložiska nehemoragické nekrózy, ve kterých může postupně během několika dnů, i po úplné eliminaci kyseliny mravenčí a úpravě

acidózy, dojít k pozdnímu krvácení. To by bylo možné vysvětlit tím, že kyselina mravenčí může působit jako spouštěč patologických jevů uvnitř buněk, které později vedou k degeneraci neuronů a vzniku nekrózy v průběhu dnů až týdnů po ukončení akutní expozice toxickým látkám. Na těchto procesech se mohou podílet mechanismy oxidačního stresu (Zakharov et al., 2017b).

Krvácení do mozku je v literatuře popsáno jako **vzácná** komplikace akutní otravy metanolem související se systémovou antikoagulační léčbou během hemodialýzy (Taheri MS, et al., 2010, i Vyas et al., 2009). V naší studii se hemoragické léze vyskytovaly **častěji** než nehemoragické. Nejčastějším místem krvácení do mozku bylo putamen, ale časté byly také hemoragické léze v globus pallidus a subkortikální bílé hmotě. Proto spíše než „vzácnou komplikaci léčby“ představuje tento stav typický nález na MRI u pacientů intoxikovaných metanolem. Krvácení v nekrotických oblastech je možnou pozdní fází vývoje poškození mozku v případech těžké otravy metanolem.

Výsledky druhého následného MRI vyšetření 24–28 měsíců po propuštění z nemocnice neodhalily známky progresu, ani regrese hemoragických i nehemoragických mozkových lézí zjištěných při prvním následném MRI vyšetření. Jedinou výjimkou bylo u jednoho pacienta zmizení malého ohniska nekrózy mozkového kmene zjištěného při prvním následném vyšetření.

5.1.2. Predisponující faktory hemoragických mozkových lézí

V rámci naší studie jsme zjistili, že pacienti s hemoragickými mozkovými lézemi byli vážněji intoxikováni, protože měli při přijetí závažnější acidémii a byl jim častěji podáván bikarbonát než pacientům bez následků na CNS. Dále skupina s krvácením do mozku měla významně vyšší hladinu glukózy a laktátu v séru než skupina pacientů bez hemoragických lézí. Vstupní laboratorní údaje jednotlivých skupin pacientů jsou uvedeny v tabulce 1.

Vyšší sérové hladiny glukózy a laktátu mohly vypovídat o hlubší a delší hypoxii a vážnějším poškození nejen neuronů, ale také oligodendrocytů pacientů, u kterých došlo později ke krvácení do mozku v primárně nehemoragických ložiskách nekrózy (Pantoni L, et al. 1996; Ueno M, et al., 2002).

Byly zjištěny významné pozitivní korelace mezi přítomností nekrózy putamen a MRI známkami krvácení do mozku ($r = 0,563$; $p < 0,0001$), mezi přítomností nekrotických lézí v globus pallidus a krvácením do mozku ($r = 0,415$, $p = 0,004$) a významné korelace mezi přítomností léze putamen a pH arteriální krve ($r = -0,568$; $p < 0,0001$), laktátem v séru ($r = 0,613$; $p < 0,0001$), hladinou glukózy ($r = 0,539$; $p < 0,0001$) a deficitem bází ($r = -0,423$; $p = 0,003$) při přijetí do nemocnice. Pacienti s hemoragickými lézemi mozku měli při přijetí také vyšší laktát v séru ($r = 0,379$; $p = 0,016$).

Kyselina mravenčí v séru byla při přijetí stanovena pouze u 26 ze 46 (57 %) pacientů, proto nemohla být dostatečně posouzena souvislost mezi hladinami mravenčanu v séru a charakterem poškození mozku. Tři pacienti s nejnižšími hladinami mravenčanu v séru a hemoragickými lézemi v mozku měli sérové koncentrace mravenčanu od 2,0 mmol/l do 8,7 mmol/l. Nicméně se v našem souboru vyskytli i pacienti s kyselinou mravenčí v séru vyšší než 15,3 mmol/l a dokonce 30,4 mmol/l při přijetí, kteří neměli žádné následky na CNS při následných MRI vyšetřeních.

Pacienti s krvácením do mozku byli starší a měli vyšší prevalenci komorbidit než pacienti bez hemoragických lézí nebo pacienti s nehemoragickými lézemi ($p = 0,034$ a $p = 0,001$), přesto jsme ale nenašli žádnou korelace mezi věkem a MRI známkami mozkového krvácení ($r = 0,101$; $p = 0,499$). Interval mezi požitím metanolu a zahájením léčby v nemocnici nebyl mezi oběma skupinami významný ($p = 0,494$).

Pacienti s krvácením do mozku byli při přijetí častěji v bezvědomí ve srovnání s pacienty bez mozkového krvácení. Koncentrace metanolu v séru neměla žádnou prognostickou hodnotu. Stejně tak vliv podávaného antidota (etanolu nebo fomepizolu) a substituce kyseliny listové na prognózu nebyl významný (Tabulka 1).

Ve skupině pacientů s krvácením do mozku se vyskytovalo dlouhodobé poškození zraku častěji ($p < 0,001$) než ve skupině pacientů bez hemoragických lézí a ve skupině pacientů s nehemoragickým poškozením CNS ($p = 0,015$, Tabulka 2), jak bylo prokázáno již dříve (Zakharov S, et al., 2015b; Zakharov et al., 2016; Nurieva O. et al., 2016).

Tabulka 1. Laboratorní hodnoty pacientů s akutní intoxikací metanolem při přijetí do nemocnice (mediány s IQR).

Skupina	Věk	Čas (h)	pH	pCO ₂ (kPa)	BD (mmol/L)	S-Laktát (mmol/L)	S-MetOH (mmol/L)	S-EtOH (mmol/L)	S-F (mmol/L)	S-G (mmol/L)
Skupina I	54	29	7,00	3,2	23,8	7,3	50	0,0	15,0	7,7
(n = 15; 2F)	49–58	12–48	6,82–7,20	2,8–4,5	12,5–29,1	1,7–7,7	36–67	0,0–6,1	7,6–17,6	6,4–15,2
Skupina II	39	24	7,27	3,7	14	1,8	23,4	2,2	14,0	6,2
(n = 31; 7F)	34–57	7–96	7,16–7,39	2,5–4,6	3,0–21,4	1,2–2,5	11,7–38	0–10,9	6,9–16,4	5,9–7,3
Skupina II _A	38	36	7,09	2,9	25,2	2,1	14	0,0	16,0	6,8
(n = 9; 3F)	32–40	7–96	7,02–7,25	2–3,7	13,9–25,6	1,2–3,7	13–87	0,0–2,2	14,5–19,3	6,1–9,1
Skupina II _B	49	24	7,28	4,0	11,0	1,7	25	5,2	11,7	6,1
(n = 22; 4F)	35–60	8–72	7,19–7,39	3,5–4,7	2,8–17,2	1,3–2,4	12–37	0,0–18,4	4,3–15,6	5,9–6,7
Celkem	49	30	7,20	3,6	17,0	1,9	29	1,7	14,5	6,5
(n = 46)	35–57	7–96	7,08–7,38	2,7–4,6	3,7–25,0	1,5–3,6	13–62	0,0–9,4	6,5–16,9	5,9–8,1
P _{I=II}	0,034	0,494	0,015	0,865	0,045	0,039	0,165	0,841	0,900	0,034

Poznámka: Hladina mravenčanu v séru byla stanovena v 26 ze 46 případů. Skupina I – pacienti s hemoragickými lézemi mozku; Skupina II – pacienti bez hemoragických lézí mozku; Skupina IIA – pacienti s nehemoragickými lézemi mozku; Skupina IIB – pacienti bez mozkových lézí; BD – deficit bázi; F – ženy; IQR – mezikvartilové rozpětí; S – MetOH – metanol v séru; S – EtOH – etanol v séru; S-G-glukóza v séru. S-F – mravenčan v séru, čas – čas od požití metanolu do začátku léčby. P – výsledky testu chí-kvadrát rozdílu mezi skupinami ($\alpha < 0,05$).

Tabulka 2. Klinické parametry při přijetí a léčba pacientů s akutní intoxikací metanolem.

Skupina	IE	C	VD	D	CP	S	Dialýza	Alkalizace	Foláty (AF/Leu)	Antidotum (E/FOM)
Skupina I (n = 15; 2F)	4 27%	6 40%	5 33%	4 27%	4 27%	1 7%	14 93%	13 87%	11 (7/4) 73% (47/26)	14 (10/4) 93% (66/27)
Skupina II (n = 31; 7F)	6 19%	1 3%	14 45%	10 32%	1 3%	1 3%	20 64%	14 45%	23 (12/11) 74% (39/35)	30 (24/6) 97% (77/20)
Skupina IIA (n = 9; 3F)	0 0	1 11%	6 67%	5 56%	0 0	1 11%	7 78%	5 56%	7 (4/3) 78% (44/34)	9 (6/3) 100% (67/33)
Skupina IIB (n = 22; 4F)	6 27%	0 0	8 36%	5 23%	1 5%	0 0	13 59%	9 41%	16 (8/8) 73% (36/36)	21 (18/3) 95% (82/13)
Celkem (n = 46)	10 22%	7 15%	19 41%	14 30%	5 11%	2 4%	34 74%	27 59%	34 (19/15) 74% (41/33)	44 (34/10) 96% (74/12)
$P_{I=II}$	0.573	0.001	0.445	0.699	0.017	0.592	0.037	0.007	0.950	0.592

Poznámka: Skupina I – pacienti s hemoragickými lézemi mozku; Skupina II – pacienti bez hemoragických lézí mozku; Skupina IIA – pacienti s nehemoragickými lézemi mozku; Skupina IIB – pacienti bez mozkových lézí; IE – opilost; C – kóma; VD – zrakové poruchy; D – dušnost; CP – bolest na hrudi; S – záchvaty; AF – kyselina listová; leu – leukovorin (folinát vápenatý); E – etanol; FOM – fomepizol; F – ženy; P – výsledky testu chí kvadrát rozdílů mezi skupinami.

Tato skutečnost potvrzuje, že krvácení do mozku se obvykle vyskytuje u nejzávažněji intoxikovaných pacientů s kombinovaným poškozením zrakového nervu, gangliových buněk sítnice a struktur mozku. Toto tvrzení podporuje i studie provedená Taherim a kol. (2010), ve které bylo vyhodnoceno 42 případů intoxikace metanolem a bylo zjištěno, že u pacientů, kteří zemřeli, bylo častěji diagnostikováno krvácení do putamen a nekrózy v subkortikální oblasti. Většina pacientů s krvácením do mozku (60 %) měla také během léčby závažné komplikace, jako je delirium, akutní pankreatitida, srdeční infarkt a srdeční selhání, asystolie s apnoe, plicní edém, pneumonie a sepse.

5.1.3. Vliv systémové antikoagulační léčby aplikované během hemodialýzy na vznik hemoragických lézí v mozku

Vliv systémové antikoagulační léčby na vývoj krvácení do mozku nebyl dosud jednoznačně stanoven. Někteří autoři se domnívají, že kombinace časného narušení hematoencefalické bariéry edémem a ischemií během prvních hodin až dnů hospitalizace, spolu s hypokoagulačním stavem v důsledku podávání heparinu během hemodialýzy, usnadňuje krvácení a vede k hemoragickým lézím mozku (Phang PT et al., 1988; 16, Giudicissi Filho M et al., 1995). Nicméně v našem souboru nebyla nalezena žádná zjevná souvislost mezi krvácením do mozku a systémovou antikoagulační léčbou podávanou během hemodialýzy. Krvácení do mozku se vyskytlo jak u pacientů se systémovou antikoagulační léčbou, tak bez ní.

Hemodialýza byla provedena u 34 ze 46 (73 %) pacientů a systémová antikoagulační terapie s vysokomolekulárním nebo nízkomolekulárním heparinem (LMWH) byla podána 31 ze 34 (91 %) dialyzovaných pacientů. Jeden pacient dostal během léčby LMWH z jiné indikace. Systémová antikoagulační léčba nebyla podána 14 ze 46 (30 %) pacientů. Regionální citrátová antikoagulace (RCA) byla podána u dvou (14 %) z těchto pacientů, jeden pacient (7 %) nedostal při hemodialýze žádnou antikoagulační léčbu. Zbývajících 11 (79 %) pacientů nepodstoupilo hemodialýzu ani jim nebyla podána žádná antikoagulační terapie (Tabulka 3).

Z 32 pacientů, kterým byl podán heparin a LMWH během léčby, mělo 13 (41 %) pacientů MRI známky krvácení do mozku. Ze 14 pacientů, kteří systémovou antikoagulační léčbu nedostávali, bylo u 2 (14 %) zjištěno krvácení do mozku ($p = 0,080$). U jednoho ze dvou pacientů léčených RCA došlo k multifokálnímu krvácení do mozku, byly zjištěny bilaterální hemoragické léze v putamen a několik subkortikálních hemoragických lézí v různých oblastech mozku. Dále jeden dialyzovaný pacient, který nedostával antikoagulační terapii, měl na MRI bilaterální hemoragické léze v globus pallidus.

Během léčby došlo ke krvácivým komplikacím u 4 z 15 (27 %) pacientů ze skupiny s krvácením do mozku. Jednalo se o epistaxi, slizniční krvácení, subkonjunktivální krvácení, krvácení do ledvinové cysty a hematému. Ve skupině pacientů bez MRI známek mozkového krvácení se během léčby neobjevily žádné krvácivé komplikace.

Tabulka 3. Antikoagulační léčba během hemodialýzy a hemoragické léze v mozku.

Skupiny	IHD	CVVHD/HD F/EDD	Žádná HD	Hepari LMWH	RCA	Žádná AK	BL	PL (HL/ NHL)	PaL (HL/ NHL)	OBR (HL/ NHL)	VS	
			n									
Skupina I (n = 15; 2F)	8 53%	6 40%	1 7%	11 74%	2 13%	1 6.5%	1 6.5%	4 27%	11 (9/2) 60%/13%	6 (5/1) 33%/7%	14 (4/10) 27%/67%	11 73%
Skupina II (n = 31; 7F)	12 39%	8 26%	11 35%	15 48%	4 13%	1 4%	11 35%	0 0	5 16%	2 6.5%	2 6.5%	12 39%
Skupina IIA (n = 9; 3F)	4 44%	3 33%	2 22%	6 66%	1 12%	0	2 22%	0 0	5 56%	2 22%	2 22%	5 56%
Skupina IIB (n = 22; 4F)	8 36%	5 23%	9 41%	9 41%	3 14%	1 4%	9 41%	0 0	0 0	0 0	0 0	7 32%
Celkem (n = 46)	20 43%	14 30%	12 26%	26 57%	6 13%	2 4%	12 26%	4 9%	16 (9/7) 20%/15%	8 (5/3) 11%/7%	16 (4/12) 9%/26%	23 50%
$P_{I=II}$	0,348	0,327	0,037	0,110	0,968	0,592	0,037	–	<0,0001	0,005	<0,0001	<0,0001

Poznámka: Skupina I - pacienti s hemoragickými lézemi mozku; Skupina II - pacienti bez hemoragických lézí mozku; Skupina IIA - pacienti s nehemoragickými lézemi mozku; Skupina IIB - pacienti bez mozkových lézí; F-ženy, IHD - intermitentní hemodialýza; CVVHD / HDF / EDD - kontinuální veno-venózní hemodialýza / hemodiafiltrace / prodloužená denní dialýza; LMWH - nízkomolekulární heparin; RCA - regionální citrátová antikoagulace; BL - krvácivé komplikace během léčby; PL – léze v putamen; PaL - léze v globus pallidus; OBR - další léze oblasti mozku; HL - hemoragické mozkové léze; NHL - nehemoragické mozkové léze; VS - dlouhodobé zrakové následky otravy, HD-hemodialýza; AK-antikoagulace, P - výsledky testu chí kvadrát rozdílu mezi skupinami.

Ve skupině pacientů s hemoragickými lézemi mozku mělo 5 z 15 (33 %) pacientů určité predispozice ke krvácení: hemoragickou cévní mozkovou příhodu v anamnéze (1 pacient, tj. 7 %), Mallory – Weissův syndrom s endoskopickou hemostázou rok před intoxikací (1 pacient, tj. 7 %), cirhózu s trombocytopenií při přijetí (1 pacient, tj. 7 %), a chronickou léčbu warfarinem, aspirinem a klopidogrelem (2 pacienti, tj. 14 %). Dále byla v této skupině přítomna alkoholická hepatopatie v 7 z 15 (47 %) případech, přechodná trombocytopenie během dialýzy byla zaznamenána v 5 z 15 (33 %) případech a arteriální hypertenze s epizodami vysokého krevního tlaku při přijetí a během léčby byla zjištěna u 9 z 15 (60 %) pacientů. Jiné než krvácivé komplikace se během léčby vyskytly u 9 z 15 (60 %) pacientů, jednalo se o delirium, akutní pankreatitidu, srdeční infarkt, srdeční selhání, asystolii s apnoe, plicní edém, zápal plic a sepsi.

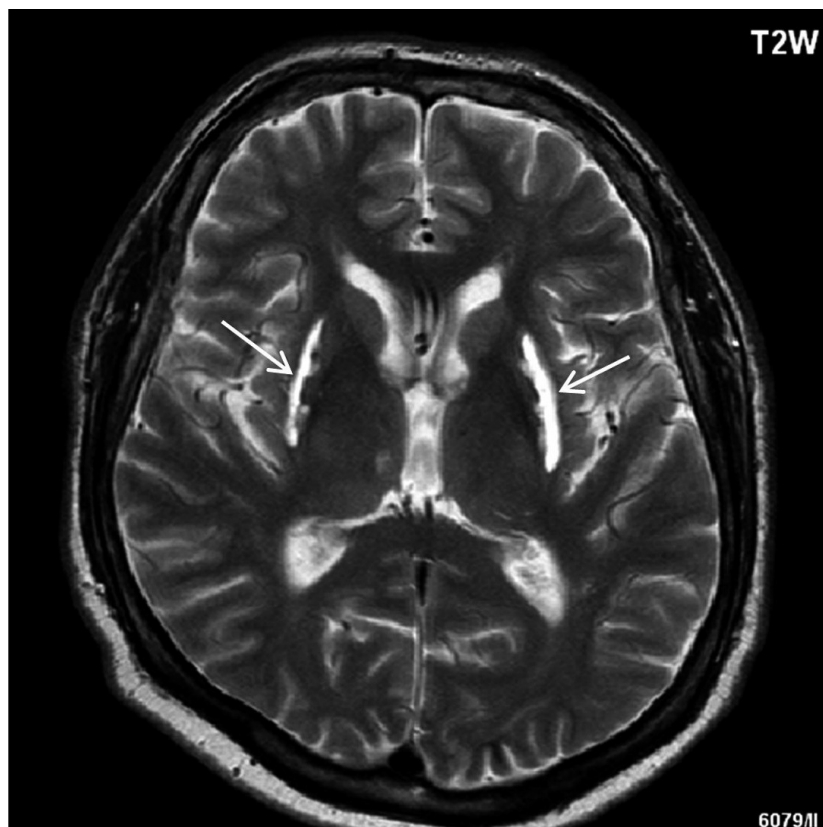
U pacientů s nehemoragickými lézemi CNS (n = 9) byl jeden (11 %) pacient dlouhodobě léčen warfarinem, ale INR při přijetí měl v normě (1,08). Alkoholickou hepatopatii měli 3 z 9 (33 %) pacientů, jeden (11 %) s mírnou trombocytopenií během léčby a 4 z 9 (44 %) pacientů trpěli arteriální hypertenzí s epizodami vysokého krevního tlaku při přijetí. V této skupině nebyly přítomny žádné další predisponující faktory pro krvácení. U 2 z 9 (22 %) pacientů se objevily jiné komplikace než krvácení.

U pacientů, kteří intoxikaci přežili bez poškození mozku (n = 22), užíval jeden pacient (5 %) chronicky aspirin kvůli fibrilaci síní (neměl trombocytopenii, měl normální INR a APTT), alkoholickou hepatopatii mělo 8 (36 %) pacientů, ve třech případech s mírnou trombocytopenií během léčby. U 10 z 22 (45 %) pacientů byla přítomna arteriální hypertenze s epizodami vysokého krevního tlaku při přijetí a během léčby. V této skupině pacientů se během léčby nevyskytly žádné krvácivé ani nekrvácivé komplikace.

U téměř 60 % pacientů se systémovou antikoagulační léčbou aplikovanou během hemodialýzy nebyly tedy nalezeny žádné hemoragické léze. Zároveň u 6 z 9 (67 %) pacientů s nehemoragickými nekrotickými lézemi byl během dialýzy podán heparin, aniž by to vedlo ke krvácení v nekrotických oblastech mozku.

Pravděpodobnost, že dojde ke krvácení v původně nehemoragických lézích, zřejmě nezávisí na systémové antikoagulační léčbě, protože i v případě masivních dávek heparinu, podávaných v bolusech, nebo kontinuálně, nedošlo v rozsáhlých bilaterálně nekrotických oblastech bazálních gangliích ke krvácení. Naopak, v případě aplikace RCA během

hemodialýzy bylo zjištěno multifokální krvácení do mozku s postižením bazálních ganglií a nekrotickými ložisky v subkortikální bílé hmotě (Obrázek 2 a 3).



Obrázek 2. Nehemoragická bilaterální symetrická nekróza putamen u pacienta léčeného masivními dávkami heparinu.

Jednalo se o pacienta s CT provedeným 7. den a MRI mozku 14. den hospitalizace, u kterého byla na CT skenu přítomna bilaterální nehemoragická nekróza putamen a fokální subkortikální nekróza v okcipitální oblasti. Další progresse nekrózy byla zjištěna na MRI o sedm dní později; nicméně nebyly nalezeny žádné známky krvácení do mozku. Při následném MRI vyšetření zůstávala rozsáhlá bilaterální symetrická nekróza putamen bez známek krvácení. Bylo zjištěno jen malé ohnisko krvácení v levé frontální subkortikální oblasti. Tento pacient byl závažně intoxikovaný a byl léčen kontinuální venovenózní hemodialýzou (CVVHD) a kontinuální venovenózní hemodiafiltrací (CVVHDF), které trvaly déle než 50 hodin. Během

kontinuální dialýzy mu byly opakovaně podávány bolusy 10 000, 8 000, 7500 a 3000 jednotek heparinu a mezi bolusy byly aplikovány kontinuální infuze s 5 000 jednotek heparinu. Tento pacient měl během léčby epizody přechodné trombocytopenie, epistaxe a prodělal sepsi. V rozsáhlých bilaterálních symetrických nekrotických lézích putamen však ke krvácení nedošlo.



Obrázek 3. Multifokální hemoragické léze mozku (čárkované šipky označují hemoragickou bilaterální symetrickou nekrózu putamen; plné šipky označují subkortikální hemoragické léze).

Jednalo se o pacienta, kterému bylo MRI vyšetření provedeno 3. a 10. den hospitalizace, u kterého bylo zjištěno více ohnisek edému bílé hmoty, rozsáhlý perikapsulární edém putamen, nekrotické léze bílé hmoty, léze mozkového kmene a symetrická nekróza putamen, s významnou progresí mezi 3. a 10. dnem. Na MRI mozku nebyly ale 10. den hospitalizace zaznamenány žádné známky krvácení. Během prvních dvou dnů hospitalizace byl pacient léčen 19hodinovou CVVHDF a byla mu aplikována RCA, heparin mu podáván nebyl. Na následných

MRI vyšetřeních mozku byly přítomny bilaterální symetrické hemoragické léze putamen a subkortikální hemoragické léze ve frontální a parietooccipitální oblasti.

Naše údaje proto nepodporují hypotézu, že systémová antikoagulační léčba během hemodialýzy je možnou příčinou krvácení do mozku. Pokud by k mozkovému krvácení došlo v důsledku antikoagulační léčby, očekávali bychom, že se hemoragické léze v mozku objeví v prvních 1–3 dnech po přijetí, kdy je aplikována hemodialýza se systémovou antikoagulační terapií a edém mozku a ischemie jsou maximální. V naší studii nebyly známky krvácení do mozku u pacientů zjištěny ani po 5, 10 a dokonce ani po 14 dnech hospitalizace, zatímco u všech těchto pacientů byly při následných MRI vyšetřeních diagnostikovány pozdní hemoragické léze.

I když se v naší studii u pacientů intoxikovaných metanolem nepotvrdil kauzální vztah mezi systémovou antikoagulační terapií aplikovanou během hemodialýzy, existují patologické stavy, které mohou usnadnit krvácení do mozku intoxikovaných pacientů: snížená krevní srážlivost spojená s vysokými dávkami vysokomolekulárního nebo nízkomolekulárního heparinu, hemoragická cévní mozková příhoda v anamnéze, krvácivé stavy jako Mallory-Weissův syndrom v anamnéze, alkoholická cirhóza nebo hepatopatie s trombocytopenií v anamnéze nebo při přijetí, chronická léčba warfarinem, aspirinem a klopidogrelem. V naší studii měla tyto predisponující faktory jedna třetina pacientů s hemoragickými lézemi.

5.2. Význam DaT-SPECT v diagnostice poškození bazálních ganglií (Publikace II)

Dalším z cílů mé disertační práce bylo posoudit, zda se ^{123}I -ioflupan SPECT (DaT SPECT) může uplatnit v diagnostice funkčního poškození bazálních ganglií způsobeného akutní intoxikací metanolem.

U 42 pacientů (střední věk 46, 3 ± 4.2 let; 8 žen) bylo vyšetření DaT SPECT provedeno celkem dvakrát během šestiletého sledování (čtyři a šest let po propuštění) a MRI mozku celkem čtyřikrát (3–8 měsíců, 2, 4 a 6 let po propuštění). U 15/42 pacientů (36 %) MRI mozku odhalila známky nekrotických lézí putamen (pacienti klasifikovaní jako skupina I), u 27 pacientů nebyly zjištěny žádné známky poškození putamen (pacienti klasifikovaní jako skupina II). Fokální nekrotické léze v globus pallidus byly nalezeny u 6 pacientů (14 %), 3 z nich měli zároveň nekrotické léze putamen.

Tyto dvě skupiny se mezi sebou nelišily věkem, pohlavím, podílem chronických uživatelů alkoholu ani podílem kuřáků. Pacienti s nekrotickými lézemi putamen diagnostikovanými na MRI byli závažněji intoxikovaní, měli nižší arteriální pH krve a nižší koncentraci bikarbonátu. Měli také vyšší deficit báží, aniontový gap a vyšší hladinu laktátu v séru, byli tedy ohroženi závažnější metabolickou acidózou. U všech pacientů přijatých v bezvědomí byly na MRI zjištěny nekrotické léze putamen. Mezi oběma skupinami nebyl pozorován žádný rozdíl v typu podávaného antidota (etanol, fomepizol) ani v podávání kyseliny listové (Tabulka 4).

MRI-volumetrie byla provedena u 35 pacientů (8 žen; $p = 0,682$), 13 z těchto pacientů mělo nekrotické léze putamen a 22 pacientů nemělo známky poškození putamen na MRI mozku ($p = 0,897$). U sedmi pacientů byla objemová měření technicky neproveditelná kvůli nízké kvalitě primárních zobrazovacích dat. Pacienti s mozkovými lézemi na MRI měli menší objem putamen, nucleus caudate a globus pallidus než pacienti bez mozkových lézí (Tabulka 4). U každého pacienta byl DaT SPECT proveden dvakrát ve stejném zdravotnickém zařízení za použití stejné kamery, hardwaru a protokolu akvizice/rekonstrukce, aby se minimalizovala variabilita.

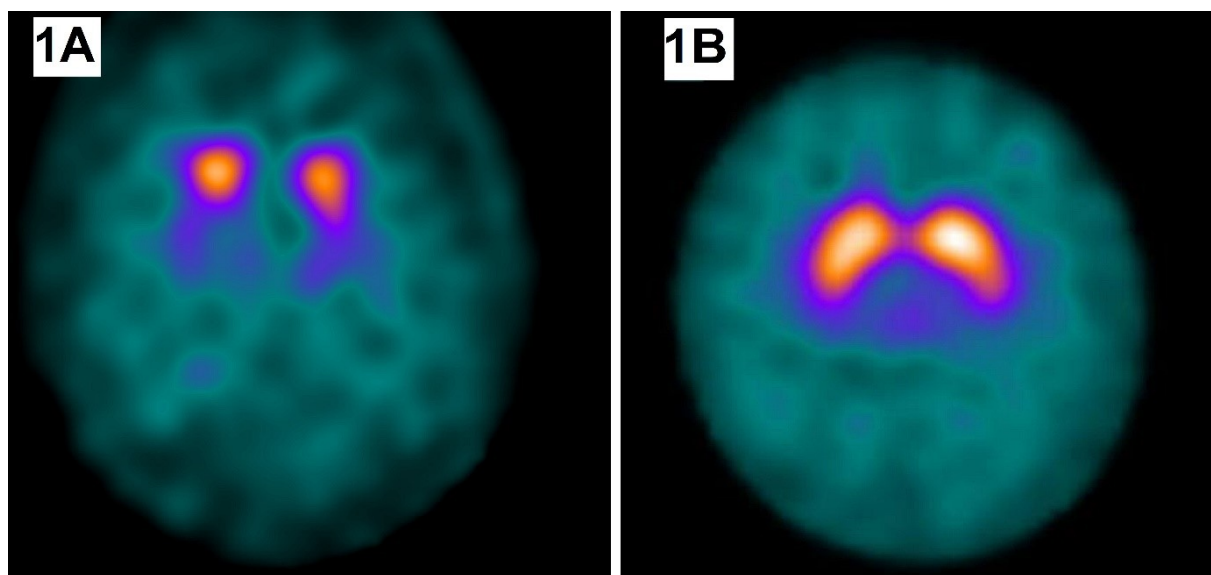
Tabulka 4. Základní demografické, klinické, laboratorní a MRI-volumetrické charakteristiky studované populace.

Charakteristiky	Pacienti (n = 42)	Skupina I (n = 15)	Skupina II (n = 27)	P
Věk (roky)	46,3±4,2	45,5±6,0	46,7±5,9	0,778
Muži, počet. (%)	34 (81)	12 (80)	3 (81)	0,912
Chronický alkoholismus, počet (%)	31 (74)	9 (60)	24 (89)	0,089
Kouření, počet. (%)	22 (52)	8 (53)	14 (52)	0,976
Čas v hodinách	32,1±4,7	30,5±8,9	32,9±6,0	0,643
Bezvědomí, počet (%)	7 (17)	7 (47)	0	--
CDT, %	3,8±1,4	3,0±2,5	4,2±1,8	0,405
S-MetOH, mg/L	1380,0±440,0	2020,0±990,0	1010,0±390,0	0,065
S-EtOH, mg/L	250,0±150,0	170,0±180,0	300,0±220,0	0,337
pH arteriální krve	7,17±0,07	6,97±0,11	7,29±0,04	<0,001
HCO ₃ ⁻ , mmol/L	11,4±2,3	6,2±3,1	14,5±2,6	<0,001
Deficit bazí, mmol/L	16,4±3,4	24,5±5,2	11,5±3,3	<0,001
Anion gap, mmol/L	27,7±3,1	33,5±6,4	24,6±3,0	0,006
S-Mravenčan, mg/L	590,0±150,0	650,0±280,0	550,0±200,0	0,566
S-Kreatinin, mcmol/L	93,0±11,0	112,0±24,0	81,9±7,0	0,024
S-Glukóza, mmol/L	8,1±1,2	10,4±2,9	6,8±0,7	0,024
S-Laktát, mmol/L	3,3±1,3	5,5±2,8	1,7±0,3	0,015
PSS 1/2/3, no. (%)	20/8/14 (48/19/33)	2/1/12 (13/7/80)	18/7/2 (67/26/7)	<0,001
Antidotum(etanol/fomepizol), počet (%)	30/12 (71/29)	8/7 (53/47)	24/5 (89/11)	0,073
Substituce foláty, počet (%)	32 (76)	12 (80)	20 (74)	0,638
HbA1c (%)	34,9±1,9	33,3±2,5	35,8±2,7	0,183
Vitamin B ₁₂ (mcmol/L)	424,0±75,0	520,0±190,0	371,0±57,0	0,133
Vitamin B ₁ (mcmol/L)	57,1±3,6	60,5±7,4	55,3±4,1	0,180
TSH (IU/L)	2,5±0,3	2,6±0,4	2,5±0,4	0,683
Objem pravého putamen, cm ³	6,01±0,31	5,68±0,63	6,21±0,35	0,107
Objem levého putamen, cm ³	6,34±0,45	5,58±0,96	6,78±0,39	0,027
Objem pravého ncl. caudate, cm ³	4,53±0,24	4,41±0,44	4,61±0,30	0,421
Objem levého ncl. caudate, cm ³	4,19±0,21	3,92±0,22	4,35±0,30	0,022
Objem pravého globus pallidus, cm ³	1,83±0,10	1,80±0,18	1,84±0,12	0,678
Objem levého globus pallidus, cm ³	1,79±0,11	1,66±0,14	1,86±0,15	0,049

Poznámka: Skupina I - pacienti s MRI známkami nekrotických lézí putamen; Skupina II - pacienti bez známek nekrotických lézí putamen; Věk - věk při přijetí do nemocnice; Kóma - přijat do nemocnice v bezvědomí; Čas v hodinách- časové rozpětí mezi expozicí metanolu a přijetím do nemocnice; CDT – karbohydrát- deficientní transferin; S-MetOH - koncentrace metanolu v séru při přijetí; S-EtOH - koncentrace etanolu v séru při přijetí; Koncentrace HCO₃⁻ - hydrogenuhličitanu při přijetí; S-mravenčan - koncentrace kyseliny mravenčí v séru při přijetí; PSS - skóre závažnosti otravy; GlycHb - glykovaný hemoglobin v séru; TSH – tyreotropní hormon. Údaje o MRI volumetrii jsou uvedeny pro 35 pacientů ze studované populace. Hladina významnosti je p <0,05 (tučná čísla).

Mezi oběma skupinami nebyl rozdíl v relativních signálech pozadí, což vylučovalo významné rozdíly v kvalitě obrazu. Posouzení reprodukovatelnosti mezi prvním a druhým vyšetřením ukázalo silnou shodu (korelační koeficienty pro SBR pro všechna VOI se pohybovaly od 0,853 do 0,933, všechny $p < 0,001$), proto byly pro studii použity průměrné kvantitativní hodnoty jako průměry prvního a druhého měření.

Vyšetření DaT SPECT prokázalo u pacientů s nekrotickými lézemi putamen signifikantně nižší střední SBR (specifické vazebné poměry) pro striatum a pro putamen bilaterálně, nikoli však pro nucleus caudate (Obrázek 4). Největší rozdíl v SBR byl pozorován u putamen posterior bilaterálně. Byla přítomna určitá asymetrie v SBR pro pravou a levou hemisféru s nižšími hodnotami pro levý putamen, ale rozdíl nebyl významný (Tabulka 5).



Obrázek 4. Příklad nálezů na DaT SPECT u pacienta s velmi závažnou (a) a méně závažnou otravou metanolem (b)

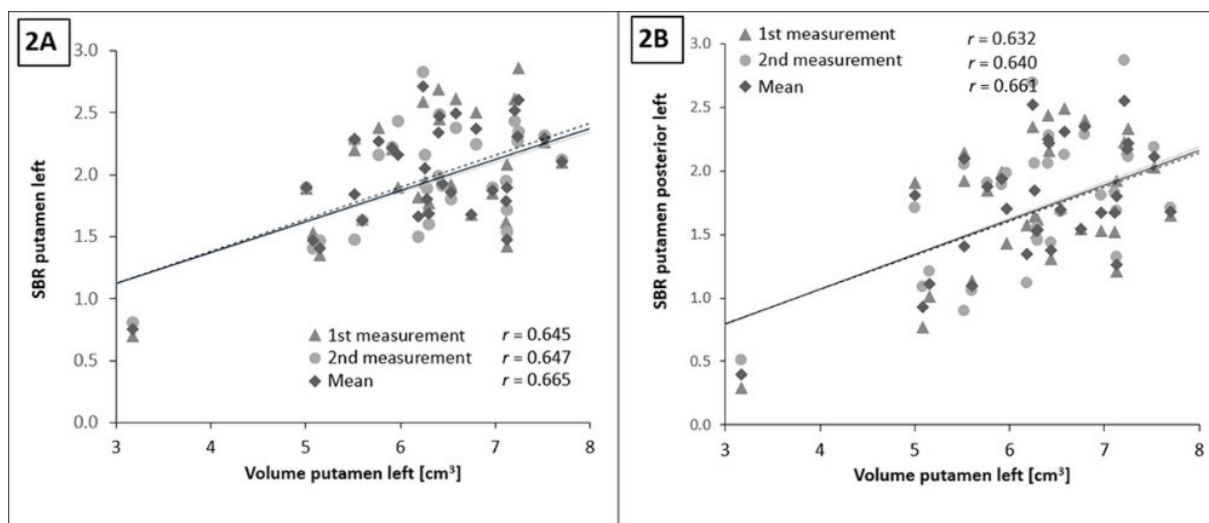
Tabulka 5. Specifické vazebné poměry (SBR) pro striatum, putamen a nucleus caudate u pacientů, kteří přežili akutní otravu metanolem.

Proměnné	Celkový počet pacientů (n = 42)	Skupina I (n = 15)	Skupina II (n = 27)	P
SBR pro striatum				
Striatum dexter	2,13±0,13	1,96±0,22	2,23±0,15	0,042
Striatum sinister	2,12±0,14	1,90±0,29	2,25±0,15	0,022
SBR pro putamen				
Putamen dexter	2,00±0,13	1,77±0,22	2,13±0,15	0,007
Putamen sinister	1,97±0,15	1,70±0,30	2,12±0,15	0,017
SBR pro nucleus caudate				
Nucleus caudate dexter	2,44±0,14	2,40±0,25	2,46±0,18	0,702
Nucleus caudate sinister	2,42±0,15	2,30±0,31	2,49±0,17	0,241
SBR pro putamen anterior				
Putamen anterior dexter	2,15±0,13	1,95±0,24	2,26±0,16	0,026
Putamen anterior sinister	2,11±0,14	1,89±0,30	2,23±0,15	0,023
SBR pro putamen posterior				
Putamen posterior	1,68±0,13	1,38±0,21	1,85±0,14	<0,001
Putamen posterior	1,70±0,16	1,34±0,30	1,90±0,16	<0,001

Poznámka: Skupina I – pacienti se známkami nekrotických lézí putamen na MRI; Skupina II – pacienti bez známek nekrotických lézí putamen na MRI. P hodnota – hladina významnosti je $p < 0,05$

Hodnoty SBR levého putamen významně pozitivně korelovaly s jeho objemem (Obrázek 5). Korelace mezi SBR a objemem pravého putamen byla významná pouze pro

putamen posterior ($r = 0,386$, $p = 0,022$). Objem levého, ale ne pravého globus pallidus pozitivně koreloval s SBR pro celý putamen ($r = 0,344$, $p = 0,043$) a pro putamen posterior ($r = 0,378$, $p = 0,025$). Ostatní korelace mezi SBR a objemy jednotlivých struktur nebyly významné. Výsledky SBR pro putamen prokázaly silnější korelace ve srovnání s SBR pro celé striatum.



Obrázek 5. Korelace mezi SBR a objemy levého putamen (a) a putamen posterior(b). SBR – specifické vazebné poměry.

Naše výsledky odhalily, že SBR pro putamen bylo významně nižší u pacientů se známkami nekrotických lézí na MRI a že tedy existuje korelace nálezů na DaT SPECT s objemovými parametry. Zatímco MRI-volumetrie zaznamenává velikost příslušných mozkových struktur, DaT SPECT odráží dopaminergní axonální dysfunkci ve striatu a vyšetření funkce dopaminergních terminálních axonů poskytuje nepřímé informace o počtu přežívajících GABAergních neuronů v putamen, zejména v jeho zadní části, kde jsou motorické obvody a kde se redukce dopaminových transportérů projeví nejzávažněji (Obrázek 4).

Dále, rozdíl v objemech pravého putamen na základě MRI vyšetření byl mezi oběma skupinami pod hladinou významnosti, avšak hodnoty SBR jasně prokázaly významné snížení dopaminergní aktivity v pravém putamen u pacientů ze skupiny I. Proto DaT SPECT může být srovnatelnou a v určitých situacích dokonce přesnější metodou než MRI volumetrie, pokud jde

o jeho schopnost identifikovat pacienty s toxickými lézemi putamen a kvantifikovat rozsah poškození. Jeden z důvodů je možné zkreslení výsledků MRI-volumetrie u pacientů s významně zjizvenými nebo deformovanými bazálními ganglii v důsledku reparace poškozené nekrotické tkáně gliální jizvou. Na druhou stranu je prostorové rozlišení SPECT obvykle horší než rozlišení MRI a pomocí SPECT není často možné detekovat malé fokální léze v mozku pacientů s méně závažnou otravou (Jakobson Mo S, et al, 2018).

Byla zjištěna významná pozitivní korelace mezi pH arteriální krve při přijetí, jako hlavním prognostickým parametrem otravy (Hlušička, 2020; Hovda KE, et al., 2005; Paasma R, et al. 2012), a SBR pro putamen ($r = 0,396$, $p = 0,012$; $r = 0,455$, $p = 0,004$ pro pravý a levý putamen). Nejsilnější korelace byla pozorována mezi pH arteriální krve a SBR pro putamen posterior bilaterálně (Obrázek 6).

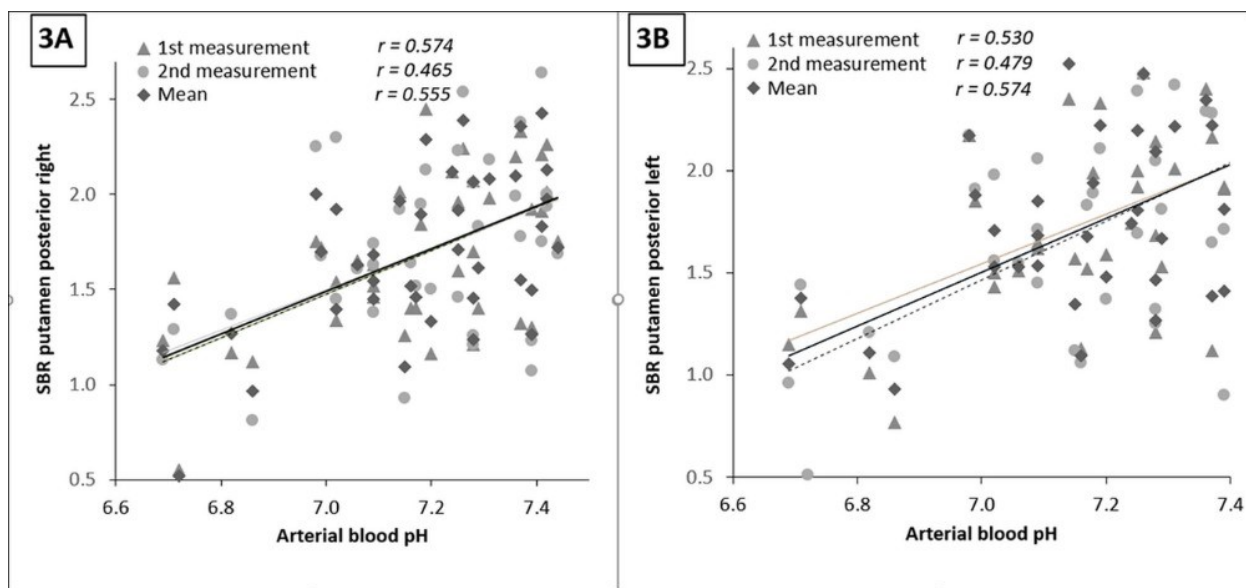
Toxický účinek kyseliny mravenčí, inhibitoru mitochondriálního dýchání, závisí na stupni metabolické acidózy: ve vysoce kyselém prostředí je kyselina mravenčí toxicitější než v méně kyselém. Disociační konstanta kyseliny mravenčí (pK_a) je 3,8, proto pokles pH o 0,3 zdvojnásobí hladinu nedisociované kyseliny mravenčí a způsobí významné zvýšení toxicity, protože pouze nedisociovaná kyselina mravenčí projde hematoencefalickou bariérou a dostane se k neuronům bazálních ganglií (Liesivuori et al., 1991; Zakharov et al., 2016).

Koncentrace laktátu v séru při přijetí silně negativně korelovala s SBR putamen oboustranně ($r = -0,474$, $p = 0,006$; $r = -0,435$, $p = 0,013$ pro pravý a levý putamen). Nejsilnější korelace byla opět zjištěna pro putamen posterior ($r = -0,596$, $p < 0,001$; $r = -0,533$, $p = 0,002$, pro pravý a levý putamen posterior).

Nálezy SBR pro putamen posterior bilaterálně negativně korelovaly také s dalšími prognosticky významnými laboratorními parametry – akutní stresovou glykemií ($r = -0,504$, $p = 0,001$; $r = -0,468$, $p = 0,002$ pro pravý a levý putamen posterior) a s koncentrací kreatininu v séru, jako indikátoru akutního poškození ledvin u závažně intoxikovaných pacientů ($r = -0,353$, $p = 0,025$; $r = -0,350$, $p = 0,027$ pro pravý a levý putamen posterior).

Nebyly zjištěny žádné korelace mezi SBR a koncentracemi metanolu, etanolu nebo kyseliny mravenčí v séru ($p > 0,05$). Dále jsme nenašli žádnou významnou asociaci mezi typem antidota podávaného v nemocnici (etanolem nebo fomepizolem), substitucí folátu a SBR pro všechny oblasti zájmu (VOI) hodnocené v naší studii ($p > 0,05$). SBR pro striatum, putamen a

nucleus caudate v obou hemisférách nekorelovalo s časem mezi expozicí metanolu a přijetím do nemocnice ($p > 0,05$).



Obrázek 6. Korelace mezi pH arteriální krve při přijetí a specifickými vazebnými poměry (SBR) pro pravý (a) a levý (b) putamen posterior.

Nebyla také zjištěna žádná asociace mezi glykovaným hemoglobinem, TSH, koncentracemi vitamínu B12 a SBR pro všechny hodnocené VOI. I když nebyly nalezeny významné rozdíly mezi koncentracemi vitamínu B1 v séru pacientů s nekrotickými lézemi putamen a pacientů bez poškození putamen, byla zjištěna negativní korelace s SBR pro putamen ($r = -0,314$, $p = 0,043$; $r = -0,382$, $p = 0,013$, pro pravý a levý putamen), s nejsilnější korelací mezi SBR a levým putamen posterior ($r = -0,421$, $p = 0,005$).

Abnormální tloušťka RNFL na optické koherentní tomografii v důsledku toxického účinku kyseliny mravenčí na gangliové buňky sítnice, následovaná chronickou neurodegenerací sítnice, byla dříve popsána u pacientů, kteří přežili akutní otravu metanolem (Nurieva et al., 2018). Měření DaT SPECT odhalilo pozitivní korelaci mezi tloušťkou RNFL a SBR pro putamen posterior.

Nález SBR pro putamen posterior bilaterálně pozitivně korelovaly s globální a nazální RNFL levého oka (pro globální RNFL: $r = 0,358$, $p = 0,027$ a $r = 0,376$, $p = 0,020$; pro nazální RNFL: $r = 0,362$, $p = 0,025$ a $r = 0,382$, $p = 0,018$ pro pravý a levý putamen). Korelace mezi hodnotami SBR a RNFL pravých očí však nebyly významné. Toto zjištění naznačuje, že OCT s měřením RNFL lze použít jako spolehlivou, levnou a jednoduchou screeningovou metodu, pomocí které lze detekovat skupinu přeživších otravu metanolem s možným poškozením bazálních ganglií. V této skupině lze k ověření diagnózy použít DaT SPECT se 123I-ioflupanem.

Byla zjištěna významná pozitivní korelace mezi chronickým zneužíváním alkoholu a SBR pro pravé, ale ne pro levé putamen posterior ($r = 0,327$, $p = 0,037$; $r = 0,286$, $p = 0,070$ v daném pořadí). Dále pozitivní korelace mezi kouřením a SBR pro celé striatum ($r = 0,319$, $p = 0,042$; $r = 0,325$, $p = 0,038$ pro pravou a levou hemisféru) a pro nukleus caudate ($r = 0,327$, $p = 0,037$; $r = 0,348$, $p = 0,026$ pro pravou a levou hemisféru). SBR pro putamen se však mezi kuřáky a nekuřáky významně nelišily ($p > 0,05$).

K hodnocení SBR jako markeru poškození putamen u přeživších otravu metanolem byla použita ROC křivka (receiver operating characteristic) a plocha pod ROC křivkou neboli AUC (area under the curve). ROC analýza SBR pro putamen posterior a celý putamen (průměr pravé a levé strany) prokázala významnou AUC s hodnotami 0,753 (95 % CI: 0,604–0,902; $p = 0,007$) a 0,746 (95 % CI: 0,595–0,897; $p = 0,009$) v uvedeném pořadí (Obrázek 7). Tato data naznačují, že SBR pro putamen a konkrétně pro putamen posterior, je potenciálně dobrým markerem poškození bazálních ganglií vyvolaného metanolem. Analýza ROC prokázala, že AUC pro SBR pro putamen anterior a celé striatum byly 0,709 (95 % CI: 0,549–0,868; $p = 0,027$) a 0,702 (95 % CI: 0,542–0,863; $p = 0,031$) v uvedeném pořadí. Naproti tomu AUC pro SBR nucleus caudate nebyla významná (AUC = 0,563; 95 % CI: 0,376–0,750; $p = 0,503$).

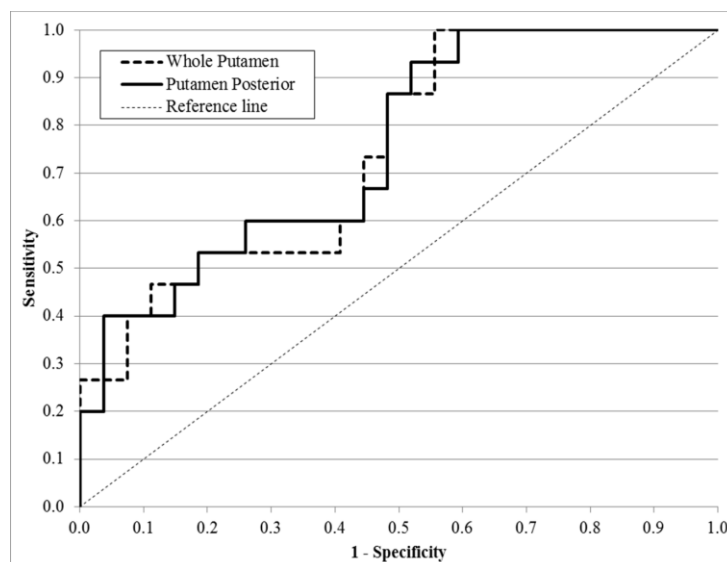
Pro DaT SPECT je popisována věková závislost jak u mužů, tak u žen (Varrone A, et al. 2013). V naší studii nebyla pozorována žádná korelace SBR pro striatum, putamen a nucleus caudate v obou hemisférách s věkem a pohlavím ($p > 0,05$). Absenci této korelace lze vysvětlit tím, že se jedná o věkově relativně mladou homogenní populaci (IQR 35–58 let), malou velikostí skupiny i tím, že poškození bazálních ganglií způsobené intoxikací metanolem překrývá změny související s věkem. Nicméně multivariační regresní analýza prokázala

souvislost SBR pro putamen posterior bilaterálně s věkem i pohlavím; prokázala, že pH arteriální krve, věk při přijetí do nemocnice a pohlaví, byly významnými asociačními faktory pro SBR pro putamen posterior bilaterálně u pacientů, kteří přežili akutní otravu metanolem (Tabulka 6).

Stejný model odpovídá i hodnotám pro celé putamen, ale míra asociace SBR s arteriálním pH krve a věkem je menší, protože hodnoty SBR pro putamen anterior vykazují nižší míru asociace s laboratorními parametry odrážejícími závažnost otravy metanolem než hodnoty pro putamen posterior.

V naší studii nebyly pozorovány žádné významné rozdíly v SBR pro nucleus caudate mezi pacienty s MRI známkami poškození bazálních ganglií a bez nich. Rozdíly v SBR pro putamen anterior mezi těmito dvěma skupinami pacientů byly menší než pro putamen posterior. Tato data mohou naznačovat, že přední části striata, které se účastní kognitivně náročných úkolů, jsou méně náchylné k toxicitě metanolu než zadní části, které se podílejí na základních pohybových vzorcích.

Výsledky naší studie se shodují s výsledky předchozích studií, které odhalily selektivní zranitelnost putamen posterior vůči hypoxicko-ischemickému poškození mozku, které podle vědců bylo způsobeno vaskulárními a biochemickými faktory (Shankaran S, et al, 1999).



Obrázek 7. Analýza ROC křivky SBR pro putamen jako markeru poškození bazálních ganglií u přeživších otravou metanolem. SBR – specifické vazebné poměry, ROC – provozní charakteristika přijímače.

Tabulka 6. Souhrn asociačních faktorů pro specifické vazebné poměry (SBR) pro putamen posterior, putamen anterior a celý putamen u pacientů, kteří přežili akutní otravu metanolem.

Proměnná	B	Standartní chyba	Beta	t	Signifik.	95% CI	
						Dolní mez	Horní mez
Putamen posterior dexter							
Konstanta	-5,65	1,99		-2,84	0,008	-9,70	-1,60
Arteriální pH	1,04	0,28	0,50	3,64	0,001	0,46	1,61
Věk	-0,01	0,01	-0,25	-2,06	0,047	-0,02	0,00
Pohlaví	0,35	0,14	0,32	2,58	0,014	0,07	0,62
Chronický alkoholismus	0,18	0,14	0,19	1,33	0,193	-0,10	0,47
Kouření	0,22	0,11	0,26	2,10	0,043	0,01	0,43
Putamen posterior sinister							
Konstanta	-8,21	2,35		-3,50	0,001	-12,98	-3,44
Arteriální pH	1,42	0,34	0,56	4,23	0,000	0,74	2,10
Věk	-0,01	0,01	-0,28	-2,42	0,021	-0,02	-0,00
Pohlaví	0,49	0,16	0,37	3,10	0,004	0,17	0,82
Chronický alkoholismus	0,15	0,16	0,12	0,93	0,360	-0,18	0,48
Kouření	0,21	0,12	0,20	1,73	0,094	-0,04	0,46
Putamen anterior dexter							
Konstanta	-1,44	2,31		-0,62	0,537	-6,13	3,25
Arteriální pH	0,49	0,33	0,24	1,49	0,145	-0,18	1,16
Věk	-0,01	0,01	-0,20	-1,37	0,180	-0,02	0,00
Pohlaví	0,39	0,16	0,36	2,48	0,018	0,07	0,71
Chronický alkoholismus	0,22	0,16	0,22	1,34	0,189	-0,11	0,54
Kouření	0,28	0,12	0,33	2,31	0,027	0,03	0,53
Putamen anterior sinister							
Konstanta	-2,48	2,41		-1,03	0,311	-7,38	2,42
Arteriální pH	0,63	0,34	0,28	1,84	0,074	-0,07	1,33
Věk	-0,01	0,01	-0,22	-1,58	0,124	-0,02	0,00
Pohlaví	0,39	0,16	0,33	2,38	0,023	0,06	0,72
Chronický alkoholismus	0,24	0,17	0,23	1,45	0,156	-0,10	0,58
Kouření	0,32	0,13	0,35	2,50	0,017	0,06	0,58
Putamen dexter							
Konstanta	-2,79	2,14		-1,30	0,201	-7,15	1,56
Arteriální pH	0,67	0,31	0,33	2,18	0,036	0,05	1,29
Věk	-0,01	0,01	-0,22	-1,64	0,111	-0,02	0,00
Pohlaví	0,37	0,16	0,36	2,57	0,015	0,08	0,67
Chronický alkoholismus	0,20	0,15	0,21	1,35	0,187	-0,10	0,50
Kouření	0,26	0,11	0,32	2,31	0,027	0,03	0,49
Putamen sinister							
Konstanta	-4,47	2,31		-1,94	0,061	-9,17	0,22
Arteriální pH	0,91	0,33	0,40	2,76	0,009	0,24	1,58
Věk	-0,01	0,01	-0,26	-1,97	0,057	-0,02	0,00
Pohlaví	0,43	0,16	0,36	2,74	0,010	0,11	0,75
Chronický alkoholismus	0,22	0,16	0,20	1,34	0,188	-0,11	0,54
Kouření	0,28	0,12	0,30	2,32	0,026	0,04	0,53

Poznámka: CI – interval spolehlivosti; Arteriální pH – arteriální pH krve při přijetí do nemocnice s akutní otravou metanolem; Věk – věk při přijetí do nemocnice; Chronický alkohol – chronické zneužívání alkoholu. Hladina významnosti je $p < 0,05$ (hodnoty vtištěné tučně).

Již dříve byla popsána bradykineze s rigiditou a třesem, poruchou rovnováhy a poruchou chůze odpovídající dysfunkci frontálního laloku jako neurologické příznaky odrážející poškození putamen a narušené kortiko-bazálních spoje u pacientů, kteří přežili akutní otravu metanolem (Peterova K, et al., 2018). Více než 40 % pacientů v naší studijní populaci mělo známky bradykineze s rigiditou a/nebo třesem, odpovídající mírnému až středně těžkému parkinsonismu. U těchto pacientů klinické příznaky parkinsonismu odpovídaly jak morfologickým (nižší objem putamen), tak funkčním (nižší SBR putamen posterior) nálezům zjištěným pomocí MRI-volumetrie a DaT SPECT. Dále jsme pozorovali určitou asymetrii v poklesu funkčních dopaminergních neuronů s relativně nižšími hodnotami SBR pro levé striatum. Je zajímavé, že klinické motorické příznaky Parkinsonovy choroby se projevují v časných stádiích onemocnění také asymetricky (Okuzumi A, et al. 2019).

V naší studii byl počet pacientů, kteří podstoupili MRI-volumetrii, menší než počet pacientů, kteří podstoupili DaT SPECT. To mohlo mírně ovlivnit korelace mezi SBR a objemovými údaji. Dále, pacienti s nekrotickými lézemi putamen byli mladší než pacienti bez známek poškození, rozdíly ale nebyly významné. DaT SPECT nebyl z etických důvodů proveden u zdravé kontrolní skupiny.

5.3. Postižení periferní nervové soustavy následkem akutní intoxikace metanolem (Publikace III)

V této prospektivní longitudinální kohortové studii jsme zjišťovali možný vliv akutní expozice metanolu na vývoj periferní PNP v letech následujících po otravě metanolem. Hledali jsme souvislosti mezi výsledky EMG a vstupními laboratorními parametry (pH arteriální krve, koncentrací metanolu a etanolu v séru), demografickými charakteristikami a výsledky objektivních vyšetření provedených během období sledování. Během šesti let po propuknutí hromadné otravy metanolem v roce 2012 jsme ve stejném zdravotnickém zařízení provedli celkem čtyři klinická vyšetření přeživších pacientů podle stejného standardizovaného klinického protokolu, který zahrnoval také neurologické a EMG vyšetření.

Z 55 pacientů zahrnutých do studie bylo EMG vyšetření provedeno čtyřikrát u 31 pacientů, třikrát u 13 pacientů, dvakrát u 6 pacientů a jedenkrát u 5 pacientů. Během sledovaného období deset pacientů zemřelo a čtyři pacienti byli přijati až po prvním kole vyšetření. Základní demografické, klinické a laboratorní údaje o pacientech ze studované populace jsou uvedeny v tabulce 7.

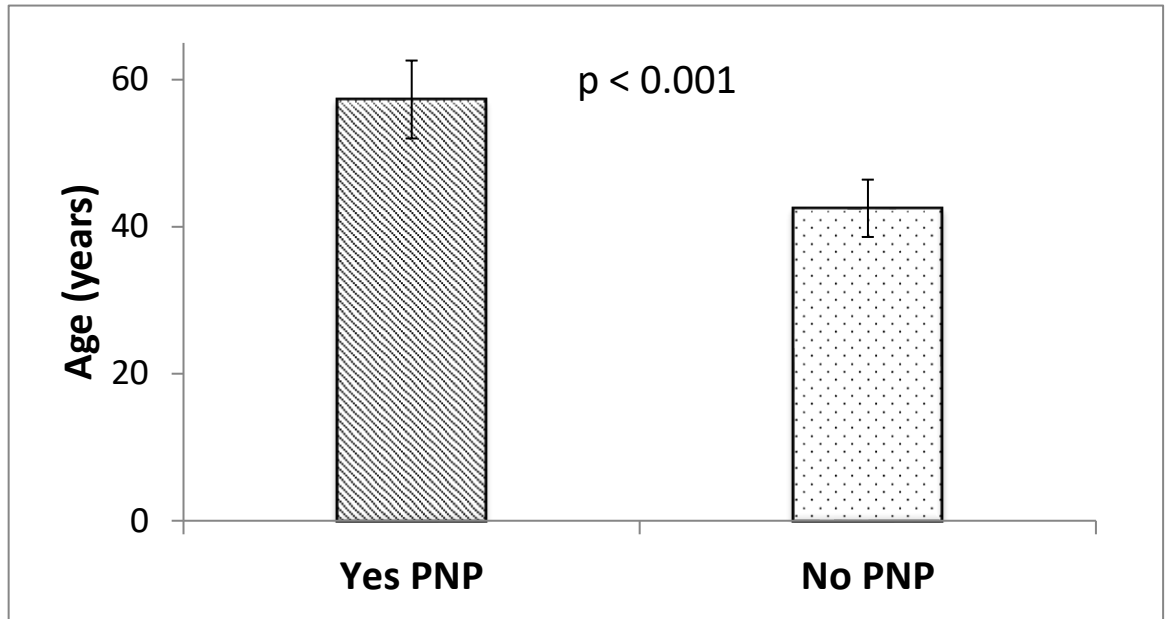
Z 55 pacientů mělo 20 (36 %) pacientů příznaky a změny na EMG odpovídající periferní PNP. Ve většině případů byla zaznamenána mírná axonální senzomotorická neuropatie. U 6 (11 %) pacientů byla diagnóza periferní PNP přítomna v lékařských záznamech už před expozicí metanolu, u 14 (25 %) pacientů byla periferní PNP diagnostikována v průběhu sledovaného období. Z těchto 14 pacientů byla u 9 periferní PNP diagnostikována během prvního kola následných vyšetření a u zbývajících 5 pacientů byly abnormální EMG nálezy zjištěny později během šestiletého sledování.

V prevalenci periferní PNP nebyl rozdíl mezi pohlavími (2/9 žen oproti 18/46 mužům, $p = 0,335$), ale pacienti s PNP byli významně starší než pacienti bez PNP (Tabulka 7, Obrázek 8).

Tabulka 7. Základní demografické, klinické a laboratorní údaje o pacientech ze studované populace, průměr s SD (n = 55) a počty (n, %).

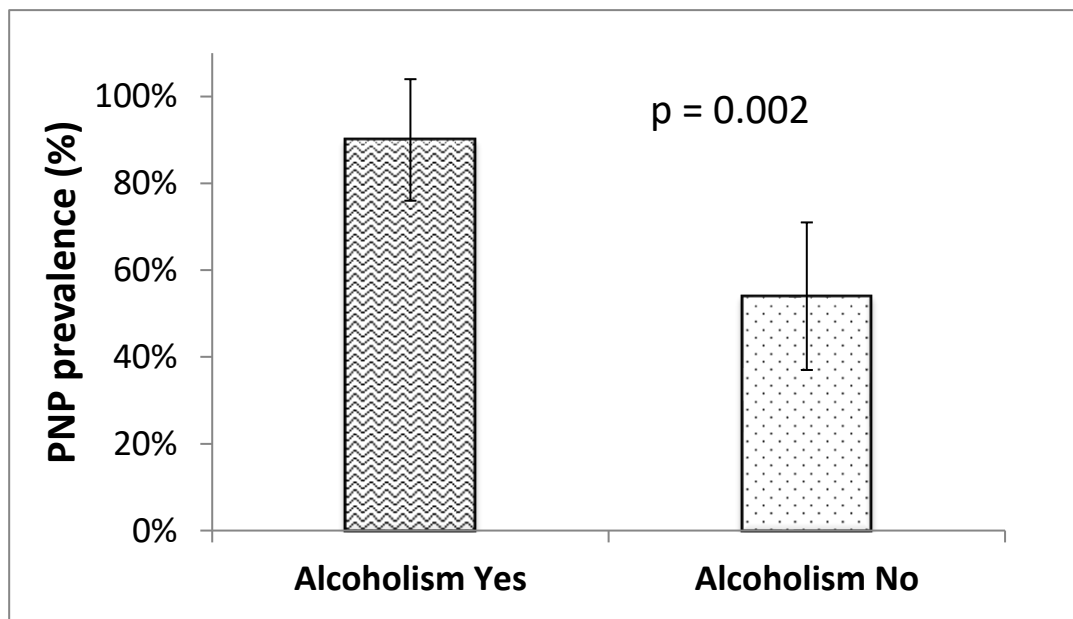
Věk, roky	47,9 ± 3,6
Pohlaví(M/F)	46/9
Chronický abúzus alkoholu v anamnéze	37 (67%)
CDT, %	3,4±1,3
Diabetes mellitus, n (%)	9 (16%)
Glukóza, mmol/L	5,15±0,38
Glykovaný hemoglobin, mmol/mol	35,8±2,0
Hepatopatie, n (%)	34 (62%)
Hypothyroidismus, n (%)	3 (5%)
TSH, mIU/L	2,68±0,40
Prealbumin, g/L	0,29±0,02
Vitamin B ₁₂ , ng/L	451±69
Vitamin B ₁ , µg/L	61±14
Macrocytární anémie n (%)	3 (5%)
S-MetOH*, mg/L	1390±400
pH arteriální krve*	7,06±0,29
S-EtOH*, mg/L	380±230
Zrakové následky, n (%)	21 (38%)
CNS následky, n (%)	24 (44%)

Poznámka: M – muž; F – žena; CDT – karbohydrát-deficientní transferin; TSH – thyreotropní hormon; S-MetOH – koncentrace metanolu v séru; S-EtOH – koncentrace etanolu v séru; * - při přijetí do nemocnice s akutní otravou metanolem.



Obrázek 8. Histogram věku pacientů ze studované populace s (n = 20) a bez (n = 35) periferní polyneuropatie (PNP).

Pacienti s chronickým abúzem alkoholu měli významně vyšší prevalenci periferní PNP než pacienti bez závislosti na alkoholu (Obrázek 9).



Obrázek 9. Prevalence periferní polyneuropatie (PNP) a chronický abúzus alkoholu (n = 55).

Pouze dva pacienti bez chronického abúzu alkoholu měli periferní polyneuropatii – 51letý muž s nedostatečně kompenzovaným DM (glykémie 11,0 mmol/l, glykovaný hemoglobin 51,0 mmol/mol) a s diabetickou PNP diagnostikovanou ještě před expozicí metanolu, a 64letý muž s neléčenou hypotyreózou (TSH 18,62 mIU/l) a PNP diagnostikovanou v prvním kole následných vyšetření.

Rozdíl v počtu pacientů s DM (n = 9) v obou skupinách nebyl významný (4/35 pacientů bez PNP oproti 5/20 pacientům s PNP, p = 0,206). Průměrná koncentrace glukózy v séru ve skupině pacientů s PNP byla významně vyšší. Pacienti s periferní PNP měli nižší koncentraci vitamínu B1 v séru (Tabulka 8), ale rozdíl v počtu pacientů s koncentrací vitamínu B1 pod normální referenční hranicí 42,0 µg/l nebyl mezi oběma skupinami významný (6/35 bez PNP versus 7/20 s PNP, p = 0,134). Ze sedmi pacientů s nízkou koncentrací vitamínu B1 v séru měli ve skupině s PNP tři pacienti makrocytární anémii.

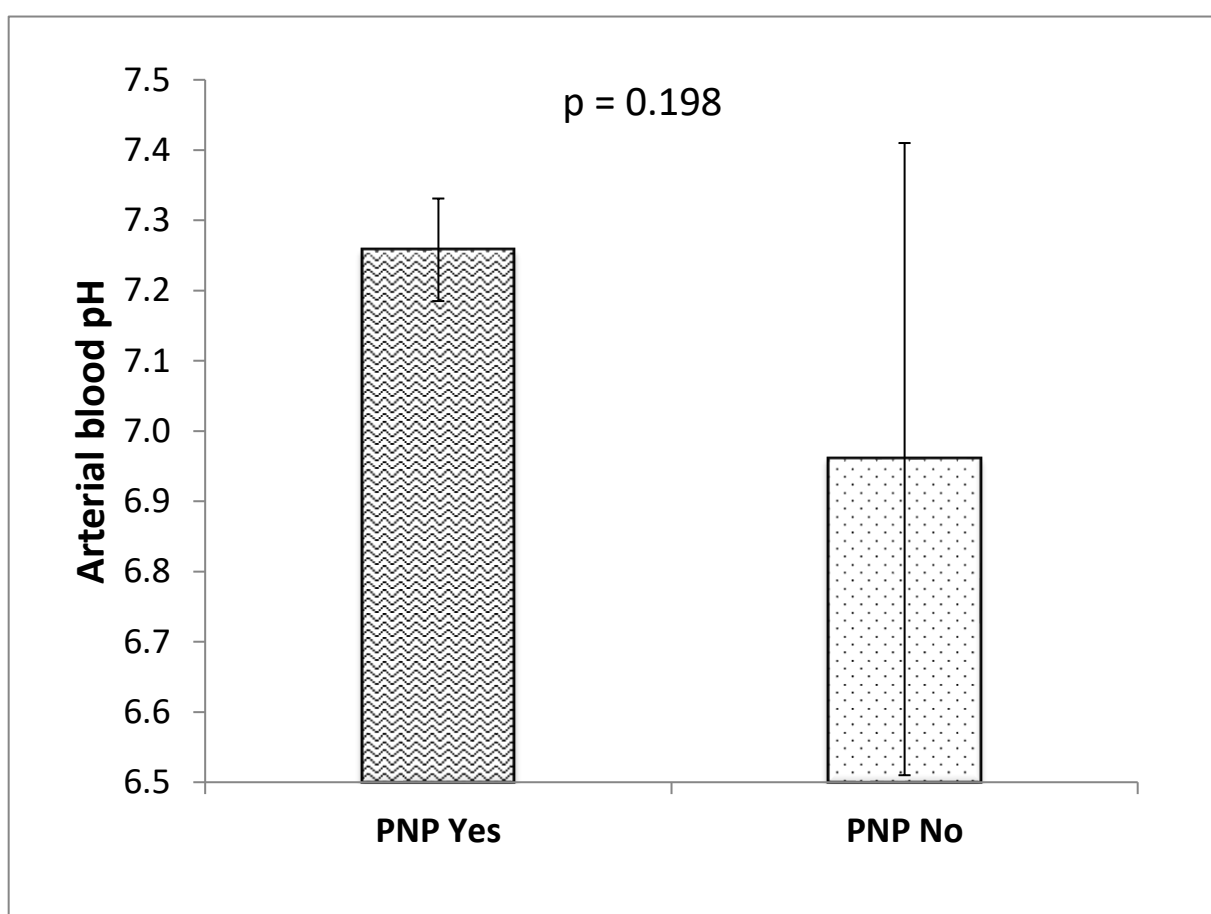
Tabulka 8. Kontrolní laboratorní parametry u pacientů s periferní polyneuropatií (PNP) ve srovnání s pacienty bez polyneuropatie.

Proměnné	Bez PNP (n=35)	S PNP (n=20)	p
CDT, %	2,9±1,5	4,3±3,0	0,375
Glukóza, mmol/L	4,81±0,32	5,93±0,97	0,035
Glykovaný hemoglobin, mmol/mol	34,6±2,4	37,8±3,6	0,134
TSH, mIU/L	2,94±0,56	3,1±1,9	0,900
Prealbumin, g/L	0,290±0,020	0,290±0,030	0,990
Vitamin B ₁₂ , ng/L	417±57	510±170	0,294
Vitamin B ₁ , µg/L	57,5±5,2	45,5±7,4	0,015

Poznámka: CDT – karbohydrát-deficientní transferin; TSH – thyreotropin hormon; p <0,05 byla považována za významnou.

Ve skupině pacientů s periferní PNP měli tři pacienti nízkou koncentraci prealbuminu, což naznačuje podvýživu, a jeden pacient nízkou koncentraci vitamínu B12 v séru, zatímco ve skupině pacientů bez PNP se nevyskytovali žádní pacienti s nízkým sérovým prealbuminem a vitamínem B12.

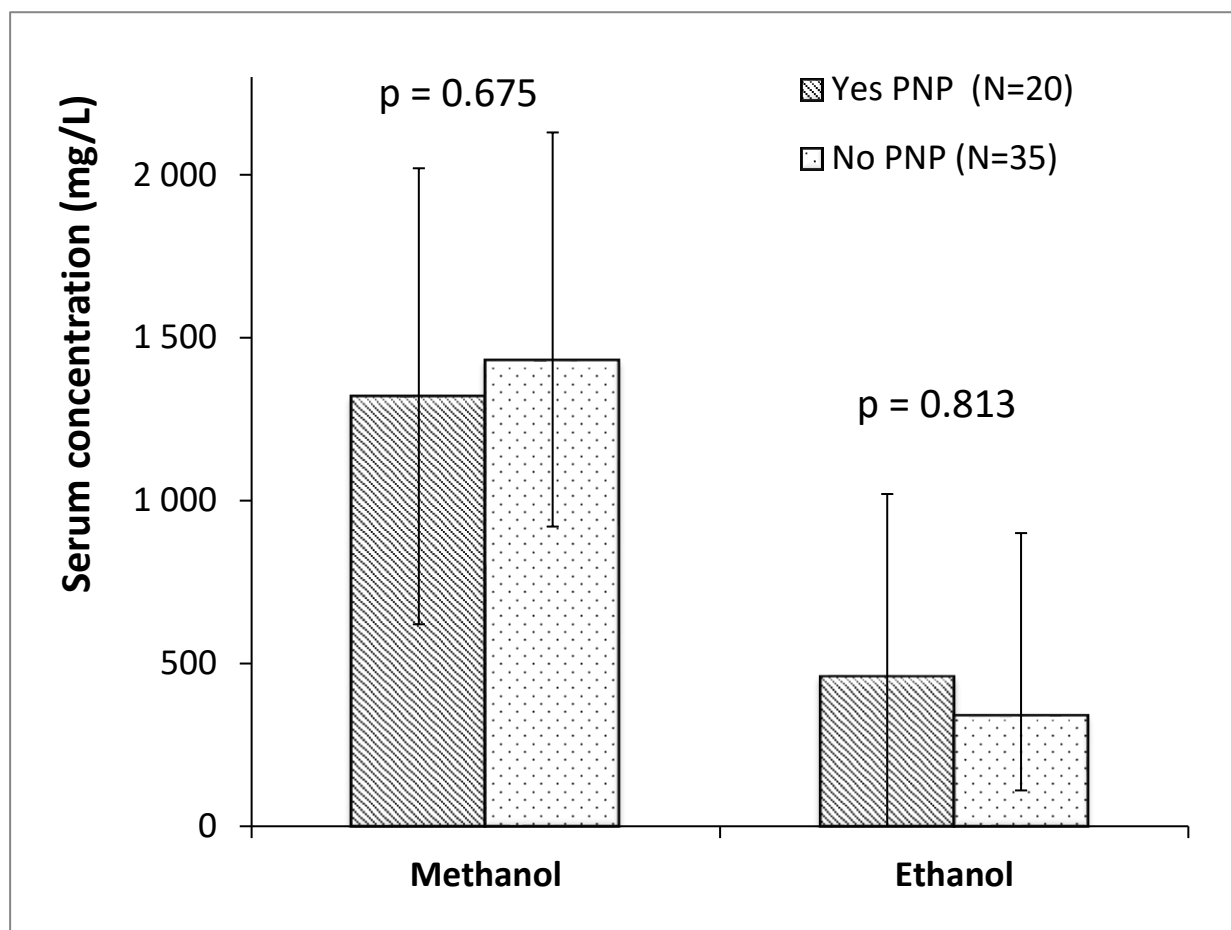
Rozdíl v závažnosti otravy metanolem, definovaný jako stupeň acidémie při přijetí (pH arteriální krve) nebyl mezi oběma skupinami pacientů významný ($p = 0,198$), navíc pacienti s periferní PNP měli relativně vyšší arteriální pH krve než pacienti bez PNP, což naznačuje méně závažnou otravu (Obrázek 10).



Obrázek 10. pH arteriální krve při přijetí do nemocnice s akutní otravou metanolem ve skupinách pacientů s periferní polyneuropatií (PNP) a bez ní.

Pacienti s periferní PNP měli při přijetí do nemocnice relativně nižší koncentraci metanolu v séru a relativně vyšší koncentraci etanolu (Obrázek 11). Neprokázalo se tedy, že by pacienti

s PNP měli při přijetí vyšší koncentrace metanolu a nižší koncentrace etanolu v séru, jak bychom předpokládali, i když rozdíly mezi oběma skupinami nebyly významné ($p = 0,813$ pro metanol a $p = 0,675$ pro koncentraci etanolu).



Obrázek 11. Koncentrace metanolu a etanolu v séru při přijetí do nemocnice ve skupinách pacientů s ($n = 20$) a bez ($n = 35$) periferní polyneuropatie (PNP).

Stejně tak se mezi oběma skupinami neprokázal rozdíl v počtu intoxikovaných pacientů s dlouhodobými zrakovými následky (12/35 bez PNP oproti 9/20 s PNP, $p = 0,431$) a následky na CNS (15/35 bez PNP proti 9/20 s PNP, $p = 0,877$). V průběhu naší studie nebyla tedy zjištěna žádná souvislost mezi závažností akutní otravy metanolem, poškozením zraku i mozku a prevalencí periferní polyneuropatie u pacientů intoxikovaných metanolem.

U 8/55 (15 %) pacientů bylo během sledovaného období zaznamenáno zhoršení EMG nálezu, včetně 5 případů s nově diagnostikovanou periferní PNP, která nebyla zaznamenána při

našem prvním vyšetření, a 3 případů s progresí PNP diagnostikovanou už před intoxikací metanolem (Obrázek 12a,b a 13a,b). Pouze u jedné ženy s periferní PNP bylo během sledovaného období zjištěno zlepšení EMG nálezu v důsledku abstinence trvající více než dva roky, která byla potvrzena opakovaným vyšetřením CDT a jaterních testů (Obrázek 14a,b a 15a,b). Demografické, laboratorní a klinické údaje 8 pacientů s negativní dynamikou EMG nálezů jsou uvedeny v tabulce 9.

Všech osm pacientů v této podskupině byli chroničtí alkoholici s hepatopatií a/nebo opakovaně vyšetřenou vysokou koncentrací CDT. Jeden z pacientů měl nedostatečně kompenzovaný DM s vysokou hladinou glukózy v séru a s hladinou glykovaného hemoglobinu 55,0 mmol/mol. Další pacient trpěl jaterní cirhózou, makrocytární anémií a podvýživou s nízkým sérovým prealbuminem a další nedostatkem vitamínu B1.

Žádný z těchto pacientů neměl při přijetí do nemocnice těžkou metabolickou acidózu (definovanou jako pH arteriální krve nižší než 7,20). Koncentrace metanolu v séru těchto pacientů se pohybovaly od velmi nízkých netoxických hladin až po velmi vysoké hodnoty (do 4 400,0 mg/l) a koncentrace etanolu v séru od nulových hladin až po hladiny dostatečně vysoké, aby se uplatnily jako antidotum (1410,0 mg/l). Pouze dva z osmi pacientů měli na MRI známky poškození mozku vyvolané metanolem, zatímco u šesti pacientů se žádné poškození mozku neprokázalo.

Naše studie tedy neprokázala asociaci mezi závažností otravy metanolem, definovanou pH arteriální krve, koncentrací metanolu a etanolu v séru a prevalencí periferní PNP, stejně tak i dynamikou EMG nálezů v letech následující po otravě.

V naší studii byla periferní PNP diagnostikována u 36 % pacientů, u 11 % z nich byla diagnóza periferní PNP uvedena v lékařských záznamech před intoxikací metanolem. Tato vysoká čísla odpovídají prevalenci dlouhodobých zraťových následků, která dosahuje až 40 %, a prevalenci toxického poškození mozku s 30-50 % (Zakharov et al., 2015b, 2019). Zatímco však prevalence, charakter a dynamika oftalmologických nálezů, stejně jako prevalence a charakter poškození mozku u intoxikovaných osob prokazují významnou souvislost se závažností acidémie, koncentrací metanolu a etanolu v séru, tato asociace nebyla v naší studii periferního nervového systému pozorována (Nurieva et al., 2016, 2019; Zakharov et al., 2016c).

Tabulka 9. Demografické, laboratorní a klinické údaje 8 pacientů s negativní dynamikou elektromyografických nálezů.

Pacient	Věk/ pohlaví	Chronický alkoholismus	CDT, %	DM	Glukóza, mmol/L	Hepatopatie	pH arteriální krve	MetOH, mg/L	EtOH, mg/L	CNS následky
1	70/M	yes	5,78	yes	8,4	yes	7,24	980	ND	no
2	29/M	yes	16,43	no	4,4	yes	7,41	420	370	yes
3	52/F*	yes	ND	no	5,1	yes	7,20	5313	0	yes
4	55/M	yes	2,44	no	5,5	yes	7,41	360	1410	no
5	61/M	yes	15,62	no	4,3	no	7,28	2269	330	no
6	58/M	yes	1,55	no	4,8	yes	7,17	406	0	no
7	34/M	yes	1,36	no	5,1	yes	7,26	4100	0	no
8	54/M**	yes	4,00	no	5,0	no	7,45	85	260	no

Poznámka: CDT – karbohydrát-deficientní transferin; DM – diabetes mellitus; ND – neurčeno;

* podvýživa s prealbuminem 0,13 g/l, cirhóza jater a makrocytární anémie; ** nedostatek vitamínu B1 28,6 µg/l; tučně výtiskované údaje – pacienti bez polyneuropatie v prvním kole následných vyšetření.

V naší studii měla naopak skupina pacientů s periferní PNP relativně vyšší pH arteriální krve, vyšší koncentraci metanolu a nižší koncentraci etanolu v séru, což naznačuje méně závažnou otravu. Dále jsme u sledovaných pacientů nezjistili žádnou souvislost mezi prevalencí periferní PNP a známými dlouhodobými zdravotními následky otravy metanolem, poškozením zraku a mozku. Pouze dva z osmi pacientů měli na MRI známky poškození mozku vyvolané metanolem, zatímco u šesti pacientů se žádné poškození mozku neprokázalo.

Většina pacientů s periferní PNP v našem souboru byla starší, měla v anamnéze chronický abúzus alkoholu, alkoholickou hepatopatii, DM, hypotyreózu, vyšší hladiny glukózy v séru a nižší koncentrace vitamínu B1, což naznačuje, že akutní metanolová intoxikace neovlivnila vznik a progresi PNP. Tento závěr také podporuje skutečnost, že po několika letech abstinence došlo u jedné pacientky z našeho souboru ke zlepšení EMG nálezu. Vysokou prevalenci periferní PNP a případy její progresi lze jednoznačně připsat jiným příčinám, zejména anamnéze předchozího a současného chronického abúzu alkoholu a DM.

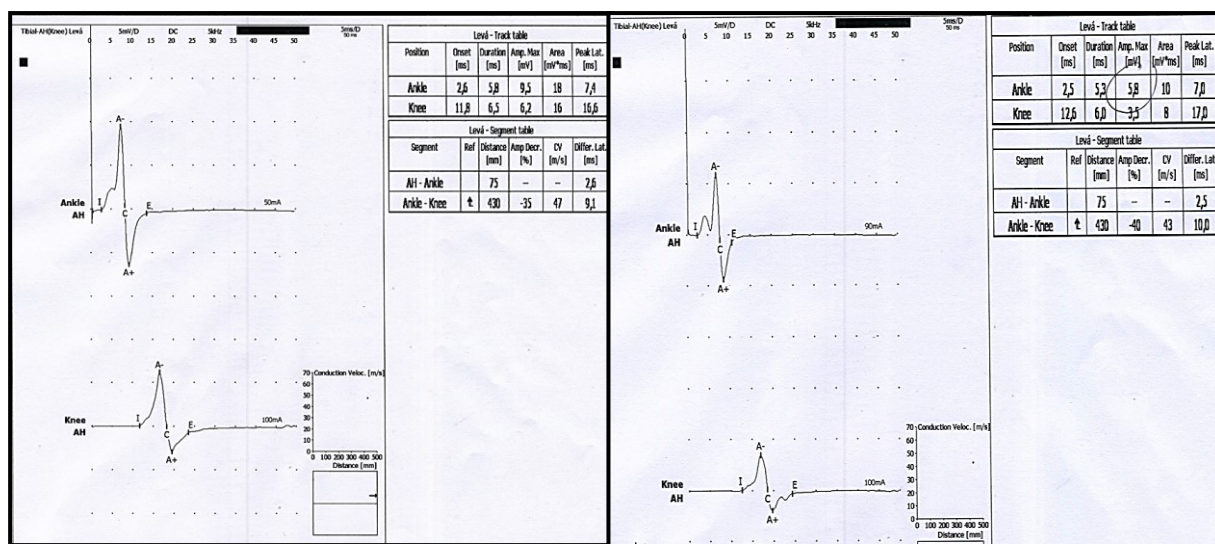
Jedním z klíčových prvků v patogenezi alkoholické PNP je nutriční stav pacientů, zejména hladiny vitamínu B1, vitamínu B12 a nedostatek bílkovin (Charness et al., 1989; Victor, 1984). V naší studii měla skupina pacientů s PNP významně nižší průměrné koncentrace vitamínu B1 v séru než skupina pacientů bez PNP; i když pouze 35 % pacientů ve skupině s PNP mělo koncentrace vitamínu B1 pod 42,0 µg/l a nikdo neměl koncentrace pod 25,0 µg/l. Pouze jeden pacient s periferní PNP měl nedostatek vitamínu B12 a tři pacienti měli nízké koncentrace prealbuminu v séru.

K alkoholické PNP obvykle dochází po deseti a více letech nadměrného pití, i když první subjektivní příznaky se mohou objevit po jednom až pěti letech nadměrného zneužívání alkoholu (Vittadini et al., 2001). V našem souboru byli pacienti s periferním PNP významně starší, s průměrným věkem 57 ± 5 let, ve srovnání s 43 ± 4 roky u pacientů bez PNP. Ve skupině s PNP proto existovala potenciálně delší historie chronického abúzu alkoholu. Z literatury je známo, že ukončení pití je klíčovým faktorem prevence progresi alkoholické PNP s možností zlepšení EMG nálezu u mírné až střední formy PNP v případě abstinence (Savoldi, 1995). Naše studie tato pozorování potvrzuje. Všichni naši pacienti s negativní dynamikou elektromyografických nálezů byli současně chroničtí alkoholici, u jedné naší pacientky došlo po několika letech abstinence ke zlepšení elektromyografického nálezu. Prevalence alkoholické

polyneuropatie uváděná v literatuře se pohybuje od 12,5 do 29,6 % (Beghi a Monticelli, 1998; Wetterling et al., 1999), což také přibližně odpovídá našim zjištěním.

Diabetická PNP je častou komplikací DM (Galer et al., 2000). Až u 50 % diabetiků se po 25 letech onemocnění vyvine neuropatie (Pirart, 1977). V naší studii mělo 5/9 (56 %) pacientů s diabetem periferní PNP a koncentrace glukózy v séru ve skupině pacientů s PNP byla významně vyšší než u pacientů bez PNP. U čtyř pacientů byl zjištěn zvýšený glykovaný hemoglobin, jednalo se tedy o nedostatečně kompenzované pacienty.

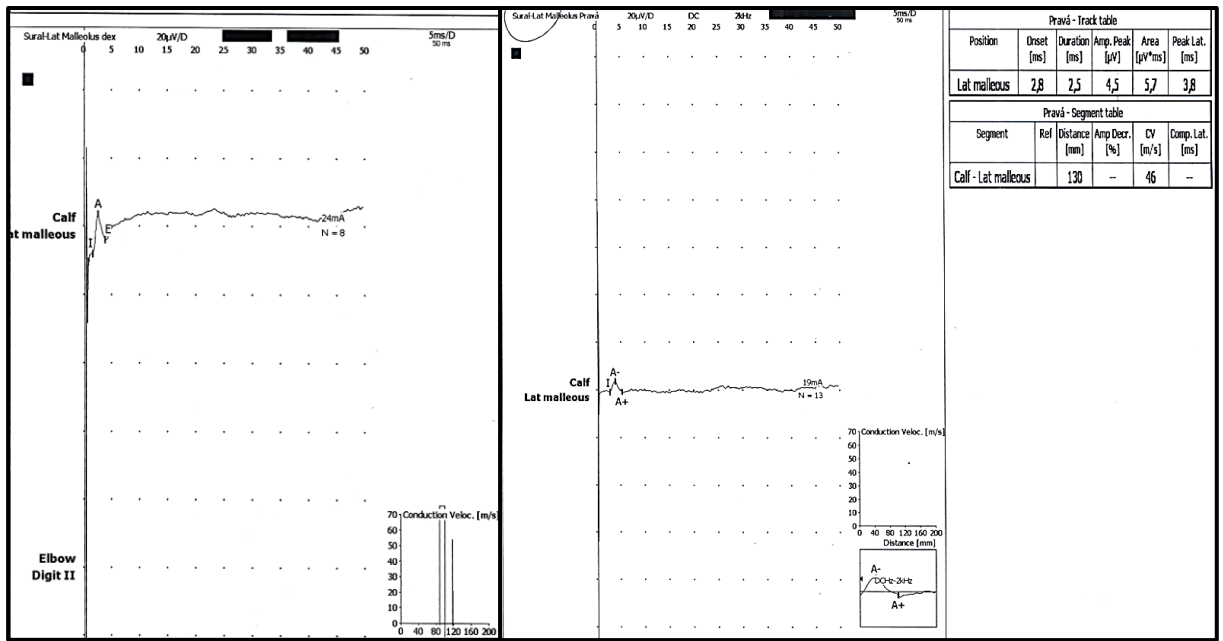
Šestileté období sledování ve stejném zdravotnickém zařízení poskytlo během prospektivní longitudinální studie dostatek času k tomu, abychom se mohli vyjádřit k dlouhodobému dopadu akutní otravy metanolem na periferní nervy, i když početnější soubor pacientů by mohl poskytnout významnější asociace jednotlivých proměnných s EMG nálezy.



a) v roce 2014

b) v roce 2018

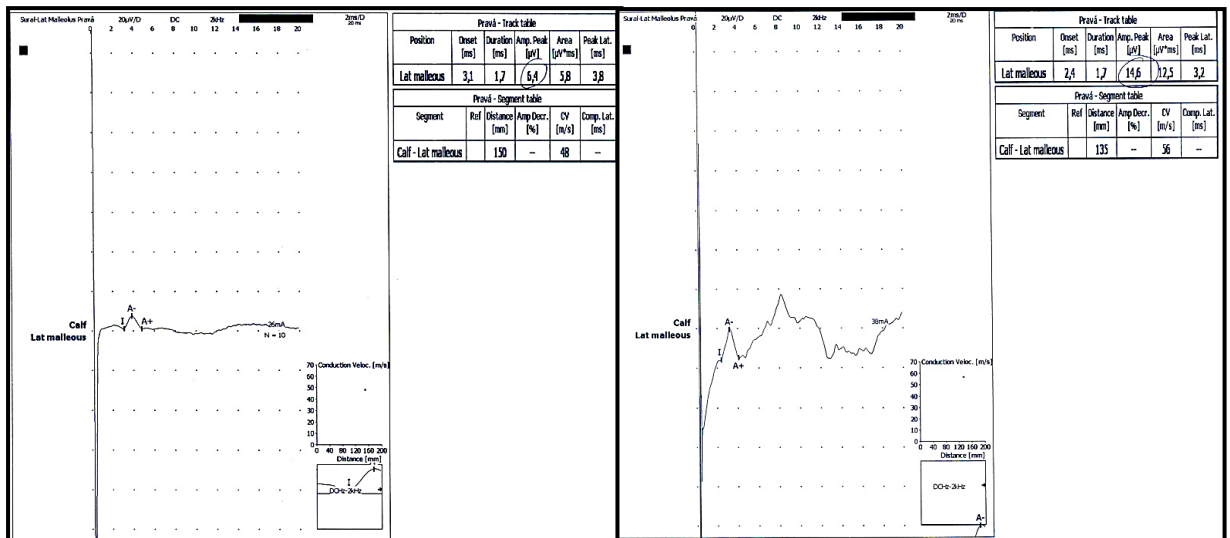
Obrázek 12. Progredující EMG nález chronického alkoholika-**n. tibialis**, 2014/2018.



a) v roce 2014

b) v roce 2018

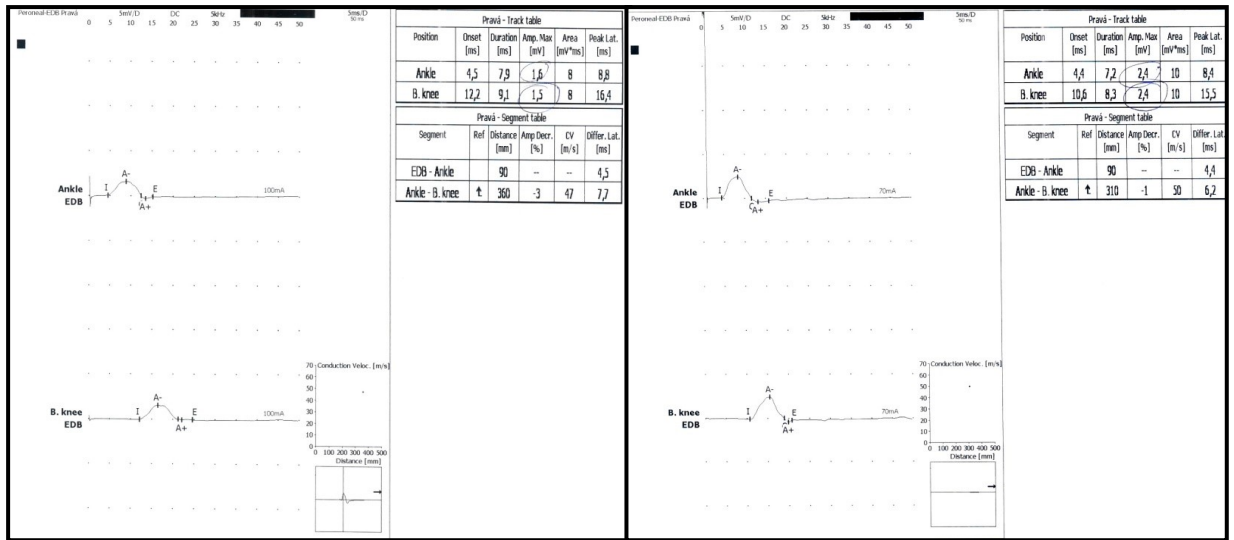
Obrázek 13. Progredující EMG nález chronického alkoholika, **n. suralis**, 2014/2018.



a) v roce 2015

b) v roce 2018

Obrázek 14. Zlepšení EMG nálezu abstinující alkoholičky, **n. suralis**, 2015/2018.



a) v roce 2015

b) v roce 2018

Obrázek 15. Zlepšení EMG nálezu abstinující alkoholičky, n. peroneus, 2015/2018.

6. ZÁVĚR

Cílem této práce bylo, na základě dlouhodobého sledování souboru pacientů s potvrzenou diagnózou akutní intoxikace metanolem léčených v nemocnicích během hromadné otravy metanolem v České republice od září do prosince 2012, zhodnotit dlouhodobé poškození centrální a periferní nervové soustavy v důsledku akutní intoxikace metanolem.

Závěry, ke kterým jsme dospěli v průběhu této prospektivní longitudinální jednocentrové kohortové studie, by se pro jednotlivé kapitoly daly shrnout do následujících bodů:

6.1. *Prevalence, charakter, dynamika a predisponující faktory hemoragických a nehemoragických lézí mozku způsobených akutní intoxikací metanolem*

- 6.1.1. Prevalence poškození mozku v důsledku akutní intoxikace metanolem může být významně podhodnocena v případě, že je zobrazovací vyšetření mozku provedeno příliš brzy po přijetí do nemocnice a chybí následné kontrolní vyšetření nebo v případě, že vyšetření není z důvodu absence neurologických příznaků provedeno vůbec.
- 6.1.2. Naše údaje nepotvrdily názor některých autorů, že krvácení do mozku u pacientů intoxikovaných metanolem je „vzácnou komplikací léčby“. V naší studii se jednalo spíše o typický nález na MRI u pacientů intoxikovaných metanolem. Nejčastějším místem krvácení do mozku bylo putamen, ale časté byly také hemoragické léze v globus pallidus a subkortikální bílé hmotě.
- 6.1.3. V průběhu naší studie jsme dále zjistili, že pacienti s hemoragickými mozkovými lézemi byli vážněji intoxikováni, protože měli při přijetí závažnější acidémii, byl jim častěji podáván bikarbonát a měli významně vyšší koncentrace glukózy i laktátu v séru než skupina pacientů bez hemoragických lézí v mozku.
- 6.1.4. Ve skupině pacientů s krvácením do mozku se vyskytovalo dlouhodobé poškození zraku častěji než ve skupině pacientů bez hemoragických lézí a ve skupině pacientů s nehemoragickým poškozením CNS.
- 6.1.5. Naše studie nepotvrdila hypotézu, že systémová antikoagulační léčba během hemodialýzy může být příčinou krvácení do mozku. Krvácení v nekrotických oblastech je možnou pozdní fází vývoje poškození mozku v případech těžké otravy metanolem.

- 6.1.6. Nicméně v případě patologických stavů, které mohou usnadnit krvácení do mozku pacientů intoxikovaných metanolem (podávání vysokých dávek vysokomolekulárního nebo nízkomolekulárního heparinu, hemoragická cévní mozková příhoda v anamnéze, krvácivé stavy jako Mallory-Weissův syndrom, alkoholická cirhóza nebo hepatopatie s trombocytopenií, chronická léčba warfarinem, aspirinem a klopidoogrelem) by bylo dobré zvážit během hemodialýzy podání RCA jako alternativu k systémové antikoagulační léčbě s vysokomolekulárním nebo nízkomolekulárním heparinem.
- 6.1.7. Z důvodu vysoké prevalence poškození mozku v důsledku akutní intoxikace metanolem je nutné pacienty, kteří přežili intoxikaci metanolem, dispenzarizovat a zvát na kontrolní neurologická vyšetření. Včasná diagnostika poškození mozku a odpovídající terapie může zlepšit kvalitu života těchto pacientů.

6.2. Význam DaT-SPECT v diagnostice poškození bazálních ganglií

- 6.2.1. Naše studie odhalila, že SBR pro putamen, a zejména pro putamen posterior, bylo významně nižší u pacientů se známkami nekrotických lézí na MRI.
- 6.2.2. Nalezli jsme korelaci nálezů na DaT SPECT s objemovými parametry a zjistili, že DaT SPECT může být srovnatelnou a v určitých situacích dokonce přesnější metodou než MRI-volumetrie, pokud jde o jeho schopnost identifikovat pacienty s toxickými lézemi putamen.
- 6.2.3. Zjistili jsme významnou korelaci mezi pH arteriální krve při přijetí, jako hlavním prognostickým parametrem otravy, a SBR pro putamen. Nejsilnější korelace byla pozorována mezi pH arteriální krve a SBR pro putamen posterior bilaterálně.
- 6.2.4. Měření DaT SPECT odhalilo pozitivní korelaci mezi tloušťkou RNFL a SBR pro putamen posterior.
- 6.2.5. SBR pro putamen, a zejména pro putamen posterior, je potenciálně dobrým markerem poškození bazálních ganglií vyvolaného metanolem a ¹²³I-ioflupan SPECT (DaT SPECT) odrážející dopaminergní axonální dysfunkci ve striatu se může významně uplatnit v diagnostice funkčního poškození bazálních ganglií způsobeného akutní intoxikací metanolem.

6.3. Postižení periferní nervové soustavy následkem akutní intoxikace metanolem

- 6.3.1. Naše studie neprokázala asociaci mezi závažností otravy metanolem, definovanou pH arteriální krve, koncentrací metanolu a etanolu v séru a prevalencí periferní PNP, stejně tak i dynamikou EMG nálezů v letech následujících po otravě.
- 6.3.2. Dále jsme u sledovaných pacientů nezjistili žádnou souvislost mezi prevalencí periferní PNP a známými dlouhodobými zdravotními následky otravy metanolem, poškozením zraku a mozku.
- 6.3.3. Většina pacientů s periferní PNP v našem souboru byla starší, měla v anamnéze chronický abúzus alkoholu, alkoholickou hepatopatii, DM, hypotyreózu, vyšší hladiny glukózy v séru a nižší koncentrace vitamínu B.
- 6.3.4. Vysokou prevalenci periferní PNP a případy její progresy považujeme jednoznačně za následek jiných patologických stavů než akutní intoxikace metanolem, zejména za následek chronického abúzu alkoholu a DM.
- 6.3.5. Akutní intoxikace metanolem tedy s největší pravděpodobností nezpůsobuje periferní PNP a u pacientů přeživších intoxikaci metanolem není nutné provádět EMG vyšetření, pokud toto vyšetření není indikováno z jiných důvodů.

7. LITERATURA

1. Abdallat IM, Hadidi MS, Rashid N, Hadidi KA, Outbreak of methanol fatalities in Jordan. *J Bahrain Med Soc*, 2009; 21(3):283-286.
2. Abdul Rahim FAA, Al Shiekh A. Substance abuse and homelessness: mass methanol poisoning in Khartoum. *Sudan Med J*, 2012; 48(1):1-6.
3. Abramson S, Singh AK, Treatment of the alcohol intoxications: Ethylene glycol, methanol and isopropanol. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2000; 9(6):695-701.
4. Ahmad K, Methanol-laced moonshine kills 140 in Kenya. *Lancet*, 2000; 356(9245):1911-1911.
5. Aisa TM, Ballut OM, Methanol intoxication with cerebral hemorrhage. *Neurosciences*, 2016; 21:275–277.
6. Aquilonius SM, Bergstrom K, Enoksson P, Hedstrand U, Lundberg PO, Moströmm U, Olsson Y, Cerebral computed tomography in methanol intoxication. *J Comput Assist Tomogr*, 1980; 4:425–428.
7. Arumugham M, Rathinam R, Rathinasamy S, Therapeutic response to single intravenous bolus administration of formate dehydrogenase in methanol-intoxicated rats. *Toxicol Lett*, 2006;161(2):89-95.
8. Azmak D, Methanol related deaths in Edirne. *Leg Med (Tokyo)*, 2006; 8(1):39-42.
9. Barceloux DG, Bond GR, Krenzelok EP, Cooper H, Vale J, American Academy of Clinical Toxicology practice guidelines on the treatment of methanol poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol*, 2002; 40(4):415-446.
10. Baud FJ, Bismuth C, Garnier R, Galliot M, Astier A, Maistre G, Soffer M, 4-methylpyrazole may be an alternative to ethanol therapy for ethylene-glycol intoxication in man. *J Toxicol Clin Toxicol*, 1986; 24(6):463-483.
11. Baumbach GL, Cancilla PA, Martin-Amat G, Tephly TR, McMartin KE, Makar AB, Methyl alcohol poisoning. IV. Alterations of the morphological findings of the retina and optic nerve. *Arch Ophthalmol*, 1977; 95:1859–1865.
12. Beatty L, Green R, Magee K, Zed P, A systematic review of ethanol and fomepizole use in toxic alcohol ingestions. *Emerg Med Int*, 2013; ID 638057.
13. Beghi, E., Monticelli, M.L., Chronic symmetric symptomatic polyneuropathy in the elderly: a field screening investigation of risk factors for polyneuropathy in two Italian

- communities. Italian General Practitioner Study Group (IGPST). *J. Clin. Epidemiol.* 51, 1998; 697–702.
14. Bekka R, Borron SW, Astier A, Sandouk P, Bismuth C, Baud FJ, Treatment of methanol and isopropanol poisoning with intravenous fomepizole. *J Toxicol Clin Toxicol*, 2001; 39(1):59-67.
 15. Ben Taleb Z, Bahelah R, Viewpoint: Methanol poisoning outbreak in Libya: A need for policy reforms. *J Public Health Policy*, 2014; 35(4):489-498.
 16. Bennett IL, Cary FH, Mitchell GL, Cooper NM. Acute methyl alcohol poisoning: a review based on experiences in an outbreak of 323 cases. *Medicine (Baltimore)*, 1953; 32:43 1-62.
 17. Bezdicek, O, Klempir, J, Lisková I, Michalec J, Vaneckova M, Seidl Z, Janikova B, Miovsky M, Hubacek JA, Diblik P, Kuthan P, Pilin A, Kurcová I, Fenclova Z, Petrik V, Navratil T, Pelclova D, Ruzicka E, Zakharov S, Sequelae of methanol poisoning for cognition. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, 2014; 77/110(3):320-325.
 18. Bezdicek O, Michalec J, Vaneckova M, Klempir J, Liskova I, Seidl Z, Janikova B, Miovsky M, Hubacek J, Diblik P, Kuthan P, Pilin A, Kurcova I, Fenclova Z, Petrik V, Navratil T, Pelclova D, Zakharov S, Ruzicka E, Cognitive sequelae of methanol poisoning involve executive dysfunction and memory impairment in cross-sectional and long-term perspective. *Alcohol*, 2017; 59:27–35.
 19. Blanco M, Casado R, Vázquez F, Pumar JM, CT and MR imaging findings in methanol intoxication. *Am J Neuroradiol*, 2006; 27(2):452-454.
 20. Brahmi N, Blel Y, Abidi N, Kouraichi N, Thabet H, Hedhili A, Amamou M, Methanol poisoning in Tunisia: report of 16 cases. *Clin Toxicol*, 2007; 45(6):717-720.
 21. Brent J, McMartin K, Phillips S, Aaron C, Kulig K, Fomepizole for the treatment of methanol poisoning. *N Engl J Med*, 2001; 344(6):424–429.
 22. Brierly JB, Graham DI, *Hypoxia and vascular disorders of the central nervous system*. In: JH Adams, JAN Corsellis, LW Duchen (eds). *Greenfield's Neuropathology*. Edward A., London, 1984; 125–207.
 23. Burns MJ, Graudins A, Aaron CK, McMartin K, Brent J, Treatment of methanol poisoning with intravenous 4-methylpyrazole. *Ann Emerg Med*, 1997; 30(6):829-832.

24. Charness, M.E., Simon, R.P., Greenberg, D.A., 1989. Ethanol and the nervous system. *NEJM* 321, 442–454.
25. Chi-Ren H, Wen-Neng C, Nai-Wen T, Cheng-Hsien L, Serial nerve conduction studies in vitamin B12 deficiency-associated polyneuropathy. *Neurol Sci*, 2011, 32, 183-186.
26. Chiò A, Herrero Hernandez E, Mora G, Valentini C, Discalzi G, Pira E, Motor neuron disease and optic neuropathy after acute exposure to a metanol-containing solvent mixture. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*, 2004; 5:188–91.
27. Colloby SJ, McParland S, O’Brien JT, Attems J. Neuropathological correlates of dopaminergic imaging in Alzheimer’s disease and Lewy body dementias. *Brain* 2012; 135:2798–808.
28. Comoglu S, Ozen B, Ozbakir S, Methanol intoxication with bilateral basal ganglia infarct. *Australas Radiol* 2001; 45:357–8.
29. Darcourt J, Booij J, Tatsch K, Varrone A, Vander Borgh T, Kapucu OL, EANM procedure guidelines for brain neurotransmission SPECT using (123)I-labelled dopamine transporter ligands, Version 2. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2010; 37(2):443–450.
30. Davis LE, Adair JC, Parkinsonism from methanol poisoning: benefit from treatment with antiparkinson drugs. *Mov Disord*, 1999; 14(3):520–522.
31. Dilip MN, Sankalia DM, Saraiya SP. Acute methyl alcohol poisoning “the blind drunk” – a review. *GJRA*, 2013; 2(6):28-29.
32. Duman E, Akgür SA, Oztürk P, Sen F, Fatal poisonings in the Aegean region of Turkey. *Vet Hum Toxicol*, 2003; 45(2):106-108.
33. Eells JT, McMartin KE, Black K, Virayotha V, Tisdell RH, Tephly TR, Formaldehyde poisoning. Rapid metabolism to formic acid. *JAMA*, 1981a; 246(11):1237-1238.
34. El-Salem K, Ammari F, Neurophysiological changes in neurologically asymptomatic hypothyroid patients: a prospective cohort Study, *J Clin Neurophysiol*, 2006; 23(6) 568-572.
35. English A, Brown J, Rovner J, Davies S, Methanol, *Wiley Online Library*, Published online: 16. 3. 2015, DOI: 10.1002/0471238961.1305200805140712.a01.pub3
36. Feany, MB, Anthony DC, Frosch MP, Zane W, De Girolami U, August 2000: Two cases with necrosis and hemorrhage in the putamen and white matter. *Brain Pathol*. 2001; 11(1):121-122.

37. Galer, B.S., Gianas, A., Jensen, M.P., 2000. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 47, 123–128.
38. Gaul HP, Wallace CJ, Auer RN, Fong TC, MR findings in methanol intoxication. *Am J Neuroradiol*, 1995; 16(9):1783-1786.
39. Ghosh A, Boyd R, Leucovorin (calcium folinate) in “antifreeze” poisoning, *Emerg Med J*, 2003; 20(5), 466.
40. Gille M, Depre A, Delbecq J, Van den Bergh P, Motor neuropathy, putaminal necrosis and optic nerve atrophy following acute metanol poisoning. *Rev Neurol*, 1998; 154:862.
41. Giovanetti F, Methanol poisoning among travellers to Indonesia. *Travel Med Infect Dis*, 2013; 11(3):190-193.
42. Glazer M, Dross P. Necrosis of the putamen caused by methanol intoxication: MR findings. *AJR Am J Roentgenol*, 1993; 160:1105–6.
43. Giudicissi Filho M, Holanda CV, Nader NA, Gomes SR, Bertolucci PH, Bilateral putaminal hemorrhage related to methanol poisoning: A complication of hemodialysis? Case report. *Arq Neuropsiquiatr*, 1995; 53:485–487.
44. Gummin DD, Mowry JB, Spyker DA, Brooks DE, Beuhler MC, Rivers LJ, Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 36th Annual Report. *Clin Toxicol*, 2019;57(12):1220–413.
45. Gülmen MK, Meral D, Hilal A, Akcan R, Çekin N, Methanol intoxications in Adana, Turkey. *Toxicol Mech Methods*, 2006; 16(7):353-357.
46. Haber SN, Corticostriatal circuitry. *Dialogues Clin Neurosci*; 2016; 18(1):7–21.
47. Hageman G, Van der Hoek J, Van Hout M, van der Laan G, Steur EJ, De Bruin W, Herholz K, Parkinsonism, pyramidal signs, polyneuropathy, and cognitive decline after long-term occupational solvent exposure. *J Neurol*, 1999; 246(3):198–206.
48. Halavaara J, Valanne L, Setälä K, Neuroimaging supports the clinical diagnosis of methanol poisoning. *Neuroradiology*, 2002 44:924–928.
49. Hantson P, Duprez T, Mahieu P, Neurotoxicity to the basal ganglia shown by magnetic resonance imaging (MRT) following poisoning by methanol and other substances. *J Toxicol-Clin Toxicol*, 1997; 35:151–161.

50. Hassanian-Moghaddam H, Pajoumand A, Dadgar SM, Shadnia SH, Prognostic factors in methanol poisoning. *Hum Exp Toxicol*, 2007; 26(7):583-586.
51. Hassanian-Moghaddam H, Nikfarjam A, Mirafzal A, Saberinia A, Nasehi AA, Masoumi Asl H, Memaryan N, Methanol mass poisoning in Iran: role of case finding in outbreak management. *J Public Health*, 2015 37(2):354–359.
52. Hassanian-Moghaddam H, Bahrami-Motlagh H, Zamani N, Amirhossein Fazeli S, Behnam B, Intracranial Hemorrhage in Methanol Toxicity: Challenging the Probable Heparin Effect during Hemodialysis. *Res Pharm Pract*, 2017; 6(3):186–189.
53. Hayreh MS, Hayreh SS, Baumbach GL, Cancilla P, Martin-Amat G, Tephly TR, Methyl alcohol poisoning III. Ocular toxicity. *Arch Ophthalmol*, 1977; 95:1851–1858.
54. Hernández MA, Holanda MS, Tejerina EE, González C, López M, Hernández JL, Methanol poisoning and heparin: A dangerous couple? *Am J Emerg Med*. 2004; 22:620–621.
55. Hlusicka J, Loster T, Lischkova L, Vaneckova M, Diblik P, Urban P, Navratil T, Kacer P, Kacerova T, Zakharov S, Markers of nucleic acids and proteins oxidative damage in acute methanol poisoning. *Monatsh Chem* 2019a; 150(3):477-487.
56. Hlusicka J, Loster T, Lischkova L, Vaneckova M, Diblik P, Urban P, Navratil T, Kacer P, Kacerova T, Zakharov S, Reactive carbonyl compounds, carbonyl stress and neuroinflammation in methyl alcohol intoxication. *Monatsh Chem*, 2019b; 150:1723-1730.
57. Hlusicka J, Mana J, Vaneckova M, Kotikova K, Diblik P, Urban P, Navratil T, Marechal B, Kober T, Zakharov S, MRI-based brain volumetry as a biomarker of outcomes in acute methanol poisoning. *NeuroToxicology*, Submitted 2020.
58. Hovda KE, Hunderi OH, Rudberg N, Froyshov S, Jacobsen D, Anion and osmolal gaps in the diagnosis of the methanol poisoning: clinical study in 28 patients. *Intensive Care Med*, 2004; 30:1842–1846.
59. Hovda KE, Hunderi OH, Tafjord AB, Dunlop O, Rudberg N, Jacobsen D, Methanol outbreak in Norway 2002–2004: Epidemiology, clinical features and prognostic signs. *J Intern Med*, 2005a; 258(2):181-190.
60. Hubacek JA, Pelclova D, Seidl Z, Vaneckova M, Klempir J, Ruzicka E, Rare alleles within the CYP2E1 (MEOS system) could be associated with better short-term health

- outcome after acute methanol poisoning, *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2015 Feb;116(2):168-172.
61. Jain N, Himanshu D, Verma SP, Methanol poisoning: characteristic MRI findings. *Ann Saudi Med*, 2013; 33:68-69.
 62. Jacobsen D, Jansen H, Wiik-Larsen E, Bredesen JE, Halvorsen S, Studies on methanol poisoning. *Acta Med Scand*, 1982b; 212(1-2):5-10.
 63. Jacobsen D, McMartin KE, Methanol and ethylene glycol poisonings. Mechanism of toxicity, clinical course, diagnosis and treatment. *Med Toxicol*, 1986; 1(5):309-334.
 64. Jakobson Mo S, Axelsson J, Jonasson L, Larsson A, Ögren MJ, Ögren M, et al. Dopamine transporter imaging with [18F] FE-PE2I PET and [123I] FP-CIT SPECT-a clinical comparison. *EJNMMI Res*. 2018;8(1):100.
 65. Jain N, Himanshu D, Verma SP, Parihar A, Methanol poisoning: characteristic MRI findings. *Ann Saudi Med*, 2013; 33:68–69.
 66. Jansen TC, van Bommel J, Mulder PG, Rommes JH, Schieveld SJ, Bakker J, The prognostic value of blood lactate levels relative to that of vital signs in the pre-hospital setting: A pilot study. *Crit Care*, 2008; 12: R160.
 67. Jarwani BS, Motiani P, Divetia R, Thakkar G, Rare combination of bilateral putaminal necrosis, optic neuritis and polyneuropathy in a case of acute methanol intoxication among patients met with hooch tragedy in Gujarat, India. *J Emerg Trauma Shock*, 2012; 5:356–359.
 68. Johannsen, L, Smith, T, Havsager A, Madsen C, Kjeldsen, MJ, Dalsgaard, N, Gaist, D, Schröder, H, Sindrup, SH, Evaluation of patients with symptoms suggestive of chronic polyneuropathy, *J Clin Neuromusc, Dis*, 2001; 3(2) 47–52.
 69. Jones GR, Singer PP, Rittenbach K, The relationship of methanol and formate concentrations in fatalities where methanol is detected. *J Forensic Sci*, 2007; 52(6):1376-1382.
 70. Jones SJ, Brusa A, Neurophysiological evidence for long-term repair of MS lesions: implications for axon protection. *J Neurol Sci*, 2003; 206:193–198.
 71. Kalkan S, Cevik AA, Cavdar C, Aygoren O, Akgun A, Ergun N, Tuncok Y, Acute methanol poisonings reported to the drug and poison information center in izmir, Turkey. *Vet Hum Toxicol*, 2003; 45(6):3.

72. Kim TJ, Kim IO, Kim WS, Cheon JE, Moon SG, Kwon JW, Seo JK, Yeon LM, MR imaging of the brain in Wilson disease of childhood: Findings before and after treatment with clinical correlation. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2006; 27:1373–1378.
73. Klein KA, Warren AK, Baurnal CR, Hedges TR, Optical coherence tomography findings in methanol toxicity, *Int J Retina Vitreous* 2017; 25(3):36.
74. Koehrer P, Creuzot-Garcher C, Bron AM, Methanol poisoning: Two case studies of blindness in Indonesia. *Int Ophthalmol* 2011; 31(6):517-524.
75. Koopmans RA, Li DK, Paty DW, Basal ganglia lesions in methanol poisoning: MR appearance. *J Comput Assist Tomogr*, 1988; 12:168-170.
76. Kordower JH, Olanow CW, Dodiya HB, Chu Y, Beach TG, Adler CH, et al. Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson's disease. *Brain* 2013; 136:2419–431.
77. Kraut JA, Kurtz I, Toxic alcohol ingestions: Clinical features, diagnosis, and management. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2008; 3(1):208-225.
78. Kruse JA, Methanol poisoning, *Intensive Care Med* 1992; 18:391-397.
79. Kuteifan K, Oesterlé H, Tajahmady T, Gutbub AM, Laplatte G, Necrosis and haemorrhage of the putamen in methanol poisoning shown on MRI. *Neuroradiology*, 1988; 40:158–160.
80. Kumar SS, Boopathy SK, Bhaskar ME, Methanol poisoning-a Chennai experience. *J Assoc Physicians India*, 2003; 51:425–426.
81. Lawlen GA, Pennock JM, Steiner RE, Jenkins WJ, Sherlock S, Young IA, Nuclear magnetic resonance imaging in Wilson disease. *J Comput Assist Tomogr*, 1983; 7:1-8.
82. LeWitt PA, Martin SD, Dystonia and hypokinesia with putaminal necrosis after methanol intoxication. *Clin Neuropharmacol*, 1988; 11(2):161–167.
83. Ley CO, Gali FG, Parkinsonian syndrome after methanol intoxication. *Eur Neurol*, 1983; 22(6):405–409.
84. Liesivuori J, Savolainen H, Methanol and Formic Acid Toxicity: Biochemical Mechanisms. *Pharmacol Toxicol*, 1991; 69(3):157-163.
85. Likosky D, Rutchik JS, Talavera F, Jimenez NG. Methanol. *eMedicine*, March 2005
86. Luo X, Mao Q, Shi J, Wang X, Li CR, Putamen gray matter volumes in neuropsychiatric and neurodegenerative disorders. *World J Psychiatry Ment Health Res*, 2019; 3(1):1020.

87. Mana J, Vaneckova M, Klempíř J, Lisková I, Brožová H, Polaková K, Seidl Z, Miovský M, Pelclová D, Bukačová K, Maréchal B, Kober T, Zakharov S, Růžička E, Bezdicek O, Methanol Poisoning as an Acute Toxicological Basal Ganglia Lesion Model: Evidence from Brain Volumetry and Cognition. *Alcohol Clin Exp Res.* 2019; 43(7):1486-1497.
88. Martin-Amat G, Tephly TR, McMartin KE, Makar AB, Hayreh MS, Hayreh SS, Methyl alcohol poisoning. II. Development of a model for ocular toxicity in methyl alcohol poisoning using the rhesus monkey. *Arch Ophthalmol.* 1977; 95:1847–1850.
89. Massoumi G, Saberi K, Eizadi-Mood N, Shamsi M, Alavi M, Morteza A, Methanol poisoning in Iran, from 2000 to 2009. *Drug Chem Toxicol*, 2012; 35(3):330-333.
90. Salzman M, Methanol Neurotoxicity, *Im Clin Toxicol*, 2006; 44 (1):89-90.
91. McCoy HG, Cipolle RJ, Ehlers SM, Sawchuk RJ, Zaske DE, Severe methanol poisoning: application of a pharmacokinetic model for ethanol therapy and hemodialysis. *Am J Med*, 1979; 67(5):804-807.
92. McLean DR, Jacobs H, Mielke BW, Methanol poisoning – a clinical and pathological study. *Ann Neurol* 1980; 8:161–167.
93. McNeill A, Birchall D, Hayflick SJ, Gregory A, Schenk JF, Zimmerman EA, T2* and FSE MRI distinguishes four subtypes of neurodegeneration with brain iron accumulation. *Neurology*, 2008; 70:1614–1619.
94. Meyer RJ, Beard ME, Ardagh MW, Henderson S, Methanol poisoning. *N Z Med J*, 2000; 113:11–13.
95. Mirpour S., Turkbey EB, Marashdeh W, El Khouli R, Subramaniam RM, Impact of DAT-SPECT on Management of Patients Suspected of Parkinsonism, *Clin Nucl Med*, 2018; 43(10):710-714.
96. Moghadami M, Masoumpoor M, Tabei SMB, Tabaei SMH, Sadeghi H, Gholami K, Lankarani KB, Therapeutic response to folinic acid in methanol poisoning epidemic in Shiraz. *Iran J Med Sci*, 2008; 33(1):22-26.
97. Mohan D, Chopra A, Ray R, Sethi H, *India*. In: *Surveys of drinking patterns and problems in seven developing countries* (Demers A, Room R, Bourgault C, Eds.); World Health Organization, Geneva, 2001, 103-114.

98. Monforte R, Estruch R, Valls-Solé J, Nicolás J, Villalta J, Urbano-Marquez A, Autonomic and peripheral neuropathies in patients with chronic alcoholism. A dose-related toxic effect of alcohol. *Arch Neurol*, 1995; 52:45–51.
99. Moral AR, Çankayali I, Sergin D, Boyacılar Ö, Neuromuscular Functions on Experimental Acute Methanol Intoxication. *Turk J Anaesthesiol Reanim*, 2015; 43(5):337–343.
100. Mycyk MB, Leikin JB, Antidote review: Fomepizole for methanol poisoning. *Am J Ther*, 2003; 10(1):68-70.
101. 102.National Health Insurance Research Database. Background. Accessed from <http://nhird.nhri.org.tw/en/index.html> on 9 Apr 2017.
102. Nirdesh J, Dandu H, Shailendra PV, Anit P, Methanol poisoning: Characteristic MRI findings, *Ann Saudi Med*, 2013; 33(1):68–69.
103. Nurieva O, Kotikova K, Urban P, Pelclova D, Petrik V, Navratil T, Zakharov S, Prevalence, dynamics, and biochemical predictors of optic nerve remyelination after methanol-induced acute optic neuropathy: A two-year prospective study in 54 patients. *Monatsh Chem*, 2016, 147(1):239-249.
104. Nurieva O, Diblik P, Kuthan P, Sklenka P, Meliska M, Bydzovsky J, Progressive chronic retinal axonal loss following acute methanol-induced optic neuropathy: Four-year prospective cohort study. *Am J Ophth*, 2018; 191:100–115.
105. Nurieva O, Hubacek JA, Urban P, Hlusicka J, Diblik P, Kuthan P, Sklenka P Meliska M, Bydzovsky J, Heissigerova J, Kotikova K, Navratil T, Komarc M, Seidl Z, Vaneckova M, Vojtova L, Zakharov S, Clinical and genetic determinants of chronic visual pathway changes after methanol – induced optic neuropathy: Four-year follow-up study. *Clin Toxicol*, 2019; 57(6):387-397.
106. Okuzumi A, Hatano T, Kamagata K, Hori M, Mori A, Oji Y, et al. Neuromelanin or DaT-SPECT: which is the better marker for discriminating advanced Parkinson's disease? *Eur J Neurol*. 2019;26(11):1408–16.
107. Onder F, Ilker S, Kansu T, Tatar T, Kural G, Acute blindness and putaminal necrosis in methanol intoxication. *Int Ophthalmol*, 1998-1999; 22(2):81-84.

108. Orthner H, Methylalkoholvergiftung mit besonders schweren Hirnveränderungen; ein Beitrag zur Permeabilitätspathologie des Gehirns. *Virchows Arch Path Anat.* 1953;323(4):442–464.
109. Osborne AG, Salzman KL, Barkovich AJ, *Diagnostic imaging. Brain.* 2nd ed. Salt Lake City (UT): Amirsys 2010.
110. Paasma R, Hovda KE, Tikkerberi A, Jacobsen D, Methanol mass poisoning in Estonia: Outbreak in 154 patients. *Clin Toxicol*, 2007; 45(2):152–157.
111. Paasma R, Hovda KE, Jacobsen D, Methanol poisoning and long-term sequelae – a six years follow-up after a large methanol outbreak. *BMC Clin Pharmacol*, 2009; 9:5.
112. Paasma R, Hovda KE, Hassanian-Moghaddam H, Brahmi N, Afshari R, Sandvik L, Jacobsen D, Risk factors related to poor outcome after methanol poisoning and the relation between outcome and antidotes – a multicenter study. *Clin Toxicol*, 2012; 50(9):823-831.
113. Paasma R, Clinical study of methanol poisoning: handling large outbreaks, treatment with antidotes, and long-term outcomes. Faculty of Medicine, University of Tartu, Estonia, 2013, 1-96.
114. Pantoni L, Garcia J, Gutierrez J. Cerebral white matter is highly vulnerable to ischemia. *Stroke* 1996; 27: 1641– 7.
115. Phang PT, Passerini L, Mielke B, Berendt R, King EG, Brain hemorrhage associated with methanol poisoning. *Crit Care Med*, 1988; 16(2):137-140.
116. Peterova K, Brozova H, Klempir J, Liskova I, Bezdicek O, Ridzoň P, Vaneckova M, Zakharov S, Pelclova D, Miovsky M, Ruzicka E, Gait and Balance Impairment after Acute Methanol Poisoning, *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2018; 122(1):176-182.
117. Peterson CD, Oral ethanol doses in patients with methanol poisoning. *Am J Hosp Pharm*, 1981; 38(7):1024-1027.
118. Pirart, J., 1977. Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4400 patients observed between 1947 and 1973. *Diabete. Metab.* 3, 245–256.
119. Pohanka M, Toxicology and the biological role of methanol and ethanol: Current view. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2015; 160(1):54-63.
120. Rachinger J, Fellner FA, Stieglbauer K, Trenkler J, MR changes after acute cyanide intoxication. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2002; 23:1398–1401.

121. Ravichandran RR, Dudani RA, Almeida AF, Chawla KP, Acharya VN, Methyl alcohol poisoning. (Experience of an outbreak in Bombay). *J Postgrad Med*, 1984; 30(2):69-74.
122. Rietjens S, de Lange D, Meulenbelt J, Ethylene glycol or methanol intoxication: Which antidote should be used, fomepizole or ethanol. *Neth J Med* 2014; 72(2):73–79.
123. Roberts DM, Yates C, Megarbane B, Winchester JF, Maclaren R, Gosselin S, Nolin TD, Lavergne V, Hoffman RS, Ghannoum M, EXTRIP Work Group. Recommendations for the role of extracorporeal treatments in the management of acute methanol poisoning: A systematic review and consensus statement. *Crit Care Med*, 2015; 43(2):461-472.
124. Rulisek J, Waldauf P, Belohlavek J, Balik M, Kotikova K, Hlusicka J, Health-related quality of life determinants in survivors of a mass methanol poisoning outbreak: six-year prospective cohort study. *Clin Toxicol*. 2020; 8:1-11.
125. Sainio MA, Neurotoxicity of solvents. *Handb Clin Neurol*, 2015; 131:93-110.
126. Sanaei-Zadeh H, Esfeh SK, Zamani N, Jamshidi F, Shadnia S, Hyperglycemia is a strong prognostic factor of lethality in methanol poisoning. *J Med Toxicol* 2011; 7:189–194.
127. Sanaei-Zadeh H, Magnetic resonance imaging and computed tomography scan findings in methanol poisoning. *Ann Indian Acad Neurol*, 2013, 16(4):738-739.
128. Savoldi, F., Ceroni, M., Camana, C., Franciotta, D.M., Giardini, G., Farilla, C., Soffiantini, F., et al. Polineuropatie. In: *Lezioni di Neurologia*, Vol. 1, 1995; 119-139; CUSL, Pavia.
129. Schuster HP, Prognostic value of blood lactate in critically ill patients. *Resuscitation*, 1984; 11:141–146.
130. Sefidbakht S, Rasekhi AR, Kamali K, Borhani Haghighi A, Salooti A, Meshksar A, Methanol poisoning: acute MR and CT findings in nine patients. *Neuroradiology*, (2007) 49:427–435.
131. Seidenwurm D, Novotny E, Marshall W, Enzmann D, MR and CT in cytoplasmically inherited striatal degeneration. *AJNR* 1986; 7:629-632.
132. Server A, Hovda KE, Nakstad PH, Jacobsen D, Dullerud R, Haakonsen M, Conventional and diffusion-weighted MRI in the evaluation of methanol poisoning. *Acta Radiol*, 2003; 44:691–695.

133. Shankaran S, Niimura K, Muzik O, Chugani D, Mantaring J, Kumar P, et al. Selective vulnerability of posterior putamen on positron emission tomography (pet) in perinatal hypoxic-ischemic brain injury. *Pediatric Research* 1999; 45:347.
134. Sharma P, Eesa M, Scott JN, Toxic and acquired metabolic encephalopathies: MRI appearance. *AJR Am J Roentgenol*, 2009; 193:879–886.
135. Sharpe JA, Hostovsky M, Bilbao JM, Rewcastle NB, Methanol optic neuropathy: a histopathological study. *Neurology*, 1982; 32(10):1093-1100.
136. Silver DA, Cross M, Fox B, Paxton RM, Computed tomography of the brain in acute carbon monoxide poisoning. *Clin Radiol* 1996; 51:480–483.
137. Singh P, Paliwal VK, Neyaz Z, Kanaujia V, Methanol toxicity presenting as haemorrhagic putaminal necrosis and optic atrophy. *Pract Neurol*, 2013; 13:204–205.
138. Sivilotti ML, Burns MJ, Aaron CK, McMartin KE, Brent J, Reversal of severe methanol-induced visual impairment: no evidence of retinal toxicity due to fomepizole. *J Toxicol Clin Toxicol*, 2001; 39(6):627-631.
139. Sixel-Döring F, Liepe K, Mollenhauer B, Trautmann E, Trenkwalder C, The Role of 123I-FP-CIT-SPECT in the Differential Diagnosis of Parkinson and Tremor Syndromes: A Critical Assessment of 125 Cases. *J Neurol* 2011, 258(12):2147-2154.
140. Smith I, Kumar P, Molloy S, Rhodes A, Newman PJ, Grounds RM, Base excess and lactate as prognostic indicators for patients admitted to intensive care. *Intensive Care Med* 2001; 27:74–83.
141. Srivastava T, Kadam N, Bilateral putaminal hemorrhagic necrosis with rapid recovery of sensorium in a patient with methanol intoxication. *J Postgrad Med*, 2013; 59:243–244.
142. Sturkenboom MGG, van Rieke HM, Uges DRA, Treatment of ethylene glycol and methanol poisoning: why ethanol? Review. *Neth J Crit Care*, 2009; 13(6):297-302.
143. Symon L, Pasztor E, Dorsch NW, Branston NM, Physiological responses of local areas of the cerebral circulation in experimental primates determined by the method of hydrogen clearance. *Stroke*, 1973; 4:632–642.
144. Taheri MS, Moghaddam HH, Moharamzad Y, The value of brain CT findings in acute methanol toxicity. *Eur J Radiol*, 2010; 73:211-214.
145. Taheri MS, Noori M, Shakiba M, Jalali AH, Brain CT-scan findings in unconscious patients after poisoning. *Int J Biomed Sci*, 2011; 7:1–5.

146. Tephly TR, The toxicity of methanol. *Life Sci*, 1991; 48(11):1031-1041.
147. Ueno M, Tomimoto H, Akiguchi I, Wakita H, Sakamoto H. Blood–brain barrier disruption in white matter lesions in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002; 22: 97– 104.
148. Unsal A, Basturk T, Sakac T, Ahbap E, Koç Y, Yilmaz M, Epidemic acute methanol intoxication as a result of illicit alcohol ingestion. *Nephro-Urol Mon*, 2012; 4(1):366-371.
149. Urban P, Zakharov S, Diblik P, Pelclova D, Ridzon P, Visual evoked potentials in patients after methanol poisoning. *Int J Occup Med Environ Health*, 2016; 29(3):471-8.
150. Van der Knapp MS, Magnetic Resonance of Myelination and Myelin Disorder. *American Journal of Neuroradiology*, 2006, 27 (4) 947-948.
151. Vaneckova M, Zakharov S, Klempir J, Ruzicka E, Bezdicek O, Brozova H, Diblik P, Miovsky M, Hubacek Ja, Urban P, Ridzon P, Pelclova D, Burgetova A, Masek M, Kotikova K, Peterova K, Liskova I, Hamplova L, Seidl Z, Imaging findings after methanol intoxication (cohort of 46 patients). *Neuro Endocrinol Letters*, 2015, 36(8), 737-744.
152. Vaneckova M, Zakharov S, Klempir J, Ruzicka E, Bezdicek O, Liskova I, Metanol intoxication on magnetic resonance paging – Case reports. *Cesk Slov Neurol*, 2014; 77:235–239.
153. Vaneckova M, Klempir J, Pelclova D, Bezdicek O, Liskova I, Brozova H, Polakova K, Diblik P, Miovsky M, Hubacek J, Hlusicka J, Kotikova K, The spectrum of brain MRI findings of methanol intoxication after the methanol affair in the Czech Republic, *J Neurol Sci*, 2019:363
154. Varrone A, Dickson JC, Tossici-Bolt L, Sera T, Asenbaum S, Booiij J, et al. European multicentre database of healthy controls for [123I] F Varrone A, Dickson JC, Tossici-Bolt L, Sera T, Asenbaum S, Booiij J, et al. European multicentre database of healthy controls for [123I] FP-CIT SPECT (ENC-DAT): age-related effects, gender differences and evaluation of different methods of analysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013; 40:213–27. P-CIT SPECT (ENC-DAT): age-related effects, gender differences and evaluation of different methods of analysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013; 40:213–27.

155. Viola A, Stvrtina S, Bauer V, Zaviacic M, Morphologic and clinical sequelae of focal ischemic lesions. *Ceskoslovenska Patologie* 2000; 36(4):140–145.
156. Vittadini, G., Buonocore, M., Colli, G., Terzi, M., Fonte, R., Biscaldi, G., 2001. Alcoholic polyneuropathy: a clinical and epidemiological study. *Alcohol Alcohol.* 36, 393–400.
157. Vyas S, Kaur N, Sharma N, Singh P, Khandelwal N, Methanol poisoning. *Neurol India.* 2009; 57:835–836.
158. Wetterling, T., Veltrup, C., Driessen, M., John, U., Drinking pattern and alcohol-related medical disorders. *Alcohol Alcohol.* 1999; 34, 330–336.
159. Yaycia N, Ağritmişb H, Turlac A, Koçd S, Fatalities due to methyl alcohol intoxication in Turkey:an 8year study. *Forensic Sci Int*, 2003; 131(1):36-41.
160. Zakharov S, Odborné doporučení pro intoxikaci metanolem. *Urgentní medicína.*, 2012; 15(3):33-37.
161. Zakharov S, Pelclova D, Navratil T, Belacek J, Kurcova I, Komzak O, Intermittent hemodialysis is superior to continuous veno-venous hemodialysis/hemodiafiltration to eliminate methanol and formate during treatment for methanol poisoning. *Kidney Int*, 2014a; 86:199-207.
162. Zakharov S, Pelclova D, Urban P, Navratil T, Diblik P, Kuthan P, Hubacek JA, Miovsy M, Klempir J, Vaneckova M, Seidl Z, Pilin A, Fenclova Z, Petrik V, Kotikova K, Nurieva O, Ridzon P, Rulisek J, Komarc M, Hovda KE, Czech mass methanol outbreak 2012: Epidemiology, challenges and clinical features. *Clin Toxicol*, 2014b, 52(10):1013–1024.
163. Zakharov S, Nurieva O, Navratil T, Diblik P, Kuthan P, Pelclova D, Acute methanol poisonings: Folates administration and visual sequelae. *J Appl. Biomed.*, 2014c, 12(4), 309-316.
164. Zakharov S, Pelclova D, Navratil T, Belacek J, Komarc M, Eddleston M, Hovda KE, Fomepizole versus ethanol in the treatment of acute methanol poisoning: Comparison of clinical effectiveness in a mass poisoning outbreak. *Clin. Toxicol*, 2015a, 53(8), 797-806.
165. Zakharov S, Pelclova D, Diblik P, Urban P, Kuthan P, Nurieva O, Kotikova K, Navratil T, Komarc M, Belacek J, Seidl Z, Vaneckova M, Hubacek JA, Bezdicek O, Klempir J, Yurchenko M, Ruzicka E, Miovsy M, Janikova B, Hovda KE, Long-term visual damage after acute methanol poisonings: Longitudinal cross-sectional study in 50 patients. *Clin Toxicol.* 2015b; 53(9):884-92.

166. Zakharov S, Kurcova I, Navratil T, Salek T, Pelclova D. Is the measurement of serum formate concentration useful in the diagnostics of acute methanol poisoning? A prospective study of 38 patients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2015c; 116:445-451
167. Zakharov S, Navratil T, Pelclova D, Analysis of serum anion gap and osmolal gap in diagnosis and prognosis of acute methanol poisoning: Clinical study in 86 patients. *Monatsh Chem*. 2015d; 146:787–794
168. Zakharov S, Nurieva O, Kotikova K, Urban P, Navratil T, Pelclova D. Factors predicting optic nerve axonal degeneration after methanol-induced acute optic neuropathy: a two-year prospective study in 54 patients. *Monatshefte fur Chemie* 2016; 147: 251– 61.
169. Zakharov S, Pelclova D, Navratil T, Belacek J, Latta J, Pizar M, Rulisek J, Leps J, Zidek P, Kucera C, Bocek R, Mazur M, Belik Z, Chalupa J, Talafa V, Kodras K, Nalos D, Sedlak C, Senkyrik M, Smid J, Salek T, Roberts DM, Hovda KE, Efficiency of acidemia correction on intermittent versus continuous hemodialysis in acute methanol poisoning. *Clin Toxicol*, 2017a; 55(2):123-132.
170. Zakharov S, Kotikova K, Nurieva O, Hlusicka J, Kacer P, Urban P, Vaneckova M, Seidl Z, Diblik Z, Kuthan P, Navratil T, Pelclova D, Leukotriene-mediated neuroinflammation, toxic brain damage, and neurodegeneration in acute methanol poisoning. *Clin Toxicol*, 2017b; 55(4), 249–259.
171. Zakharov S, Nurieva O, Kotikova K, Belacek J, Navratil T, Pelclova D, Positive serum ethanol concentration on admission to hospital as the factor predictive of treatment outcome in acute methanol poisoning. *Monatsh Chem*, 2017c; 148(3):409–419.
172. Zakharov S, Rulisek J, Hlusicka J, Kotikova K, Navratil T, Komarc M, Vaneckova M, Seidl Z, Diblik P, Bydzovsky J, Heissigerova J, Zogala D, Hubacek JA, Miovsky M, Sejvl J, Vojtova L, Pelclova D, The impact of co-morbidities on outcomes and six-year survival in a methanol mass poisoning outbreak. *Clin Toxicol*, 2020; 58(4):241-253.

8. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Laboratorní hodnoty pacientů s akutní otravou metanolem při přijetí do nemocnice (mediány s IQR).

Tabulka 2. Klinické parametry při přijetí a léčba pacientů s akutní intoxikací metanolem.

Tabulka 3. Antikoagulační léčba během hemodialýzy a hemoragické léze v mozku.

Tabulka 4. Základní demografické, klinické, laboratorní a MRI-volumetrické charakteristiky studované populace.

Tabulka 5. Specifické vazebné poměry (SBR) pro striatum, putamen a nucleus caudate u pacientů, kteří přežili akutní otravu metanolem.

Tabulka 6. Korelace mezi pH arteriální krve při přijetí a SBR pro pravý (a) a levý (b) putamen posterior.

Tabulka 7. Základní demografické, klinické a laboratorní údaje o pacientech ze studované populace, průměr s SD ($n = 55$) a počty ($n, \%$).

Tabulka 8. Kontrolní laboratorní parametry u pacientů s periferní polyneuropatií (PNP) ve srovnání s pacienty bez polyneuropatie.

Tabulka 9. Demografické, laboratorní a klinické údaje 8 pacientů s negativní dynamikou elektromyografických nálezů.

9. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Diagram MRI nálezů v mozku u pacientů zahrnutých do studie.

Obrázek 2. Nehemoragická bilaterální symetrická nekróza putamen u pacienta léčeného masivními dávkami heparinu.

Obrázek 3. Multifokální hemoragické léze mozku (čárkované šipky označují hemoragickou bilaterální symetrickou nekrózu putamen; plné šipky označují subkortikální hemoragické léze).

Obrázek 4. Příklad nálezů na DaT SPECT u pacienta s velmi závažnou (a) a méně závažnou otravou metanolem (b).

Obrázek 5. Korelace mezi SBR a objemy levého putamen (a) a putamen posterior(b).

Obrázek 6. Korelace mezi pH arteriální krve při přijetí a SBR pro pravý (a) a levý (b) putamen posterior.

Obrázek 7. Analýza ROC křivky SBR pro putamen jako markeru poškození bazálních ganglií u přeživších otravou metanolem.

Obrázek 8. Histogram věku pacientů ze studované populace s (n = 20) a bez (n = 35) periferní polyneuropatie (PNP).

Obrázek 9. Prevalence periferní polyneuropatie (PNP) a chronický abúzus alkoholu (n = 55).

Obrázek 10. pH arteriální krve při přijetí do nemocnice s akutní otravou metanolem ve skupinách pacientů s a bez periferní polyneuropatie (PNP).

Obrázek 11. Koncentrace metanolu a etanolu v séru při přijetí do nemocnice ve skupinách pacientů s (n = 20) a bez (n = 35) periferní polyneuropatie (PNP).

Obrázek 12. Progredující EMG nález chronického alkoholika, nervus tibialis, 2014/2018.

Obrázek 13. Progredující EMG nález chronického alkoholika, nervus suralis, 2014/2018.

Obrázek 14. Zlepšení EMG nálezu abstinující alkoholičky, nervus suralis, 2015/2018.

Obrázek 15. Zlepšení EMG nálezu abstinující alkoholičky, nervus peroneus, 2015/2018.

10. SEZNAM ORIGINÁLNÍCH PUBLIKACÍ AUTORKY

1. **Katerina Kotikova**, Petr Klepis, Petr Ridzon, Jiri Hlusicka, Tomas Navratil, Jan Rulisek, Ivan Zak, Sergey Zakharov. Peripheral polyneuropathy after acute methanol poisoning: six-year prospective cohort study. *NeuroToxicology* 2020; 79: 67–74. doi.org/10.1016/j.neuro.2020.04.010 **IF (2019): 3.105. Rank 105/270. Quartile Q2, Percentile 61,296%**
2. **Kotikova K**, Zogala D, Ptacnik V, Trnka J, Kupka K, Vaneckova M, Seidl Z, Diblik P, Heissigerova J, Zak I, Navratil T, Komarc M, Zakharov S. Efficiency of 123I-ioflupane SPECT as a marker of basal ganglia damage in acute methanol poisoning: a six-year prospective study. *Clinical Toxicology* 2021; 59(3): 235-245. DOI: 10.21203/rs.3.rs-20376/v1 **IF (2019): 3.659. Rank 18/92. Quartile Q1, Percentile 80,978%**
3. Zakharov S, **Kotikova K**, Vaneckova M, Seidl Z, Nurieva O, Navratil T, Caganova B, Pelclove D. Acute methanol poisoning: Prevalence and predisposing factors of haemorrhagic and non-haemorrhagic brain lesions. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2016, **119(2)**, 228-238. **IF (2016): 3.176. Rank 25/92. Quartile Q2, Percentile 73,370%**
4. Jan Rulisek, Petr Waldauf, Jan Belohlavek, Martin Balik, **Katerina Kotikova**, Jiri Hlusicka, Manuela Vaneckova, Zdenek Seidl, Pavel Diblik, Jan Bydzovsky, Jarmila Heissigerova, Pavel Urban, Michal Miovsky, Jaroslav Sejvl, Daniela Pelclove, Sergey Zakharov. Health-related quality of life determinants in survivors of mass methanol poisoning outbreak: Six-year prospective cohort study. *Clinical Toxicology* 2020. Doi 10.1080/15563650.2019.1702994 **IF (2019): 3.659. Rank 18/92. Quartile Q1, Percentile 80,978%**
5. Zakharov S, Rulisek J, Hlusicka J, **Kotikova K**, Navratil T, Komarc M, Vaneckova M, Seidl Z, Diblik P, Bydzovsky J, Heissigerova J, Zogala D, Hubacek JA, Miovsky M, Sejvl J, Vojtova L, Pelclove D. The impact of co-morbidities on outcomes and six-year survival in a methanol mass poisoning outbreak. *Clinical Toxicology* 2020; 58(4): 241-253. DOI:

10.1080/15563650.2019.1637525 **IF (2019): 3.659. Rank 18/92. Quartile Q1, Percentile 80,978%**

6. Nurieva O, Hubacek JA, Urban P, Hlusicka J, Diblik P, Kuthan P, Sklenka P, Meliska M, Bydzovsky J, Heissigerova J, **Kotikova K**, Navratil T, Komarc M, Seidl Z, Vaneckova M, Vojtova L, Zakharov S. Clinical and genetic determinants of chronic visual pathway changes after methanol – induced optic neuropathy: four-year follow-up study. *Clin Toxicol* 2019; 57: 387-397. **IF (2019): 3.659. Rank 18/92. Quartile Q1, Percentile 80,978%**
7. Nurieva O, Diblik P, Kuthan P, Sklenka P, Meliska M, Bydzovsky J, Heissigerova J, Urban P, **Kotikova K**, Navratil T, Komarc M, Seidl Z, Vaneckova M, Pelclova D, Zakharov S. Progressive chronic retinal axonal loss following acute methanol-induced optic neuropathy: four-year prospective cohort study. *Am J Opth.* 2018;191,100-115. **IF (2018): 4.483. Rank 6/60. Quartile Q1. Percentile 90,833%**
8. Zakharov S, Hlusicka J, Nurieva O, **Kotikova K**, Lischkova L, Kacer P, Kacerova T, Urban P, Vaneckova M, Seidl Z, Diblik P, Kuthan P, Heissigerova J, Lesovsky J, Rulisek J, Vojtova L, Hubacek JA, Navratil T. Neuroinflammation markers and methyl alcohol induced toxic brain damage. *Toxicol Lett.* 2018; 298, 60-69. **IF (2018): 3.499. Rank 26/93. Quartile Q2. Percentile 72,581%**
9. Zakharov S, Nurieva O, Diblik P, Kuthan P, Sklenka P, Meliska M, Bydzovsky J, Heissigerova J, Urban P, **Kotikova K**, Navratil T, Komarc M, Seidl Z, Vaneckova M, Pelclova D. Reply to “Progressive chronic retinal axonal loss following acute methanol-induced optic neuropathy: four-year prospective cohort study”. *Am J Opth.* 2018; 195, 247-248. **IF (2018): 4.483. Rank 6/60. Quartile Q1. Percentile 90,833%**
10. Zakharov S, Rulisek J, Nurieva O, **Kotikova K**, Navratil T, Komarc M, Pelclova D, Hovda KE. Intermittent versus continuous renal replacement therapy in acute methanol poisoning: comparison of clinical effectiveness in mass poisoning outbreaks. *Ann*

Intensive Care. 2017; 7(1): 77. doi: 10.1186/s13613-017-0300-7. **IF (2017): 3.771. Rank 9/33. Quartile Q2. Percentile 74,242%**

11. Zakharov S, **Kotikova K**, Nurieva O, Hlusicka J, Kacer P, Urban P, Vaneckova M, Seidl Z, Diblik P, Kuthan P, Navratil T, Pelclova D. Leukotriene-mediated neuroinflammation, toxic brain damage, and neurodegeneration in acute methanol poisoning. *Clin Toxicol* 2017; 55(4): 249-259. **IF (2017): 4.381. Rank 13/94. Quartile Q1, Percentile 86,702%**
12. Zakharov S, Nurieva O, **Kotikova K**, Belacek J, Navratil T, Pelclova D. Positive serum ethanol concentration on admission to hospital as the factor predictive of treatment outcome in acute methanol poisoning. *Monatsh Chem*, 2017; 148(3): 409–419. doi 10.1007/s00706-016-1846-z. ISSN 0026-9247. **IF (2017): 1.285. Rank 117/171. Quartile Q3, Percentile 31,871%**
13. Vaneckova M, Zakharov S, Klempir J, Ruzicka E, Bezdicek O, Brozova H, Diblik P, Miovsky M, Hubacek Ja, Urban P, Ridzon P, Pelclova D, Burgetova A, Masek M, **Kotikova K**, Peterova K, Liskova I, Hamplova L, Seidl Z. Imaging findings after methanol intoxication (cohort of 46 patients). *Neuro Endocrinol Letters* 2015, 36(8), 737-744. **IF (2015) 0.946. Rank 233/256. Quartile Q4. Percentile 9,180%**
14. Zakharov, Sergey, Nurieva, Olga, **Kotikova, Katerina**, Urban, Pavel, Navratil, Tomas, Pelclova, Daniela. Factors predicting optic nerve axonal degeneration after methanol-induced acute optic neuropathy: A two-year prospective study in 54 patients. *Monatsh Chem*, 2016, 147(1): 251-261. ISSN 0026-9247. **IF (2016): 1.282. Rank 106/166. Quartile Q3, Percentile 36,446%**
15. Nurieva, Olga, **Kotikova, Katerina**, Urban, Pavel, Pelclova, Daniela, Petrik, Vit, Navratil, Tomas, Zakharov, Sergey. Prevalence, dynamics, and biochemical predictors of optic nerve remyelination after methanol-induced acute optic neuropathy: A two-year prospective study in 54 patients. *Monatsh Chem*, 2016, 147(1): 239-249. ISSN 0026-9247. **IF (2016): 1.282. Rank 106/166. Quartile Q3, Percentile 36,446%**

16. Nurieva O, **Kotikova K.** Severe methanol poisoning with supralethal serum formate concentration: *Medical Principles and Practice*, 2015, 24(6). doi: 10.1159/000439350 **IF (2015): 0.424. Rank 106/166. Quartile Q3, Percentile 36,446%**
17. Zakharov, Sergey, Pelclova, Daniela, Urban, Pavel, Navratil, Tomas, Diblik, Pavel, Kuthan, Pavel, Hubacek, Jaroslav, Miovsky, Michal, Ruzicka, Evzen, Klempir, Jiri, Bezdicek, Ondrej, Vaneckova, Manuela, Seidl, Zdenek, **Kotikova, Katerina**, Nurieva, Olga, Komarc, Martin, Yurchenko, Maxim, Janikova, Barbara, Hovda, Knut Erik. Long-term visual damage after acute methanol poisonings: longitudinal cross-sectional study in 50 patients. *Clinical Toxicology*, 2015, **53**(9), 884-892. ISSN 1556-3650. **IF (2015): 2.886. Rank 26/90. Quartile Q2, Percentile 71,667%**
18. Zakharov, Sergey, Pelclova, Daniela, Urban, Pavel, Navratil, Tomas, Diblik, Pavel, Kuthan, Pavel, Hubacek, Jaroslav, Miovsky, Michal, Klempir, Jiri, Vaneckova, Manuela, Seidl, Zdenek, Pilin, Alexander, Fenclova, Zdenka, Petrik, Vit, **Kotikova, Katerina**, Nurieva, Olga, Ridzon, Petr, Rulisek, Jan, Komarc, Martin, Hovda, Knut Erik. Czech mass methanol outbreak 2012: Epidemiology, challenges and clinical features. *Clinical Toxicology*, 2014, **52**(10), 1013-1024. ISSN 1556-3650. **IF (2014): 3.673. Rank 15/88. Quartile Q1, Percentile 83,523%**
19. Zakharov, Sergey, Pelclova, Daniela, Urban, Pavel, Navratil, Tomas, Nurieva, Olga, **Kotikova, Katerina**, Diblik, Pavel, Kurcova, Ivana, Belacek, Jaromir, Komarc, Martin, Eddleston, Michael, Hovda, Knut Erik. Use of out-of-hospital ethanol administration to improve outcome in mass methanol outbreaks. *Annals of Emergency Medicine*, 2016, **68**(1), 52-61. ISSN 0196-0644. **IF (2016): 5.352. Rank 1/24. Quartile Q1, Percentile 97,917%**
20. Jiri Hlusicka, Josef Mana, Manuela Vaneckova, **Katerina Kotikova**, Pavel Diblik, Pavel Urban, Tomas Navratil, Benedicte Marechal, Tobias Kober, Sergey Zakharov. MRI-based brain volumetry and retinal optical coherence tomography as the biomarkers of outcome in acute methanol poisoning. *NeuroToxicology* 2020; doi 10.1016/j.neuro.2020.06.006. **IF (2019): 3.105. Rank 105/270. Quartile Q2, Percentile 61,296%**

11. PŘÍLOHY: KOPIE HLAVNÍCH ORIGINÁLNÍCH PUBLIKACÍ

PUBLIKACE I

Zakharov S, **Kotikova K**, Vaneckova M, Seidl Z, Nurieva O, Navratil T, Caganova B, Pelclova D. Acute methanol poisoning: Prevalence and predisposing factors of haemorrhagic and non-haemorrhagic brain lesions. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2016, **119**(2), 228-238.

IF (2016): 3.176. Rank 25/92. Quartile Q2, Percentile 73,370%

PUBLIKACE II

Kotikova K, Zogala D, Ptacnik V, Trnka J, Kupka K, Vaneckova M, Seidl Z, Diblik P, Heissigerova J, Zak I, Navratil T, Komarc M, Zakharov S. Efficiency of 123I-ioflupane SPECT as a marker of basal ganglia damage in acute methanol poisoning: a six-year prospective study. *Clinical Toxicology* 2021; 59(3): 235-245. DOI: 10.21203/rs.3.rs-20376/v1

IF (2019): 3.659. Rank 18/92. Quartile Q1, Percentile 80,978%

PUBLIKACE III

Katerina Kotikova, Petr Klepis, Petr Ridzon, Jiri Hlusicka, Tomas Navratil, Jan Rulisek, Ivan Zak, Sergey Zakharov. Peripheral polyneuropathy after acute methanol poisoning: six-year prospective cohort study. *NeuroToxicology* 2020; 79: 67–74. doi.org/10.1016/j.neuro.2020.04.010

IF (2019): 3.105. Rank 105/270. Quartile Q2, Percentile 61,296%

Acute Methanol Poisoning: Prevalence and Predisposing Factors of Haemorrhagic and Non-Haemorrhagic Brain Lesions

Sergey Zakharov¹, Katerina Kotikova¹, Manuela Vaneckova², Zdenek Seidl², Olga Nurieva¹, Tomas Navratil^{1,3}, Blazena Caganova⁴ and Daniela Pelclova¹

¹First Faculty of Medicine, Department of Occupational Medicine, Toxicological Information Center, Charles University in Prague and General University Hospital, Prague, Czech Republic, ²First Faculty of Medicine, Department of Radiology, Charles University in Prague and General University Hospital, Prague, Czech Republic, ³Department of Biomimetic Electrochemistry, J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of AS CR, Prague, Czech Republic and ⁴National Toxicological Information Center, University Hospital Bratislava, Bratislava, Slovakia

(Received 13 December 2015; Accepted 14 January 2016)

Abstract: The purpose was to study the prevalence and predisposing factors of brain lesions in survivors of acute methanol poisoning. Clinical data on 106 patients with methanol poisoning were collected during the Czech mass poisoning outbreak. Of 83 survivors, in 46 (55%) patients, follow-up examinations including magnetic resonance imaging of brain (MR) were performed 3–8 and 24–28 months after discharge from the hospital. Of 46 patients with a median age of 49 (interquartile range, 35–57) years, 24 (52%) patients had a total of 40 abnormal brain findings with haemorrhagic lesions detected in 15 (33%) and non-haemorrhagic lesions found in 9 (19%) patients. The patients with haemorrhagic brain lesions were more acidemic (lower arterial blood pH, higher base deficit) and had higher glycaemia and lactacidaemia on admission than those without haemorrhages (all $p < 0.05$). Thirteen of 32 (41%) of patients with systemic anticoagulation and 2 of 14 (14%) of patients without it had haemorrhagic lesions ($p = 0.080$). Bleeding complications during the treatment occurred in 4 of 15 (27%) patients, and 5 of 15 (33%) patients had conditions predisposing to haemorrhage in the group with haemorrhagic lesions. In three cases with a series of computer tomography (CT)/MR performed during hospitalization, the necrotic lesions in the brain remained non-haemorrhagic during hospitalization and haemorrhagic lesions were detected on the follow-up MR examinations only. No association between brain haemorrhages and systemic anticoagulation during dialysis was found: brain haemorrhages might occur in severely poisoned patients treated without systemic anticoagulation, whereas treatment with high doses of heparin might not lead to brain haemorrhages.

Methanol poisoning due to the consumption of illicit alcoholic beverages represents an important medical problem throughout the world [1–5]. This poisoning generally occurs either intentionally through abuse or attempted suicide or unintentionally through misuse or accident [6,7]. Despite the progress in diagnosis and treatment of methanol poisoning, morbidity and mortality are still high [8,9]. If therapeutic measures are inadequate or delayed, mortality may exceed 40% and serious long-term visual and central nervous system (CNS) sequelae may occur [10–12]. The strategy of active case finding and pre-hospital ethanol administration in the patients with suspected poisoning can improve outcome in a large-scale outbreak of methanol poisoning [13,14].

Methanol in the human organism is metabolized to the highly toxic formic acid/formate ion, which inhibits mitochondrial respiration [15–18]. The accumulation of formic acid results in metabolic acidosis, visual impairment and damage to basal ganglia [19–21]. Rapid administration of antidotes and haemodialysis are crucial for successful treatment [22–25].

Author for correspondence: Sergey Zakharov, Toxicological Information Center, Department of Occupational Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital, Na Bojisti 1, 120 00 Prague 2, Czech Republic (e-mail: sergey.zakharov@vfn.cz).

Importance.

The role of haemodialysis in the treatment of methanol poisoning is well-established: it effectively eliminates both methanol and formate and helps to correct metabolic acidosis [26,27]. To prevent the onset of clotting during the dialysis session, two approaches are mainly used: systemic anticoagulation with heparin or low molecular weight heparins (LMWH) and regional citrate anticoagulation (RCA) without a systemic effect.

Brain haemorrhages are considered rare complications of acute methanol poisoning that have been connected by some authors to the application of systemic anticoagulation during haemodialysis [28–30]. Phang *et al.* [28] reported the appearance of brain haemorrhage in 13.5% of patients with acute methanol poisoning. Several authors recommend against using heparin anticoagulation during dialysis because of the risk of intracranial bleeding [29–31].

Nevertheless, the role of systemic anticoagulation in the aetiology of brain haemorrhagic lesions in methanol-poisoned patients is open to debate. Patankar *et al.* [32] reported one in four patients with haemorrhagic changes revealed before haemodialysis, and they inferred brain haemorrhage was unrelated to the procedure of haemodialysis and anticoagulation. Other authors suggest that haemorrhagic lesions in the basal ganglia are rather due to the direct toxic effect of formic acid [33,34].

Bilateral necrosis of the basal ganglia, with or without haemorrhage, is one of the typical computer tomography (CT) and magnetic resonance tomography (MR) findings in acute methanol poisoning [35–37]. Understanding the aetiology, prevalence and predisposing factors of brain lesions is an important issue in the strategy of prevention of long-term CNS sequelae of poisoning. However, to the present time, all the studies in the field are the case reports with acute CT of brain performed when brain oedema, low resolution of the method and the absence of MR examinations on discharge or during the follow-up period can lead to underestimation of the prevalence of brain lesions and to misunderstanding their aetiology and mechanisms of development.

Goals of this investigation.

In this study, we aimed to evaluate the prevalence and predisposing factors of brain lesions in survivors of acute methanol poisoning treated in hospitals during the Czech mass methanol poisoning outbreak [3,38].

Methods

Patients and procedures. During the Czech mass methanol outbreak in 2012–2014, 137 patients were poisoned and 106 of them were treated in hospitals; 83 patients survived. A modified protocol for collection of anamnestic, clinical, toxicological and biochemical laboratory admission data based on experience from a methanol outbreak in Norway in 2002–2004 was distributed to all hospitals during the second week of the outbreak and used for the prospective data collection [1]. A detailed history of the poisoning, and of the onset and dynamics of ocular and systemic toxicity, was obtained in a prospective manner directly from the patients or from relatives of critically ill patients upon admission to the secondary hospital. The data on the patients admitted before distribution of the protocol were collected retrospectively. The discharge reports of all hospitalized patients with a confirmed diagnosis and the results of CT, MR, neurological and ophthalmological examinations on admission, during hospitalization and on discharge were collected retrospectively and analysed in the Czech Toxicological Information Center (TIC).

On admission, the laboratory investigations included serum concentrations of methanol, ethanol, formate, lactate, electrolytes and bicarbonate, arterial blood gases, anion and osmolal gaps, glucose, renal and hepatic analysis, complete blood count, haematocrit, coagulation profile (INR, APTT, PTT, platelets and fibrinogen) and serum proteins. Diagnosis was established when (i) a history of recent ingestion of illicit spirits was available and serum methanol was higher than 6.2 mmol/L (20 mg/dL), or (ii) there was a history/clinical suspicion of methanol poisoning, and serum methanol was above the limit of detection with at least two of the following: pH < 7.3, serum bicarbonate < 20 mmol/L (20 mEq/L), and anion gap (AG) ≥ 20 mmol/L.

All patients were treated in accordance with American Academy of Clinical Toxicology and European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists (AACT/EAPCCT) practice guidelines on the treatment of methanol poisoning [8]. Haemodialysis was performed if the patients met any of the following criteria: serum methanol higher than 15.6 mmol/L (50 mg/dL), metabolic acidosis with a pH < 7.30 or visual disturbances. The mode of dialysis, intermittent haemodialysis (IHD), extended daily dialysis (EDD) or continuous veno-venous haemofiltration/haemodialysis/haemodiafiltration (CVVH/HD/HDF), was based on several factors, such as the haemodynamic stability of a patient on admission, or the severity of poisoning, and availability of dialysis equipment [10]. For prevention of set clotting during dialysis,

systemic anticoagulation with intravenous administration of heparin or LMWH (nadroparin calcium or enoxaparin sodium), and RCA were applied. In the patients treated with haemodialysis and systemic anticoagulation, regular monitoring of coagulation profile was performed.

Laboratory investigations. Methanol was measured using gas chromatography with flame ionization detection and a direct injection with internal standard (Gas Chromatograph Chrom 5, Laboratory Instruments Prague, Czech Republic), and limit of detection was 1.9 mmol/L (6 mg/dL) and day-to-day coefficient of variation 2.5–5.4%. Calibrators and controls were made by dilution of methanol p.a. (Penta, Czech Republic). Formate was measured enzymatically on a Hitachi analyser (Hitachi 912; Hitachi Science Systems Ltd., Hitachinaka, Japan) using formate dehydrogenase (Roche, France) and nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) (Roche, France). Serum ethanol was analysed by gas chromatography with flame ionization detection and a direct injection with internal standard (Gas Chromatograph Chrom 5, Laboratory Instruments Prague, Czech Republic). Limit of detection was 0.9 mmol/L (4 mg/dL) and day-to-day coefficient of variation 3.8–7.1%.

Magnetic resonance imaging protocol. Two follow-up MR examinations of the brain were performed 3–8 months and 24–28 months after discharge from hospital on Gyroscan Phillips 1.5 T system (Royal Philips, Amsterdam, Netherlands) with the following protocol: axial T2-weighted image with slice thickness (THK) 6.0/0.6 mm through the whole brain, with parameters: repetition time (TR) 4241 ms, time to echo (TE) 100 ms and flip angle (FA) 90°; FLAIR (fluid attenuated inversion recovery): TR 11000 ms, TE 140 ms, inversion time (TI) 2800 ms and FA 90°; T1-weighted image: TR 569 ms, TE 15 ms and FA 69°; T2-weighted image – fast field echo: TR 665 ms, TE 23 ms and FA 18°; single-shot diffusion-weighted image: TR 2901 ms, TE 75 ms and FA 90°; and T1 weighted after administration of Gd-DTPA and in coronal images centred to the orbital region T2-weighted image with suppression of fat (SPiR): TR 5506 ms, TE 100 ms and FA 90°.

The patients were considered as having CNS sequelae of poisoning if symmetrical necrosis, with or without haemorrhages, of the basal ganglia (putamen, globus pallidus) and other brain lesions (brainstem, caudate nucleus, cerebellum, deposits in subcortical white matter and optic nerve atrophy) compatible with the diagnosis of acute methanol poisoning were present on MR scan of the brain.

The patients were further divided into two groups according to the results of clinical examination: Group I, the patients with brain haemorrhages detected by MR of the brain, and Group II, the patients without brain haemorrhages. Group II was further divided into two subgroups ‘with non-haemorrhagic brain lesions (sequelae)’ and ‘without brain lesions (no sequelae)’. The groups were compared from the perspective of the mode of anticoagulation, key laboratory parameters on admission (serum concentrations of methanol, formate, lactate, glucose, arterial blood pH, bicarbonate, base deficit) and other therapeutic interventions (type of antidote, alkalization and folate substitution).

Statistical analyses. The laboratory and clinical data were compared using two-sample *t*-test assuming unequal variances (equal means), two-sample *F*-test for variances, bias test and two-sample Kolmogorov–Smirnov test. The data were expressed as medians with interquartile ranges (IQR). Chi-square tests were used to examine the differences between the groups. Spearman’s correlation and linear regression analysis were used to examine the relationships between various parameters. All statistical calculations were carried out on level of significance $\alpha = 0.05$. Statistical analysis was performed using EXCEL (Microsoft, Redmond, WA, USA), and the formal calculations were produced in QC EXPERT software 3.1 (Triobyte, Pardubice, Czech Republic) and in IBM SPSS ver. 17.0 (Chicago, Illinois, USA) and STATISTICA SF ver. 10.0 (StatSoft, Tulsa, Oklahoma,

USA) (both licensed to 1st Faculty of Medicine of Charles University in Prague).

Ethics approval. The study was approved by the General University Hospital Ethics Committee in Prague, Czech Republic.

Results

Demographic characteristics of the patients.

From 106 hospitalized patients, all 83 (78%) patients who survived acute methanol poisoning were invited to participate in a one-day outpatient clinical examination two times during the study period: 3–8 months and 24–28 months after discharge from the hospital. Fifty-four patients of 83 survivors (65%) agreed to participate, filled out the standardized questionnaire and signed the informed consent. Eight (10%) of them had absolute contraindications to MR examination (metallic implants) and were excluded from the study [39]. Finally, 46 patients (55%) with median age 49 years (IQR 35–57 years), 37 males and 9 females, were included in the study.

In this population, the median ingested volume of toxic spirits was 300 mL (range 50–2000 mL) of strong alcoholic beverages containing approximately 50% methanol and 50% ethanol with a total alcohol content of around 40% alcohol by volume (ABV, v/v). Only 10 (22%) of the patients were diagnosed within 12 hr after methanol ingestion, 30 (66%) within 48 hr and three (6%) later than 48 hr (in further three (6%) patients, it was impossible to determine the time of ingestion reliably). A medical history of chronic alcohol abuse was present in 22 (48%) of the cases.

Regarding somatic diseases, 21 (46%) patients had hyperlipidaemia, 19 (41%) patients had arterial hypertension, 16 (35%) patients had alcoholic hepatopathy, four (9%) patients had diabetes mellitus [type II in three (7%) cases, type I in one (2%) case], three (7%) patients had myocardial infarction, and one (2%) patient had brain stroke in anamnesis before methanol poisoning; epilepsy, sarcoidosis, psoriasis vulgaris, chronic atrial fibrillation and ischaemic disease of the lower extremities were each present in one (2%) case.

CNS sequelae of poisoning and haemorrhagic lesions on MR of brain.

In 24 of 46 patients (52%) included in the study, the follow-up MR revealed a total of 40 abnormal brain findings corresponding to CNS sequelae of acute methanol poisoning (fig. 1). Necrotic lesions of the putamen were the most frequent lesions found in 16 of 46 patients (35%); all of the findings were in the bilateral symmetrical regions of the putamen. Necrotic lesions in the globus pallidus were found in 8 patients (17%), lesions in the brainstem were present in 7 patients (15%), deposits in white matter with primarily subcortical localization were found in 4 patients (9%), and other necrotic lesions were found in 5 patients (11%): lesions of the caudate nucleus [1 (2%)], cerebellum [1 (2%)] and optic nerve [3 (7%)].

Brain haemorrhages were detected in 15 of 46 patients (33%) with a total of 18 haemorrhagic and 13 non-haemorrhagic lesions. Of all the patients with MR features of CNS sequelae of methanol poisoning, haemorrhagic lesions were present in 15 of 24 (63%) cases. Of 16 patients with putaminal necrosis, haemorrhagic lesions in the putamen were detected in nine cases (56%). In the remaining 7 of 16 patients (44%), no haemoglobin breakdown products were found in the putamen even in the T2W FFE sequence, while two (12%) of them had the MR features of subcortical haemorrhages. Of eight patients with necrotic lesions in the globus pallidus, haemorrhages in the globus pallidus were present in five cases (63%). Haemoglobin breakdown products were present in all four cases with detected subcortical white matter lesions. In all the cases with subcortical haemoglobin deposits, bilateral putaminal necrosis was present as well.

No MR features of brain haemorrhages were found in 31 of 46 patients (67%). Of them, 9 of 31 (29%) had non-haemorrhagic brain lesions on MR: five (16%) patients with symmetrical necrosis of the putamen, two (6%) cases of symmetrical necrosis of the globus pallidus, one (3%) case of the brainstem lesion and one (3%) patient with monolateral atrophy of the optical nerve. No haemorrhages were present in the brainstem (seven cases) and cerebellum (one case) necrotic lesions.

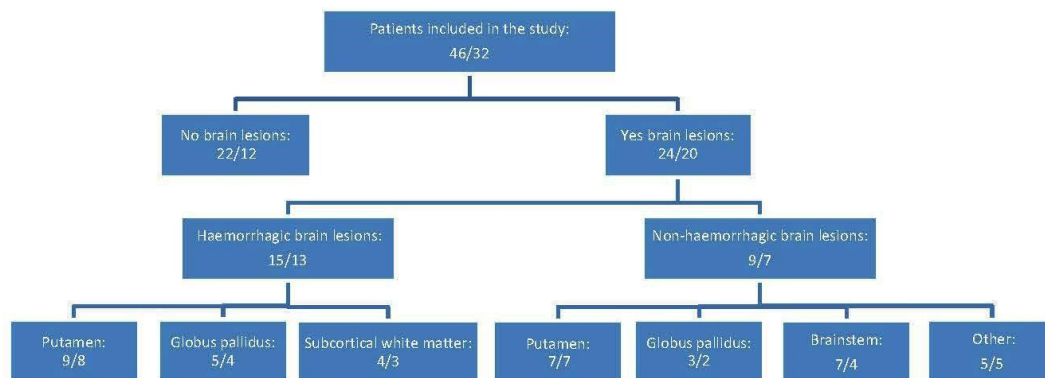


Fig. 1. Flow chart of the study design: brain MR findings in the patients included in the study. Numerator indicates the total number of cases and denominator indicates the number of cases with systemic anticoagulation.

The results of the second follow-up MR examination 24–28 months after discharge from the hospital revealed neither progression nor signs of regression of haemorrhagic and non-haemorrhagic brain lesions detected within the first follow-up MR examination. The only exception was the disappearance of the small focus of the brainstem necrosis detected on the first follow-up examination in one patient.

Laboratory data on admission and haemorrhagic lesions on MRI of brain.

Laboratory admission data on the patients divided into the groups are presented in table 1. The patients with haemorrhagic brain lesions were more acidemic on admission than those who survived without brain haemorrhages (lower arterial blood pH, higher base deficit, serum lactate). They had higher glycaemia as well, but not serum formate, probably due to the small number of patients with measured serum formate on admission (26/46 or 57%).

A positive correlation was present between the presence of putaminal necrosis and MR features of the brain haemorrhage ($r = 0.563$; $p < 0.0001$), as well as between the presence of necrotic lesions in the globus pallidus and the brain haemorrhage ($r = 0.415$, $p = 0.004$). Further, strong correlations were found between the presence of putaminal lesions and arterial blood pH ($r = -0.568$; $p < 0.0001$), serum lactate ($r = 0.613$; $p < 0.0001$), glucose ($r = 0.539$; $p < 0.0001$) and base deficit ($r = -0.423$; $p = 0.003$) on admission. The patients with haemorrhagic brain lesions had higher serum lactate on admission ($r = 0.379$; $p = 0.016$).

Clinical features on admission, treatment measures and visual sequelae of poisoning.

The clinical features of the patients on admission are presented in table 2. The patients with brain haemorrhages were

older than either the patients without haemorrhagic lesions or the patients with non-haemorrhagic lesions ($p = 0.034$ and $p = 0.001$, correspondingly), suggesting the higher prevalence of comorbidities that might make them more prone to bleeding during treatment with systemic anticoagulation (arterial hypertension, chronic anticoagulation therapy, alcoholic hepatopathy, coagulopathies and so on). Nevertheless, no association between age and the presence of MR features of the brain haemorrhages was present ($r = 0.101$; $p = 0.499$). The difference in time span between methanol ingestion and treatment in hospitals between the groups with and without brain haemorrhages was not significant ($p = 0.494$).

The patients with brain haemorrhages were more often comatose on admission, compared to those without brain haemorrhages ($p = 0.001$). Alkalinization was needed in the group with haemorrhagic lesions more often than in the group without brain haemorrhages. No differences in antidote treatment (ethanol *versus* fomepizole) and folate substitution (folate yes *versus* folate no; acidum folicum *versus* calcium folinate) were present between the groups with and without brain haemorrhages (all $p > 0.05$).

The prevalence of long-term visual sequelae of poisoning in the group of patients with brain haemorrhagic lesions was higher than in the group without brain haemorrhages ($p < 0.001$) and in the patients with other non-haemorrhagic brain lesions ($p = 0.015$), as can be seen from table 3.

Anticoagulation during dialysis sessions, complications and brain haemorrhagic lesions.

Dialysis was applied in 34 of 46 (73%) of patients, and systemic anticoagulation with heparin or LMWH was used in 31 of 34 (91%) of dialysed patients (further, one patient without dialysis was administered LMWH during the treatment due to other indications).

Table 1.

Laboratory data on admission in the patients with acute methanol poisoning (medians with IQR).

Groups	Age	Time (h)	pH	pCO ₂ (kPa)	BD (mmol/L)	S-Lactate (mmol/L)	S-MetOH (mmol/L)	S-EtOH (mmol/L)	S-Formate* (mmol/L)	S-Glucose (mmol/L)
Group I (n = 15; 2F)	54 49–58	29 12–48	7.00 6.82–7.20	3.2 2.8–4.5	23.8 12.5–29.1	7.3 1.7–7.7	50 36–67	0.0 0.0–6.1	15.0 7.6–17.6	7.7 6.4–15.2
Group II (n = 31; 7F)	39 34–57	24 7–96	7.27 7.16–7.39	3.7 2.5–4.6	14 3.0–21.4	1.8 1.2–2.5	23.4 11.7–38	2.2 0–10.9	14.0 6.9–16.4	6.2 5.9–7.3
Group IIA (n = 9; 3F)	38 32–40	36 7–96	7.09 7.02–7.25	2.9 2–3.7	25.2 13.9–25.6	2.1 1.2–3.7	14 13–87	0.0 0.0–2.2	16.0 14.5–19.3	6.8 6.1–9.1
Group IIB (n = 22; 4F)	49 35–60	24 8–72	7.28 7.19–7.39	4.0 3.5–4.7	11.0 2.8–17.2	1.7 1.3–2.4	25 12–37	5.2 0.0–18.4	11.7 4.3–15.6	6.1 5.9–6.7
Total (n = 46)	49 35–57	30 7–96	7.20 7.08–7.38	3.6 2.7–4.6	17.0 3.7–25.0	1.9 1.5–3.6	29 13–62	1.7 0.0–9.4	14.5 6.5–16.9	6.5 5.9–8.1
P _{I=II}	0.034	0.494	0.015	0.865	0.045	0.039	0.165	0.841	0.900	0.034

*Serum formate was measured in 26 of 46 cases.

Group I – patients with haemorrhagic lesions of brain; Group II – patients without haemorrhagic lesions of brain; Group IIA – patients with non-haemorrhagic brain lesions; Group IIB – patients without brain lesions; BD – base deficit; F – females; IQR – interquartile rates; S-MetOH – serum methanol; S-EtOH – serum ethanol; time – time from ingestion to treatment. P – results of chi-square test of the difference between the groups ($\alpha < 0.05$).

To convert from mmol/L to mg/dL, use the following conversion factors: methanol – 3.205; ethanol – 4.608; formate – 4.603; lactate – 9.009; glucose – 18.018. To convert bicarbonate and base deficit from mmol/L to mEq/L, use the conversion factor 1.0. To convert kPa to mmHg (torr), use the conversion factor 7.501.

Table 2.

Clinical features on admission and treatment in the patients with acute methanol poisoning.

Groups	IE	C	VD	D	CP	S	Dialysis	Alkalinization	Folates (AF/Leu)	Antidote (E/FOM)
Group I (n = 15; 2F)	4 27%	6 40%	5 33%	4 27%	4 27%	1 7%	14 93%	13 87%	11 (7/4) 73% (47/26)	14 (10/4) 93% (66/27)
Group II (n = 31; 7F)	6 19%	1 3%	14 45%	10 32%	1 3%	1 3%	20 64%	14 45%	23 (12/11) 74% (39/35)	30 (24/6) 97% (77/20)
Group IIA (n = 9; 3F)	0	1 11%	6 67%	5 56%	0	1 11%	7 78%	5 56%	7 (4/3) 78% (44/34)	9 (6/3) 100% (67/33)
Group IIB (n = 22; 4F)	6 27%	0	8 36%	5 23%	1 5%	0	13 59%	9 41%	16 (8/8) 73% (36/36)	21 (18/3) 95% (82/13)
Total (n = 46)	10	7	19	14	5	2	34	27	34 (19/15)	44 (34/10)
$P_{I=II}$	0.573	0.001	0.445	0.699	0.017	0.592	0.037	0.007	0.950	0.592

Group I – patients with haemorrhagic lesions of brain; Group II – patients without haemorrhagic lesions of brain; Group IIA – patients with non-haemorrhagic brain lesions; Group IIB – patients without brain lesions; IE – inebriation; C – coma; VD – visual disturbances; D – dyspnoea; CP – chest pain; S – seizures; AF – acidum folicum; Leu – leucovorin (calcium folinate); E – ethanol; FOM – fomepizole; time – time from ingestion to treatment.

P – results of chi-square test of the difference between the groups.

Systemic anticoagulation was not applied in 14 of 46 (30%) of cases (table 3). Of these, RCA was applied in two (14%) patients and no anticoagulation was used in one (7%) patient treated with IHD. The remaining 11 (79%) patients were treated without dialysis and without anticoagulation.

Of 32 patients with heparin and LMWH administration during the treatment, 13 (41%) patients had MR features of brain haemorrhages. Of 14 patients without systemic anticoagulation, 2 (14%) patients had brain haemorrhages ($p = 0.080$). One of two patients treated with RCA had multi-focal brain haemorrhages (bilateral haemorrhagic lesions in the putamen and several subcortical deposits of haemoglobin breakdown products in different brain regions). Finally, one patient dialysed without anticoagulation had MR features of the brain haemorrhage as well (bilateral haemorrhagic lesions in the globus pallidus).

Bleeding complications occurred during the treatment in 4 of 15 (27%) cases in the group with brain haemorrhages: epistaxis [1 (7%)], mucosal bleeding [1 (7%)], subconjunctival suffusions and bleeding in renal cyst [1 (7%)] and haematemesis [1 (7%)]. In the last case, no anticoagulation was applied during the dialysis because the haematemesis occurred on admission before any treatment intervention (the patient had alcoholic cirrhosis and thrombocytopenia in anamnesis). No bleeding complications occurred during treatment in the group of patients without MR features of brain haemorrhage.

In the group of patients with haemorrhagic brain lesions, 5 of 15 (33%) patients had certain conditions predisposing to haemorrhage: haemorrhagic stroke 10 years earlier [1 (7%)], Mallory Weiss syndrome with endoscopic haemostasis 1 year ago [1 (7%)], cirrhosis with thrombocytopenia on admission [1 (7%)], and chronic warfarin, aspirin and clopidogrel medication [2 (14%)]. Further, in this group, alcoholic hepatopathy was present in 7 of 15 (47%) cases, episodes of transitory thrombocytopenia during dialysis were registered in 5 of 15 (33%) cases, and arterial hypertension with episodes of high arterial blood pressure on admission and during treatment was present in 9 of 15 (60%) cases.

Complications during treatment other than those related to bleeding were present in 9 of 15 (60%) cases: delirium [3 (21%)], acute pancreatitis [2 (14%)], cardiac infarction [1 (7%)], cardiac failure [1 (7%)], asystole with apnoea [1 (7%)], pulmonary oedema [1 (7%)], pneumonia [3 (21%)] and sepsis [2 (14%)].

In the patients with non-haemorrhagic CNS lesions ($n = 9$), one (11%) patient was on long-term warfarin therapy. The patient admitted irregular drug administration and had normal INR (1.08) on admission. Alcoholic hepatopathy was present in 3 of 9 (33%) cases with an episode of mild thrombocytopenia during treatment in one (11%) case, and arterial hypertension with episodes of high arterial blood pressure on admission was present in 4 of 9 (44%) cases. No other conditions predisposing to haemorrhages were present in this group. Complications during the treatment other than bleeding were present in 2 of 9 (22%) patients in this group: pneumonia [2 (22%)] and delirium [1 (11%)].

In the patients who survived without brain damage ($n = 22$), one (5%) patient had chronic aspirin medication due to atrial fibrillation (no thrombocytopenia, normal INR and APTT), alcoholic hepatopathy was present in 8 (36%) cases with episodes of mild thrombocytopenia during treatment in three cases, and arterial hypertension with episodes of high arterial blood pressure on admission and during the treatment was present in 10 of 22 (45%) cases. No complications (either bleeding or non-bleeding in nature) during treatment were present in this group.

Development of haemorrhagic brain lesions during the treatment.

Computer tomography examination of the brain was carried out during hospitalization in 8 of 46 (17%) patients with neurological indications to the brain imaging. In five (11%) cases, CT was made on admission before any treatment due to coma on admission. In three (7%) cases, CT examination was made later during hospitalization due to coma or other neurological symptoms: in one case on day 5 of hospitalization, in a further

Table 3.

Anticoagulation during dialysis and brain haemorrhagic lesions.													
Groups	IHD	CVVHD/HDF/EDD	No dialysis	IT	Heparin	LMWH	RCA	No anticoagulation	BL	PL (HL/NHL)	PaL (HL/NHL)	OBR (HL/NHL)	VS
Group I (n = 15; 2F)	8	6	1	9	11	2	1	1	4	11 (9/2)	6 (5/1)	14 (4/10)	11
	53%	40%	7%	60%	74%	13%	6.5%	6.5%	27%	60%/13%	33%/7%	27%/67%	73%
Group II (n = 31; 7F)	12	8	11	3	15	4	1	11	0	5	2	2	12
	39%	26%	35%	10%	48%	13%	4%	35%	0	16%	6.5%	6.5%	39%
Group II _A (n = 9; 3F)	4	3	2	3	6	1	0	2	0	5	2	2	5
	44%	33%	22%	33%	66%	12%	0	22%	0	56%	22%	22%	56%
Group II _B (n = 22; 4F)	8	5	9	0	9	3	1	9	0	0	0	0	7
	36%	23%	41%	0	41%	14%	4%	41%	0	0	0	0	32%
Total (n = 46)	20	14	12	12	26	6	2	12	4	16 (9/7)	8 (5/3)	16 (4/12)	23
	43%	30%	26%	26%	57%	13%	4%	26%	9%	20%/15%	11%/7%	9%/26%	50%
P _{I-II}	0.348	0.327	0.037	<0.0001	0.110	0.968	0.592	0.037	-	<0.0001	0.005	<0.0001	<0.0001

Group I – patients with haemorrhagic lesions of brain; Group II – patients without haemorrhagic lesions of brain; Group IIA – patients with non-haemorrhagic brain lesions; Group IIB – patients without brain lesions; IT – intermittent haemodialysis; CVVHD/HDF/EDD – continuous veno-venous haemodialysis/haemodiafiltration/extended daily dialysis; LMWH – low molecular weight heparin; RCA – regional citrate anticoagulation; BL – bleeding complications during treatment; PL – putaminal lesions; PaL – putaminal lesions; OBR – other brain region lesions; HL – haemorrhagic brain lesions; NHL – non-haemorrhagic brain lesions; VS – long-term visual sequelae of poisoning.

P – results of chi-square test of the difference between the groups.

case on day 3 (CT) and on day 10 (MR) of hospitalization, and in the last case on day 7 (CT) and day 14 (MRI) of hospitalization. The other 38 (83%) patients had the first MR imaging of the brain made within the follow-up examination after discharge. In these 38 patients, no coma or other neurological indications were present to provide brain imaging examination during hospitalization, but the follow-up MR imaging revealed brain haemorrhages in 11 (29%) of them.

In all five cases with CT made on admission, no brain lesion was found on admission and no repeat examination during hospitalization was performed. MR examination carried out within the follow-up study revealed: no lesions (1 patient treated with IHD and heparin), symmetric non-haemorrhagic necrosis of the putamen (2 patients, treatment with IHD and EDD, heparin anticoagulation in both cases) and symmetric putaminal haemorrhages (2 patients, treatment with CVVHD and heparin anticoagulation in both cases) with subcortical parietooccipital haemorrhage in one of these two cases. These brain lesions found on the follow-up MR examination either went unrecognized by CT on admission due to the low resolution of the method and general brain oedema in comatose patients, or developed later during the hospitalization.

In one case with CT performed on day 5 of hospitalization, bilateral putaminal necrosis was present without signs of bleeding: the follow-up MR examination 3 months later revealed bilateral putaminal necrosis with haemorrhages. The patient was treated with both IHD and CVVHDF sessions with heparin and intravenous sodium enoxaparin administration applied before day five (on days 1-3 of hospitalization). These haemorrhagic lesions either went unrecognized by CT on day five due to its low resolution and brain oedema, or putaminal haemorrhage occurred later than day 5 and therefore long after the dialysis sessions were finished and the systemic anticoagulation with heparin stopped.

In one patient with CT performed on day 7 and MR of the brain on day 14, bilateral non-haemorrhagic putaminal necrosis and focal subcortical necrosis in the occipital region were present on CT on day 7 and further progression of necrosis was registered on MR seven days later; nevertheless, no MR features of brain haemorrhage were found. On the follow-up MR examination, the vast bilateral symmetrical necrosis of the putamen remained non-haemorrhagic; the only small focus of haemoglobin destruction products was present in the left frontal subcortical region. This patient was severely poisoned and was treated with CVVHF and CVVHDF sessions lasting in total more than 50 hr. During the continuous dialysis, repeated boluses of 10 000, 8000, 7500 and 3000 units of heparin were administered and continuous infusions of 5000 units of heparin were applied between the boluses. This patient had episodes of transitory thrombocytopenia, epistaxis and infectious complication with hyperpyrexia during the treatment (sepsis). Nevertheless, the vast bilateral symmetrical necrotic lesions in the putamen remained non-haemorrhagic (fig. 2).

In the last case, with CT provided on day 3 and MR performed on day 10, the multiple focuses of white matter oedema, considerable pericapsular oedema of the putamen, with white matter necrotic lesions, brainstem lesion and sym-

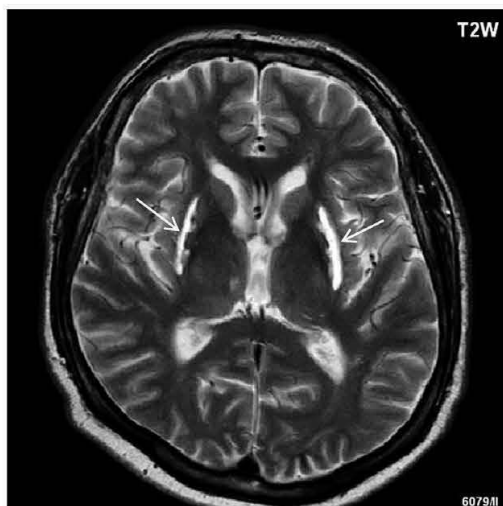


Fig. 2. Non-haemorrhagic bilateral symmetrical necrosis in putamen in a patient treated with massive doses of heparin during 50 hr of dialysis.

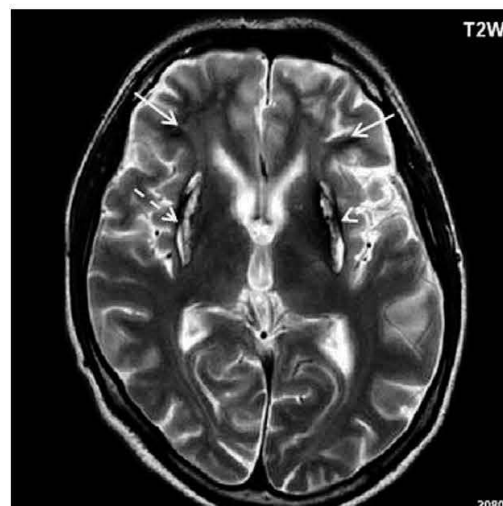


Fig. 3. Multi-focal haemorrhagic brain lesions in the patient treated with regional citrate anticoagulation (dotted arrows indicate haemorrhagic bilateral symmetrical necrosis in putamen; full arrows indicate subcortical haemorrhagic lesions).

metrical necrosis of the putamen with significant progression between days 3 and 10 were found, but still no signs of bleeding were registered on MR of the brain on day 10 of hospitalization. The patient was treated with a 19-hr CVVHDF session and RCA during the first two days of hospitalization. Heparin was not administered; therefore, the systemic anticoagulation effect was excluded. On the follow-up MR examinations of the brain, bilateral symmetrical haemorrhagic lesions in the putamen and subcortical haemorrhagic lesions in the frontal and parietooccipital regions were present (Fig. 3).

These two cases illustrate the gradual development of the basal ganglia damage starting from the focal or pericapsular oedema, through the non-haemorrhagic necrosis of the putamen progressing during the days following CT examination, despite the absence of formic acid and methanol in the serum after several hours of haemodialysis or haemodiafiltration, and, finally, the haemorrhagic lesions appearing later than 10–14 days of hospitalization in the regions of former non-haemorrhagic necrosis.

Serum formic acid concentration and the character of brain damage.

Serum formic acid on admission was measured in 26 of 46 (57%) patients; therefore, the association between the concentration of formate and the character of the brain damage could not be studied. The three patients with the lowest serum formate on admission and haemorrhagic lesions on MR of the brain had serum formate concentrations: 2.0 mmol/L (9 mg/dL) [symmetrical haemorrhagic lesions of the putamen, non-haemorrhagic lesions of the globus pallidus and brainstem], 3.7 mmol/L (17 mg/dL) [symmetrical haemorrhagic lesions of the putamen] and 8.7 mmol/L (40 mg/dL) [haemorrhagic

lesions of the globus pallidus]. On the other hand, patients with serum formate as high as 15.3 mmol/L (70 mg/dL), 16.3 mmol/L (75 mg/dL) and even 30.4 mmol/L (140 mg/dL) on admission did not have any CNS sequelae on repeated follow-up MR examinations.

The patient with CT of the brain performed on day 7 and MR of the brain on day 14 had serum formic acid 19.2 mmol/L (88 mg/dL), serum methanol 62.1 mmol/L (199 mg/dL) and arterial blood pH 6.82 on admission to hospital. During dialysis, 16 hr after the start of the session, his serum formic acid was already under the detection limit, serum methanol was 25.6 mmol/L (82 mg/dL), and arterial blood pH was normal. Nevertheless, a pathological process developed during the following 2 weeks of hospitalization: MR of the brain on day 14 revealed further progression of oedematous and necrotic lesions of the white matter and the basal ganglia compared to the finding on CT of the brain on day 7 (Fig. 2).

The patient with CT of the brain performed on day 3 and MR on day 10 had serum formic acid 15.1 mmol/L (70 mg/dL), serum methanol 22.9 mmol/L (73 mg/dL) and arterial blood pH 6.72 on admission to hospital. During dialysis, after 13 hr of CVVHDF, his serum formic acid was under the detection limit, serum methanol was 5.5 mmol/L (18 mg/dL), and arterial blood pH was normal. Nevertheless, the MR of the brain on day 10 of hospitalization revealed further progression of necrosis of the basal ganglia compared to the findings on CT on day 3 (Fig. 3).

Discussion

Brain haemorrhagic lesions in our study were not a rare complication, but rather a typical finding in the patients who survived acute methanol poisoning. The prevalence of

haemorrhagic lesions was even higher than the prevalence of non-haemorrhagic ones. The typical site of brain haemorrhage was the putamen, as it was stated earlier [40], but haemorrhagic lesions in the globus pallidus and the subcortical white matter were prevalent as well. No evident association between brain haemorrhages and systemic anticoagulation during dialysis was found: brain haemorrhages occurred in both the patients with and without systemic anticoagulation. Although CT/MR features of necrotic lesions in the basal ganglia could be found within the first 2–3 days of hospitalization, the haemorrhagic constituent evidently appeared later, sometimes after 10–14 days of hospitalization, as the final stage of the developing pathological process, even though formic acid was eliminated by dialysis and acidemia corrected during the first 24 hr of hospitalization.

Brain haemorrhage is described in the literature as a rare complication of acute methanol poisoning related to systemic anticoagulation during haemodialysis [28–30]. In our study, we found that the haemorrhagic lesions were even more prevalent than the non-haemorrhagic ones, with two-thirds (63%) of all cases with brain lesions detected on follow-up MR examination. Therefore, rather than a 'rare complication of treatment', this condition represents typical MR finding in methanol-poisoned patients, suggesting that the haemorrhage in the necrotic regions is a possible late stage of development of brain damage in cases of severe methanol poisoning.

Several authors have described the putamen as the brain region specifically vulnerable to formic acid and proposed different explanations for it: poor venous drainage, inadequate arterial flow, hypotension and ischaemia, higher rates of oxygen consumption and specific metabolic vulnerability to the direct histotoxic effect of formic acid [33,41–44]. Of 24 cases with MR features of CNS sequelae of methanol poisoning in our study, the putamen was affected in 16 cases. Nevertheless, the globus pallidus, the brainstem and the subcortical white matter, mainly in the frontal and parietooccipital regions, should be considered as other vulnerable regions: altogether, 19 pathological MR findings were detected in these regions. Therefore, in cases of severe methanol poisoning, localization of brain damage was not as site-specific when a high-resolution method of visualization was applied for its detection.

Generally, patients with brain lesions were more severely poisoned and more acidemic on admission than those without CNS sequelae. The degree of acidemia (low arterial blood pH, high base deficit, serum lactate and formate concentrations), negative serum ethanol, lack of respiratory compensation when severely acidotic, more than 24-hr delay from intake to admission and coma are known risk factors predicting poor outcome [3,45–48]. In our study, the group with brain haemorrhages had significantly higher serum glucose and lactate than the group of patients without haemorrhagic brain lesions. While serum methanol concentration had no prognostic value [3,47], higher serum glucose and lactate could mean deeper and longer hypoxia and more serious damage to not only neurons, but also oligodendrocytes in patients who would develop brain haemorrhages in primarily non-haemorrhagic foci of necrosis later due to disintegration of the blood brain barrier [49,50]. It is known

that serum lactate concentration correlates with clinical outcome in critically ill patients and can be used as a prognostic indicator of mortality and long-term morbidity in critical states [51–53]. Stress-induced hyperglycaemia seen in critically ill patients is a known prognostic factor of poor outcome as well [3,54].

The patients with haemorrhagic brain lesions were administered bicarbonate more often than those without CNS sequelae, what confirmed their more severe condition, but the difference in the type of antidote administered and folate substitution was not significant. In earlier studies, it was shown that the outcome of methanol poisoning treatment did not depend on the type of antidote administered (ethanol or fomepizole) or folate therapy [55,56].

Finally, in the group of patients with brain haemorrhages, the long-term visual damage was present more often than in the group of patients without haemorrhagic lesions ($p < 0.001$) and in the group of patients with non-haemorrhagic CNS damage ($p = 0.015$), as it was shown earlier [57–60]. This fact confirms that brain haemorrhages generally occur in the most severely poisoned patients with combined damage of the optic nerve, retinal blood barrier, retinal ganglion cells and brain structures. Most of the patients with brain haemorrhages (60%) had serious non-bleeding complications during the treatment, such as delirium, acute pancreatitis, cardiac infarction and cardiac failure, asystole with apnoea, pulmonary oedema, pneumonia and sepsis.

The role of systemic anticoagulation in the development of brain haemorrhages is not presently determined. Some authors suggest that a combination of early blood brain barrier disruption by oedema and ischaemia during the first hours/days of hospitalization, with hypocoagulability associated with heparinization during dialysis, facilitates bleeding and leads to haemorrhagic brain lesions [28,29]. Nevertheless, in our study, multi-focal haemorrhagic lesions were present both in the patient with RCA and in the patient without any anticoagulation during dialysis. On the other hand, in almost 60% of the patients with systemic anticoagulation applied during the dialysis, no haemorrhagic lesions were found. Further, in 6 of 9 (67%) patients with non-haemorrhagic necrotic lesions, heparin was administered during dialysis, but this did not lead to haemorrhage in necrotic brain regions.

Therefore, our data do not support the hypothesis of the role of systemic anticoagulation as a cause of brain haemorrhages. If the combination of acute early blood brain barrier disruption by oedema and hypocoagulability caused brain haemorrhages, it would be logical to detect early haemorrhagic lesions in brain during the first 1–3 days after admission, when dialysis with systemic anticoagulation is applied and brain oedema and ischaemia are maximal. In our study, signs of brain haemorrhage were still not present after days 5, 10 and even 14 days of hospitalization, while late haemorrhagic lesions were found in all these cases on the follow-up MR examinations.

The dynamics of CT and MR changes illustrates the possible development of the brain lesions in severely poisoned patients: firstly, general or multi-focal subcortical white matter and pericapsular and/or focal basal ganglia oedema followed by foci of non-haemorrhagic necrosis, which can progress during several days of hospitalization even after complete elimi-

nation of formic acid and correction of acidosis, with possible late haemorrhages in necrotic lesions. The probability of the non-haemorrhagic lesions transforming to the haemorrhagic ones seems not to depend on the systemic anticoagulation: even in the case of massive doses of heparin administered both in boluses and continuously during several consecutive days leading to typical bleeding complications during treatment, the extensive bilateral necrotic regions in the basal ganglia remained non-haemorrhagic. On the contrary, in the case of RCA application during dialysis, the brain haemorrhages were multi-focal, with involvement of both the basal ganglia and the subcortical white matter necrotic foci.

In two cases where series of blood sampling and serum formic acid measurements were performed, formic acid was quickly and effectively eliminated from the blood during the first 24 hr of treatment. Nevertheless, severe brain damage developed during the following days and even weeks. A possible explanation is that formic acid might act like a trigger, starting a consequence of pathological events inside cells that culminates considerably later and leads to neuronal degeneration and necrosis developing during the days weeks after halting acute exposure to the toxic agent. Mechanisms of oxidative stress may be involved in these events, but further studies are necessary to confirm this hypothesis.

Despite the absence of a causal relationship between systemic anticoagulation and brain haemorrhages in methanol-poisoned patients, hypocoagulability associated with high doses of heparin or LMWH may facilitate bleeding to necrotic areas of the brain. Several pathological conditions can indicate patients who are predisposed to brain haemorrhages: haemorrhagic stroke in anamnesis, bleeding conditions like Mallory Weiss syndrome in anamnesis, alcoholic cirrhosis or hepatopathy with thrombocytopenia in anamnesis or on admission, or chronic medication with warfarin, aspirin and clopidogrel. One-third of the patients with haemorrhagic lesions in our study had these predisposing conditions. During treatment, episodes of high arterial blood pressure, often difficult to manage by antihypertensive medication, and episodes of transitory thrombocytopenia are indicative of possible late brain haemorrhages as well. If some of these predisposing conditions or bleeding complications are present, RCA may be an alternative option to systemic anticoagulation with heparin or LMWH during the dialysis sessions.

Strengths and limitations.

The study has some principal limitations, the most important one being the lack of randomization between the patients treated with and without systemic anticoagulation during dialysis sessions and the small number of patients treated with RCA or without any anticoagulation during dialysis. The study was not controlled relative to other treatment modalities (choice of antidote and mode of dialysis, alkalization and folate substitution). The numbers of patients in both groups, with and without haemorrhagic lesions, were relatively small, and most of the patients in both groups were severely poisoned 'late-presenters': possible brain damage could occur before admission to the

hospital and treatment initiation. In most patients in the study, CT or MR examinations of brain were not performed on admission or during hospitalization, and only in two cases was a series of two consecutive examinations during hospitalization performed. Only the survivors of acute methanol poisoning were included in the study, and a substantial fraction of the survivors did not agree to participation in the follow-up study; therefore, a bias of selection may be possible, with less severely affected patients participating in the follow-up examinations.

Despite its limitations and confounders, this is the longitudinal study performed during a mass methanol poisoning outbreak comparing the character of brain damage in patients treated with and without systemic anticoagulation. The essential clinical and laboratory data were collected during the Czech mass outbreak in a prospective manner using standardized forms; the follow-up examinations were performed in a single medical facility using a uniform investigation protocol. The patients were examined using MR imaging of the brain with the gradient sequence, which is the most sensitive to the detection of haemoglobin breakdown products; the examination was fulfilled two times during the follow-up period (2 years after discharge) to prevent errors of omission or misinterpretation of the results of the first examination.

Acknowledgements

This work was supported by the Project of the Ministry of Health of the Czech Republic 9/15/NAP, the Projects of the Charles University in Prague PRVOUK P25/1LF/2, P28/1LF/6 and EU Project 'Material - technical Research Base for the Diagnostics and Treatment of Environmentally-caused and Oncological Disorders and their Risks, in the General University Hospital in Prague' (Reg. No. CZ.2.16/3.1.00/24.12).

Declaration of Interests

The authors report no declarations of interests.

References

- Hovda KE, Hunderi OH, Tafjord AB, Dunlop O, Rudberg N, Jacobsen D. Methanol outbreak in Norway 2002-2004: epidemiology, clinical features and prognostic signs. *J Intern Med* 2005;**258**:181-90.
- Paasma R, Hovda KE, Tikkerber A, Jacobsen D. Methanol mass poisoning in Estonia: outbreak in 154 patients. *Clin Toxicol* 2007;**45**:152-7.
- Zakharov S, Pelcova D, Urban P, Navratil T, Diblik P, Kuthan P *et al.* Czech mass methanol outbreak 2012: epidemiology. Challenges and clinical features. *Clin Toxicol* 2014;**52**:1013-24.
- Kumar SS, Seerala Boopathy K, Bhaskar ME. Methanol poisoning-a Chennai experience. *J Assoc Physicians India* 2003;**51**:425-6.
- Ahmad K. Methanol-laced moonshine kills 140 in Kenya. *Lancet* 2000;**356**:1911.
- Bucarechi F, De Capitani EM, de Madureira PR, Cesconetto DM, Lanaro R, Vieira RJ. Suicide attempt using pure methanol with hospitalization of the patient soon after ingestion: case report. *Sao Paulo Med J* 2009;**127**:108-10.
- Zakharov S, Navratil T, Pelcova D. Non-fatal suicidal self-poisonings in children and adolescents over a 5-year period (2007-2011). *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2013;**112**:425-30.

- 8 Barceloux DG, Bond GR, Krenzelok EP, Cooper H, Vale JA. American Academy of Clinical Toxicology practice guidelines on the treatment of methanol poisoning. *J Toxicol-Clin Toxicol* 2002;**40**:415–46.
- 9 Megarbane B, Borron SW, Baud FJ. Current recommendations for treatment of severe toxic alcohol poisonings. *Intensive Care Med* 2005;**31**:189–95.
- 10 Roberts DM, Yates C, Megarbane B, Winchester JF, Maclaren R, Gosselin S *et al*. Recommendations for the role of extracorporeal treatments in the management of acute methanol poisoning: a systematic review and consensus statement. *Crit Care Med* 2015;**43**:461–72.
- 11 Vaneckova M, Klempir J, Ruzicka E, Bezdicek O, Liskova I, Diblik P *et al*. Methanol intoxication on magnetic resonance imaging – case reports. *Cesk Slov Neurol N* 2014;**77**(110):235–9.
- 12 Bezdicek O, Michalec J, Seidl Z, Ruzicka E, Liskova I, Diblik P *et al*. Sequelae of methanol poisoning for cognition. *Cesk Slov Neurol N* 2014;**77**(110):320–5.
- 13 Hassanian-Moghaddam H, Nikfarjam A, Mirafzal A, Saberinia A, Nasehi AA, Asl HM *et al*. Methanol mass poisoning in Iran: role of case finding in outbreak management. *J Public Health (Oxf)* 2015;**37**:354–9.
- 14 Zakharov S, Pelclova D, Urban P, Navratil T, Nurieva O, Kotikova K *et al*. Use of pre-hospital ethanol administration to improve outcome in mass methanol outbreaks. *Ann Emerg Med* 2016; doi 10.1016/j.annemergmed.2016.01.010 Accepted.
- 15 Liesivuori J, Savolainen H. Methanol and formic-acid toxicity – biochemical-mechanisms. *Pharmacol Toxicol* 1991;**69**:157–63.
- 16 Jacobsen D, McMartin KE. Methanol and ethylene glycol poisonings. Mechanism of toxicity, clinical course, diagnosis and treatment. *Med Toxicol* 1986;**1**:309–34.
- 17 Sejersted OM, Jacobsen D, Ovrebø S, Jansen H. Formate concentrations in plasma from patients poisoned with methanol. *Acta Med Scand* 1983;**213**:105–10.
- 18 Takeshita D, Nakajima-Takenaka C, Shimizu J, Hattori H, Nakashima T, Kikuta A *et al*. Effects of formaldehyde on cardiovascular system in *in situ* rat hearts. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2009;**105**:271–80.
- 19 Zakharov S, Navratil T, Pelclova D. Analysis of serum anion gap and osmolal gap in diagnosis and prognosis of acute methanol poisoning: clinical study in 86 patients. *Monatshefte für Chemie* 2015;**146**:787–94.
- 20 Osterloh JD, Pond SM, Grady S, Becker CE. Serum formate concentrations in methanol intoxication as a criterion for hemodialysis. *Ann Intern Med* 1986;**104**:200–3.
- 21 Zakharov S, Kurcova I, Navratil T, Salek T, Komarc M, Pelclova D. Is the measurement of serum formate concentration useful in the diagnostics of acute methanol poisoning? A prospective study of 38 patients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2015;**116**:445–51.
- 22 Hantson P, Wittebole X, Haufroid V. Ethanol therapy for methanol poisoning: duration and problems. *Eur J Emerg Med* 2002;**9**:278–9.
- 23 Zakharov S, Navratil T, Pelclova D. Fomepizole in treatment of acute methanol poisonings: experience from the Czech mass methanol outbreak 2012–2013. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2014;**158**:641–9.
- 24 Jacobsen D, Ovrebø S, Sejersted OM. Toxicokinetics of formate during hemodialysis. *Acta Med Scand* 1983;**214**:409–12.
- 25 Dudka J, Burdan F, Korobowicz A, Klepacz R, Korobowicz E. Human skeletal muscle lactate dehydrogenase activity in the presence of some alcohol dehydrogenase inhibitors. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2004;**95**:38–42.
- 26 Zakharov S, Pelclova D, Navratil T, Belacek J, Kurcova I, Komzak O *et al*. Intermittent hemodialysis is superior to continuous veno-venous hemodialysis/hemodiafiltration to eliminate methanol and formate during treatment for methanol poisoning. *Kidney Int* 2014;**86**:199–207.
- 27 Chow MT, Di Silvestro VA, Yung CY, Nawab ZM, Leehey DJ, Ing TS. Treatment of acute methanol intoxication with hemodialysis using an ethanol-enriched, bicarbonate-based dialysate. *Am J Kidney Dis* 1997;**30**:568–70.
- 28 Phang PT, Passerini L, Mielke B, Berendt R, King EG. Brain haemorrhage associated with methanol poisoning. *Crit Care Med* 1988;**16**:137–40.
- 29 Giudicissi Filho M, Holanda CV, Nader NA, Gomes SR, Bertolucci PH. Bilateral putaminal haemorrhage related to methanol poisoning: a complication of hemodialysis? Case report *Arq Neuropsiquiatr* 1995;**53**:485–7.
- 30 Angel-Hernandez M, Holanda MS, Tejerina EE, Gonzalez C, Lopez M, Hernandez JL. Methanol poisoning and heparin: A dangerous couple? *Am J Emerg Med* 2004;**22**:620–1.
- 31 Bayliss G. Dialysis in the poisoned patient. *Hemodial Int* 2010;**14**:158–67.
- 32 Patankar T, Bichile L, Karnad D, Prasad S, Rathod K. Methanol poisoning: brain computed tomography scan findings in four patients. *Australas Radiol* 1999;**43**:526–8.
- 33 McLean DR, Jacobs H, Mielke BW. Methanol poisoning – a clinical and pathological study. *Ann Neurol* 1980;**8**:161–7.
- 34 Ganguly G, Banerjee A, Mukherjee S, Das SK, Maity B. Bilateral basal ganglia haemorrhage – uncommon manifestation of methanol poisoning. *J Assoc Physicians India* 1996;**44**:834–5.
- 35 Gaul HP, Wallace CJ, Auer RN, Fong TC. MR Findings in Methanol Intoxication. *AJNR Am J Neuroradiol* 1995;**16**:1783–6.
- 36 Anderson CA, Rubinstein D, Filley CM, Stears JC. MR enhancing brain lesions in methanol intoxication. *J Comput Assist Tomogr* 1997;**21**:834–6.
- 37 Patel MM, Tsutaoka BT, Banerji S, Blanc PD, Olson KR. ED utilization of computed tomography in a poisoned population. *Am J Emerg Med* 2002;**20**:212–7.
- 38 Hubacek JA, Pelclova D, Seidl Z, Vaneckova M, Klempir J, Ruzicka E *et al*. Rare alleles within the CYP2E1 (MEOS system) could be associated with better short-term health outcome after acute methanol poisoning. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2015;**116**:168–72.
- 39 Dill T. Contraindications to magnetic resonance imaging. *Heart* 2008;**94**:943–8.
- 40 Taheri MS, Moghaddam HH, Moharamzad Y, Dadgari S, Nahvi V. The value of brain CT findings in acute methanol toxicity. *Eur J Radiol* 2010;**73**:211–4.
- 41 Orthner H. *Die Methylalcohol Vergiftung*. Springer, Berlin, 1950.
- 42 Symon L, Pasztor E, Dorsch NW, Branston NM. Physiological responses of local areas of the cerebral circulation in experimental primates determined by the method of hydrogen clearance. *Stroke* 1973;**4**:632–42.
- 43 Hantson P, Duprez T, Mahieu P. Neurotoxicity to the basal ganglia shown by magnetic resonance imaging (MRT) following poisoning by methanol and other substances. *J Toxicol-Clin Toxicol* 1997;**35**:151–61.
- 44 Brierly JB, Graham DI. Hypoxia and vascular disorders of the central nervous system. In: Adams JH, Corsellis JAN, Duchon LW (eds). *Greenfield's Neuropathology*. Edward Arnold, London, 1984:125–207.
- 45 Coulter CV, Farquhar SE, McSherry CM, Isbister GK, Duffull SB. Methanol and ethylene glycol acute poisonings - predictors of mortality. *Clin Toxicol* 2011;**49**:900–6.
- 46 Liu JJ, Daya MR, Carrasquillo O, Kales SN. Prognostic factors in patients with methanol poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol* 1998;**36**:175–81.
- 47 Paasma R, Hovda KE, Hassanian-Moghaddam H, Brahmī N, Afshari R, Sandvik L *et al*. Risk factors related to poor outcome after methanol poisoning and the relation between outcome and antidotes – a multicenter study. *Clin Toxicol* 2012;**50**:823–31.

- 48 Hassanian-Moghaddam H, Pajoumand A, Dadgar S, Shadnia S. Prognostic factors in methanol poisoning. *Hum Exp Toxicol* 2007;**26**:583–6.
- 49 Pantoni L, Garcia J, Gutierrez J. Cerebral white matter is highly vulnerable to ischemia. *Stroke* 1996;**27**:1641–7.
- 50 Ueno M, Tomimoto H, Akiguchi I, Wakita H, Sakamoto H. Blood–brain barrier disruption in white matter lesions in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002;**22**:97–104.
- 51 Schuster HP. Prognostic value of blood lactate in critically ill patients. *Resuscitation* 1984;**11**:141–6.
- 52 Jansen TC, van Bommel J, Mulder PG, Rommes JH, Schieveld SJ, Bakker J. The prognostic value of blood lactate levels relative to that of vital signs in the pre-hospital setting: a pilot study. *Crit Care* 2008;**12**:R160.
- 53 Smith I, Kumar P, Molloy S, Rhodes A, Newman PJ, Grounds RM *et al.* Base excess and lactate as prognostic indicators for patients admitted to intensive care. *Intensive Care Med* 2001;**27**:74–83.
- 54 Sanaei-Zadeh H, Esfeh SK, Zamani N, Jamshidi F, Shadnia S. Hyperglycemia is a strong prognostic factor of lethality in methanol poisoning. *J Med Toxicol* 2011;**7**:189–94.
- 55 Zakharov S, Pelclova D, Navratil T, Belacek J, Komarc M, Eddleston M *et al.* Fomepizole versus ethanol in the treatment of acute methanol poisoning: comparison of clinical effectiveness in a mass poisoning outbreak. *Clin Toxicol* 2015;**53**:797–806.
- 56 Zakharov S, Nurieva O, Navratil T, Diblik P, Kuthan P, Pelclova D. Acute methanol poisonings: folates administration and visual sequelae. *J Appl Biomed* 2014;**12**:309–16.
- 57 Zakharov S, Pelclova D, Urban P, Navratil T, Diblik P, Kuthan P *et al.* Long-term visual damage after acute methanol poisonings: longitudinal cross-sectional study in 50 patients. *Clin Toxicol* 2015;**53**:884–92.
- 58 Zakharov S, Nurieva O, Kotikova K, Urban P, Navratil T, Pelclova D. Factors predicting optic nerve axonal degeneration after methanol-induced acute optic neuropathy: a two-year prospective study in 54 patients. *Monatshefte fur Chemie* 2016;**147**:251–61.
- 59 Nurieva O, Kotikova K, Petrik V, Urban P, Navratil T, Pelclova D *et al.* Prevalence, dynamics, and biochemical predictors of optic nerve remyelination after methanol-induced acute optic neuropathy: a two-year prospective study in 54 patients. *Monatshefte fur Chemie* 2016;**147**:239–49.
- 60 Urban P, Zakharov S, Diblik P, Pelclova D, Ridzon P. Visual evoked potentials in patients after methanol poisoning. *Int J Occup Med Environ Health* 2016;**29**. doi 10.13075/ijomeh.1896.00452.

CLINICAL RESEARCH



Efficiency of ^{123}I -ioflupane SPECT as the marker of basal ganglia damage in acute methanol poisoning: 6-year prospective study

Katerina Kotikova^{a,b}, David Zogala^c, Vaclav Ptacnik^c, Jiri Trnka^c, Karel Kupka^c, Manuela Vaneckova^d, Zdenek Seidl^d, Pavel Diblik^e, Jarmila Heissigerova^e, Tomas Navratil^{a,f}, Martin Komarc^g, Ivan Zak^{a,b}, Kamila Polakova^h, Hana Brozova^h and Sergey Zakharov^{a,b}

^aDepartment of Occupational Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; ^bToxicological Information Centre, General University Hospital, Prague, Czech Republic; ^cInstitute of Nuclear Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital, Prague, Czech Republic; ^dDepartment of Radiology, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital, Prague, Czech Republic; ^eDepartment of Ophthalmology, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital, Prague, Czech Republic; ^fDepartment of Electrochemistry at the Nanoscale, J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic; ^gDepartment of Methodology, Faculty of Physical Education and Sport, Charles University, Prague, Czech Republic; ^hDepartment of Neurology, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

ABSTRACT

Context: Investigate whether ^{123}I -ioflupane SPECT (DaT SPECT) has the potential as a marker of basal ganglia damage in acute methanol poisoning.

Methods: Prospective, single-centre, cohort study of patients with confirmed methanol poisoning was conducted. DaT SPECT was performed twice with semi-quantification using DaTQUANTTM and MRI-based volumetry was calculated. Specific binding ratios (SBR) of striatum, caudate nucleus, and putamen were correlated with laboratory parameters of outcome, volumetric data, and retinal nerve fibres layer (RNFL) thickness measurements.

Results: Forty-two patients (mean age 46.3 ± 4.2 years; 8 females), including 15 with MRI-detected putamen lesions (group I) and 27 patients with intact putamen (group II), underwent DaT SPECT. Volumetry was calculated in 35 of the patients assessed. SBR values for the left putamen correlated with putamen volume ($r = 0.665$; $p < 0.001$). Decreased bilateral SBR values were determined for the striatum and the putamen, but not for the nucleus caudate, in group I ($p < 0.05$). Significant correlation was observed between the SBR of the posterior putamen and arterial blood pH ($r = 0.574$; $p < 0.001$) and other toxicological parameters of severity of poisoning/outcome including serum lactate, glucose, and creatinine concentrations ($p < 0.05$). The SBR of the posterior putamen positively correlated with the global RNFL thickness ($p < 0.05$). ROC analysis demonstrated a significant discriminatory ability of SBR of the posterior putamen with AUC = 0.753 (95%CI 0.604–0.902; $p = 0.007$). The multivariate regression model demonstrated that arterial blood pH, age, and gender were the most significant factors associated with SBR of the posterior putamen.

Conclusion: DaT SPECT demonstrates significant potential for the diagnosis of methanol-induced basal ganglia damage.

ARTICLE HISTORY

Received 19 May 2020
Revised 14 July 2020
Accepted 15 July 2020

KEYWORDS

Methanol poisoning; basal ganglia lesion; toxic brain damage; putamen necrosis; ^{123}I -ioflupane SPECT; MRI-volumetry

Introduction

Worldwide, methanol is one of the top-five most extensively used chemicals in industry, agriculture, and by consumers [1–3]. Cases of accidental or occupational poisoning with methanol-containing products are reported frequently [4–7]. In 2018, the American Association of Poison Control Centres' National Poison Data System reported 2192 cases of acute exposure to methanol [8]. Mass and cluster outbreaks of methanol poisoning as a result of adulterated alcohol consumption have occurred throughout the world in the twenty first century [9–11].

The high degree of lethality and high rate of long-term health sequelae in survivors exceeding 40% make the treatment of methanol intoxication a challenge for health care

providers globally [12–14]. Bilateral necrosis of the basal ganglia, mostly the putamen, with or without haemorrhage, and haemorrhagic lesions in subcortical white matter are typical computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) findings observed in survivors [15,16]. Other rare MR findings include necrotic lesions within the globus pallidus, nucleus caudate, thalamus, cerebellum, brainstem, pons and cerebral cortex, and optic nerve atrophy [17–20]. Methanol-induced basal ganglia lesions are associated with secondary parkinsonism, which is characterised by rigidity, dystonia, bradykinesia, tremor, masked face, lethargy, and with cognitive deficits [21–26]. Other reported neurological sequelae that result from severe methanol intoxication include transverse myelitis, motor neuron disorder

CONTACT Katerina Kotikova  katerina.kotikova@vfn.cz  Department of Occupational Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University, Na Bojisti 1, Prague 120 00, Czech Republic

© 2020 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

resembling amyotrophic lateral sclerosis, visual anosognosia, and pseudobulbar palsy [27–29]. Chronic retinal neurodegeneration with progressive loss of visual functions is observed in up to 24% of methanol-poisoning survivors [30]. Long-term central nervous system (CNS) and visual sequelae of methanol poisoning are associated with significantly decreased quality of life [31].

MRI-volumetric analysis of the brain has increasingly been used to quantitatively assess changes in different brain structures. Patients with MRI signs of methanol-induced brain damage possess significantly decreased basal ganglia volumes, and the most significant changes occur in the putamen [32]. Basal ganglia neurons and their axons are susceptible to damage induced by hypoxia and oxidative stress [33,34]. Damaged brain tissue undergoes oedema of affected areas, and later, necrosis, glial scar, and postmalatic pseudocyst formation result in decreased brain volume in affected regions [35]. The putamen receives extensive dopaminergic projections from the substantia nigra pars compacta [36]. Altered putaminal volume and shrinkage of the striatum due to decreases in neuronal numbers may affect diverse regions of the brain, since the substantia nigra, thalamus, and frontal cortical regions form a topographically organized, cortical–striatal–thalamic–cortical loop [37].

Dopamine transporter (DaT) is a protein that is expressed in the membrane of dopaminergic cells. It facilitates the reuptake of dopamine into presynaptic terminals. Modern imaging techniques applying ^{123}I -N-v-fluoropropyl-2b-carbomethoxy 3b-(4-iodophenyl)nortropine (^{123}I FP-CIT, or ^{123}I -ioflupane) for labelling DaT provide a useful tool for evaluating dopaminergic terminal function by single photon emission computed tomography (DaT SPECT), an established method that has widely been applied in both clinical practice and research [38]. Dopamine transporter imaging is key for diagnosing idiopathic parkinsonism (e.g., Parkinson's disease, multisystem atrophy, progressive supranuclear palsy, Lewy body dementia) to distinguish between the occurrence of nigrostriatal degeneration and the preservation of dopaminergic function in clinically uncertain cases of suspected parkinsonian syndrome.

Striatal DaT binding may contribute to axonal dysfunction or DaT expression in the nigrostriatal pathway in patients acutely exposed to methanol. However, no systematic studies have investigated striatal dopaminergic system integrity *via* functional imaging in survivors of acute methanol poisoning, and only episodic case reports have been published [39,40]. Therefore, it remains unclear whether putaminal necrosis in methanol-poisoned patients decreases striatal DaT binding as a result of axonal dysfunction. The association between volumes of interest (VOI) measurements determined *via* MRI and specific binding ratios (SBR) determined *via* ^{123}I -ioflupane on DaT SPECT is unclear. Furthermore, researchers have not identified whether quantitative indices of DaT SPECT are associated with poisoning severity [30,41,42]. To answer these questions, the relationship between the SBRs for the striatum, putamen, caudate, and MRI-based volumes of these brain structures was investigated. The association between DaT SPECT values and the severity of acute methanol

poisoning and clinically applied prognostic factors of long-term outcomes was explored.

Materials and methods

Study design and setting

We carried out a prospective, longitudinal, single-centre, observational cohort study of patients with confirmed acute methanol poisoning that were treated in hospitals during a mass methanol poisoning outbreak that occurred in the Czech Republic from September to December of 2012 [11]. Clinical and laboratory tests indicating acute exposure were collected using standardised data collection protocols. Information regarding treatment modalities used and outcomes was collected from discharge reports. Patients who survived methanol poisoning and were discharged from the hospital were examined 3–8 months and then 2, 4 and 6 years after discharge using the same clinical examination and equipment, hardware and image acquisition, reconstruction, and analysis protocol.

Selection of participants and treatment methods

The national monitoring and reporting system of all cases of acute methanol poisoning was established during the methanol poisoning outbreak. All hospitalised patients with analytically confirmed methanol poisoning were eligible for the study. The patients underwent standard neurological examinations and complete ocular examinations while they were hospitalised and also when they were discharged from the hospital. The examination protocol included either a brain CT or MRI. The patients were considered to have CNS sequelae of acute methanol intoxication if MRI or CT brain scans revealed lesions of the basal ganglia.

Treatment was provided according to the European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists and the American Academy of Clinical Toxicology guidelines for treatment of methanol poisoning [41]. Alcohol dehydrogenase (ADH) blockers, ethanol and fomepizole, were used as antidotes [43]. Other treatment modalities administered included folate substitution, bicarbonate, enhanced elimination methods, intermittent haemodialysis or continuous veno-venous haemodialysis/haemodiafiltration [41,44].

Brain imaging protocol and clinical follow-up

During the follow-up, all subjects were scanned using 3T imaging (MAGNETOM Skyra; Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) four times during a 6-year period. The MRI protocol included a T1-weighted 3D MPRAGE sequence for brain volumetry, and the following parameters were applied: repetition time (TR) 2300 ms, echo time (TE) 2.26 ms, inversion time (TI) 732 ms, slice thickness 1.0/0 mm and flip angle (FA) 8°. Further, sequences were used to describe brain pathology *via* T2WI, 3D FLAIR, SWI and coronal T2WI with fat saturation was used to visualise optic nerves. The estimation of MR brain imaging was examiner-blinded. All MR data were

processed using the MorphoBox prototype software with home-built atlas for volume segmentation program. These data allowed researchers to estimate single brain structure absolute volumes in cm^3 and relative volume as percentage of total intracranial volume (TIV). The estimation was calculated in five steps: (i) a brain template was created each input MR using nine-parameter affine spatial transformation (three translational and three rotational parameters followed by anisotropic scaling); (ii) the input image was corrected for bias field using an expectation–maximisation algorithm; (iii) a TIV template mask was resampled and applied to the transformation obtained in step i for skull stripping; (iv) a template-free tissue classification algorithm was used on the TIV-restricted image, which produced three tissue posterior probability maps (grey matter, white matter and cerebrospinal fluid); and (v) the tissue probability maps were combined with the masks that were resampled in the first step to produce regional volume estimates [45,46].

The follow-up clinical examination protocol, aside from brain MRI and DaT SPECT performed on the same day, included the neurological examination of motor and sensory function, reflexes, cerebellar function, cranial nerves function, and Neuroprotection and Natural History in Parkinson's Plus Syndromes scale (NNIPPS-PPS), an ophthalmological examination, visual evoked potentials, and optical coherence tomography with retinal nerve fibres layer (RNFL) thickness measurement. RNFL thickness was measured by SD-OCT Spectralis Tracking Laser Tomography (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany; software version 5.8.3) and was compared to a normative database. The following biochemical tests were performed: serum glucose, glycohaemoglobin, albumin, prealbumin, liver and renal function tests, lipids, thyroid-stimulating hormone (TSH), vitamins B₁ and B₁₂, carbohydrate-deficient transferrin (CDT), and ethyl glucuronide screening in urine.

DaT SPECT

¹²³I-ioflupane (DATSCAN™, GE Healthcare, B.V. Eindhoven, Netherlands) was used for DaT SPECT performed twice (4 and 6 years after discharge) during a 6-year period.

Dosage and scanning procedures were in accordance with the manufacturer's recommendations. Images were acquired using a dual-head SPECT scanner, the GE Infinia HawkEye4 (GE Healthcare, Milwaukee, WI) equipped with a parallel collimator. Imaging was commenced 3 h after an intravenous bolus injection of standard activity (185 MBq) of the radiopharmaceutical. The SPECT projections were acquired for 40 s per projection in a 360° stepwise rotation of detectors, with a rotation radius of 15 cm. Data were collected in 128 × 128 matrices with a zoom factor of 1.33, rendering a pixel size of 3.32 × 3.32 mm. Image reconstruction was done with OSEM (2 iterations, 10 subsets) and post-filtered with a Butterworth filter (critical frequency 0.6 cm^{-1} , order 10). The triple energy window technique was applied for scatter correction. The total scanning time of the protocol was 45 min. A representative example of DaT SPECT image is shown in Figure 1. The review of DaT SPECT images was examiner blinded.

Commercially available DaTQUANT™ (GE Healthcare, Little Chalfont, UK) software was used for automatic semi-quantitative image analyses. DaTQUANT software provides automatic segmentation and VOI extraction based on pre-defined spatial templates under the control of operator. If necessary, the operator can modify VOI manually to adjust any discrepancies during the reconstruction and alignment process. Semiautomatic image analysis is less susceptible to interobserver variability than visual interpretation [47]. After SPECT reconstruction, transaxial slices were used as software input, which applies an automatic VOI-based semi-quantitative evaluation of the image data and compares it to an in-built set of reference data for statistical analysis. Pre-defined template VOIs were automatically positioned in the striatum, putamen, and caudate regions in each hemisphere, and in the occipital reference region. The program calculated semi-quantitative SBR as the difference between the mean counts in each VOI and the mean counts in the background, divided by the mean counts in the background. DaTQUANT software provides measurements of SBR both in the whole putamen, and separately in the putamen anterior and posterior; therefore, the data for our study were extracted separately for these VOI.

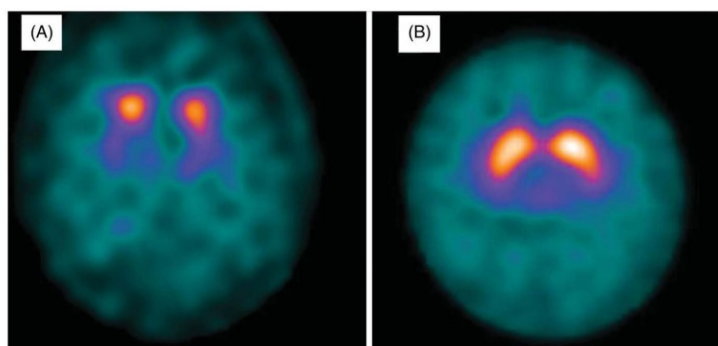


Figure 1. Example of DaT SPECT image in the patient with severe (A) and minor methanol poisoning (B).

Statistical analysis

For all variables, basic descriptive statistics (mean, CI, SD, skewness and kurtosis) were calculated, and the data were tested for normality using Shapiro–Wilk’s test. Pearson’s χ^2 test was used to compare the frequencies of categorical demographic and clinical variables between the groups of methanol poisoning survivors with and without MRI signs of necrotic lesions of the putamen. Continuous variables (volumetric data, SBR, and others) were compared using *t*-test for independent groups. Bivariate associations were assessed using Pearson’s correlation coefficient with the two-tailed significance test option. Reliability analysis was conducted using the intraclass correlation coefficient (ICC) to index the reliability of DaT SPECT measurements in the first and the second examination. The ICC between the two examinations was calculated using the two-way random-effects model for absolute agreement between measurements. A multivariate regression model was used to predict the SBR for the striatum, nucleus caudate, putamen, anterior putamen, and posterior putamen based on several predictors including age, gender, chronic alcohol abuse, smoking, and arterial blood pH at admission. Receiver operating curves (ROC) and the area under the curve (AUC) were used to compare discriminatory capacities of the SBR in different VOI for indicating methanol-induced basal ganglia damage. The best cut-off scores within the ROC analysis were identified in terms of sensitivity and specificity. The level of significance was set to $\alpha=0.05$. The statistical analyses were performed using Statistical Product and Service Solutions software (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0, IBM SPSS Statistics, Armonk, NY).

Ethical approval and informed consent

The Ethics Committee of the General University Hospital in Prague approved this prospective study, and written informed consent was obtained from patients before examinations. The approval no. is 31/15.

Results

Patient characteristics

Of 108 patients hospitalized with acute methanol poisoning, 84 survived. These survivors were asked whether they would be willing to participate in a study that involved a long-term assessment of the effects of methanol poisoning. Of the 54 patients who agreed, in 42 patients (8 females), brain MRI and DaT SPECT were performed. The patients had not previously been diagnosed with neurological, neurodegenerative, neurovascular, or psychiatric disorders other than chronic alcohol abuse. In 15/42 patients (36%), brain MRI revealed signs of necrotic lesions of the putamen (patients classified as group I) and, in 27 patients, no signs of putaminal damage were detected (classified as group II). Focal necrotic lesions in the globus pallidus were found in 6 patients (14%), three of them were members of group I. Clinically, 18 (43%) patients had mild to moderate bradykinesia with rigidity

and/or tremor with mean combined NNIPPS score 25 ± 9 and 24 patients had no signs of parkinsonism. Of the 42 patients that had undergone DaT SPECT and MRI of the brain, MRI-volumetry was measured in 35 patients (8 females, $p=0.682$), 13 patients with necrotic lesions of the putamen and 22 without signs of putaminal damage ($p=0.897$). In seven patients, volumetric measurements were technically unfeasible due to the low quality of primary imaging data.

Demographic, clinical, and MRI-volumetric characteristics of patients on their dates of admission and follow-up laboratory data are summarised in Table 1. The two groups did not differ significantly with respect to age, gender, proportion of chronic alcohol abusers or proportion of smokers when admitted to the hospital with acute methanol poisoning. The patients with MRI-detected necrotic lesions of the putamen tended to be more severely poisoned and have lower arterial blood pH and bicarbonate concentrations. They also tended to have increased base deficit, anion gap and serum lactate levels. All patients admitted in a coma belonged to group I and 80% of the patients with PSS 3 poisoning (severe poisoning) were in this group ($p < 0.001$). No difference in treatment modalities (administration of ethanol versus fomepizole for ADH blocking, folate substitution) and in the follow-up laboratory parameters was observed between the two groups. Patients in group I had lower left putamen, nucleus caudate and globus pallidus volumes than those of group II, but did not display different right VOI, which revealed a degree of asymmetry associated with MRI-volumetric findings (Table 1). Patients with bradykinesia with rigidity and/or tremor had lower volume of the left putamen ($5.78 \pm 0.87 \text{ cm}^3$ versus $6.76 \pm 0.43 \text{ cm}^3$; $p=0.049$).

Correlation between mean specific binding ratios on DaT SPECT, clinical and laboratory parameters of poisoning severity and outcomes

There was no difference observed between the two groups with regard to the relative variation of background signals, ruling out significant differences in image quality. An assessment of reproducibility between the first and the second examination revealed strong agreement (intraclass correlation coefficients for the SBR for all VOI ranged from 0.853 to 0.933, all $p < 0.001$). Therefore, mean quantitative indices as the averages of the first and the second measurements were further applied. DaT SPECT results produced significantly lower mean SBR for the whole striatum and for the bilateral putamen, but not for the nucleus caudate, in the patients with necrotic lesions of the putamen detected on brain MRI (Table 2). The greatest difference in the SBR was observed for the bilateral posterior putamen. In three patients from group II with globus pallidus lesions, but no putamen lesions, the SBR for the bilateral putamen posterior did not differ from the SBR of the rest of group II (1.78 ± 0.81 versus 1.86 ± 0.16 ; $p=0.738$, for right putamen posterior, and 1.87 ± 0.89 versus 1.91 ± 0.18 ; $p=0.866$, for left putamen posterior). Certain asymmetry in the SBR for the right and left hemispheres was observed, with lower indices determined for the left putamen, but the difference was not

Table 1. Basic demographic, clinical, MRI-volumetric characteristics, admission, and follow-up laboratory data of the study population.

Characteristic	All patients (n = 42)	Group I (n = 15)	Group II (n = 27)	p
Age (years)	46.3 ± 4.2	45.5 ± 6.0	46.7 ± 5.9	0.778
Males, no. (%)	34 (81)	12 (80)	3 (81)	0.912
Chronic alcohol abuse, no. (%)	31 (74)	9 (60)	24 (89)	0.089
Smoking, no. (%)	22 (52)	8 (53)	14 (52)	0.976
Time, hours	32.1 ± 4.7	30.5 ± 8.9	32.9 ± 6.0	0.643
Coma, no. (%)	7 (17)	7 (47)	0	
CDT, %	3.8 ± 1.4	3.0 ± 2.5	4.2 ± 1.8	0.405
S-MetOH, mg/L	1380.0 ± 440.0	2020.0 ± 990.0	1010.0 ± 390.0	0.065
S-EtOH, mg/L	250.0 ± 150.0	170.0 ± 180.0	300.0 ± 220.0	0.337
Arterial blood pH	7.17 ± 0.07	6.97 ± 0.11	7.29 ± 0.04	<0.001
HCO ₃ ⁻ , mmol/L	11.4 ± 2.3	6.2 ± 3.1	14.5 ± 2.6	<0.001
Base deficit, mmol/L	16.4 ± 3.4	24.5 ± 5.2	11.5 ± 3.3	<0.001
Anion gap, mmol/L	27.7 ± 3.1	33.5 ± 6.4	24.6 ± 3.0	0.006
S-Formate, mg/L	590.0 ± 150.0	650.0 ± 280.0	550.0 ± 200.0	0.566
S-Creatinine, mcmol/L	93.0 ± 11.0	112.0 ± 24.0	81.9 ± 7.0	0.024
S-Glucose, mmol/L	8.1 ± 1.2	10.4 ± 2.9	6.8 ± 0.7	0.024
S-Lactate, mmol/L	3.3 ± 1.3	5.5 ± 2.8	1.7 ± 0.3	0.015
PSS 1/2/3, no. (%)	20/8/14 (48/19/33)	2/1/12 (13/7/80)	18/7/2 (67/26/7)	<0.001
Antidote (ethanol/fomepizol), no. (%)	30/12 (71/29)	8/7 (53/47)	24/5 (89/11)	0.073
Folate substitution, no. (%)	32 (76)	12 (80)	20 (74)	0.638
GlycHb (%)	34.9 ± 1.9	33.3 ± 2.5	35.8 ± 2.7	0.183
Vitamin B ₁₂ (mcmol/L)	424.0 ± 75.0	520.0 ± 190.0	371.0 ± 57.0	0.133
Vitamin B ₃ (mcmol/L)	57.1 ± 3.6	60.5 ± 7.4	55.3 ± 4.1	0.180
TSH (IU/L)	2.5 ± 0.3	2.6 ± 0.4	2.5 ± 0.4	0.683
Volume of putamen right, cm ³	6.01 ± 0.31	5.68 ± 0.63	6.21 ± 0.35	0.107
Volume of putamen left, cm ³	6.34 ± 0.45	5.58 ± 0.96	6.78 ± 0.39	0.027
Volume of nucleus caudate right, cm ³	4.53 ± 0.24	4.41 ± 0.44	4.61 ± 0.30	0.421
Volume of nucleus caudate left, cm ³	4.19 ± 0.21	3.92 ± 0.22	4.35 ± 0.30	0.022
Volume of globus pallidus right, cm ³	1.83 ± 0.10	1.80 ± 0.18	1.84 ± 0.12	0.678
Volume of globus pallidus left, cm ³	1.79 ± 0.11	1.66 ± 0.14	1.86 ± 0.15	0.049

Notes: Group I: patients with MRI signs of necrotic lesions of the putamen; group II: patients without MRI signs of necrotic lesions of the putamen; age: age at admission to the hospital; coma: admitted in coma to the hospital; time: time span between methanol exposure and hospital admission; CDT: carbohydrate deficient transferrin; S-MetOH: serum methanol concentration at admission; S-EtOH: serum ethanol concentration at admission; HCO₃⁻: bicarbonate concentration at admission; S-Formate: serum formic acid concentration at admission; PSS: poisoning severity score; GlycHb: serum glycated haemoglobin; TSH: thyroid-stimulating hormone. MR-volumetry data are presented for 35 patients from the study population. The level of significance is $p < 0.05$ (bold numbers).

Table 2. Specific binding ratios (SBR) for the striatum, putamen, and nucleus caudate in survivors of acute methanol poisoning (means with SD).

Variables	All patients (n = 42)	Group I (n = 15)	Group II (n = 27)	p
SBR of the striatum				
Striatum right	2.13 ± 0.13	1.96 ± 0.22	2.23 ± 0.15	0.042
Striatum left	2.12 ± 0.14	1.90 ± 0.29	2.25 ± 0.15	0.022
SBR of the putamen				
Putamen right	2.00 ± 0.13	1.77 ± 0.22	2.13 ± 0.15	0.007
Putamen left	1.97 ± 0.15	1.70 ± 0.30	2.12 ± 0.15	0.017
SBR of the nucleus caudate				
Nucleus caudate right, mean	2.44 ± 0.14	2.40 ± 0.25	2.46 ± 0.18	0.702
Nucleus caudate left, mean	2.42 ± 0.15	2.30 ± 0.31	2.49 ± 0.17	0.241
SBR of the putamen anterior				
Putamen anterior right, mean	2.15 ± 0.13	1.95 ± 0.24	2.26 ± 0.16	0.026
Putamen anterior left, mean	2.11 ± 0.14	1.89 ± 0.30	2.23 ± 0.15	0.023
SBR of the putamen posterior				
Putamen posterior right, mean	1.68 ± 0.13	1.38 ± 0.21	1.85 ± 0.14	<0.001
Putamen posterior left, mean	1.70 ± 0.16	1.34 ± 0.30	1.90 ± 0.16	<0.001

Notes: Group I: patients with MRI signs of necrotic lesions of the putamen; group II: patients without MRI signs of necrotic lesions of the putamen. The level of significance is $p < 0.05$ (bold numbers).

significant. Patients with bradykinesia with rigidity and/or tremor had lower SBR of the left putamen posterior (1.49 ± 0.31 versus 1.86 ± 0.16 ; $p = 0.038$); for the right putamen posterior, difference was not significant (1.54 ± 0.24 versus 1.78 ± 0.15 ; $p = 0.082$).

The SBR for the left putamen was positively correlated with its volume (Figure 2). Correlations between SBR and the volume of the right putamen were significant only for the posterior putamen ($r = 0.386$, $p = 0.022$). In contrast, the volume of the nucleus caudate was not correlated with its SBR, and the SBR for the striatum and the putamen. Finally, the

volume of left, but not right, globus pallidus positively correlated with the SBR for the whole putamen ($r = 0.344$, $p = 0.043$), and for the posterior putamen ($r = 0.378$, $p = 0.025$). No correlation was found between the SBR for the whole striatum and the volume of nucleus caudate or globus pallidus.

The SBR for the striatum, putamen and nucleus caudate in both hemispheres did not correlate with age, gender and duration between methanol exposure and hospital admission. There was a significant positive correlation between chronic alcohol abuse and the SBR for the right, but not left,

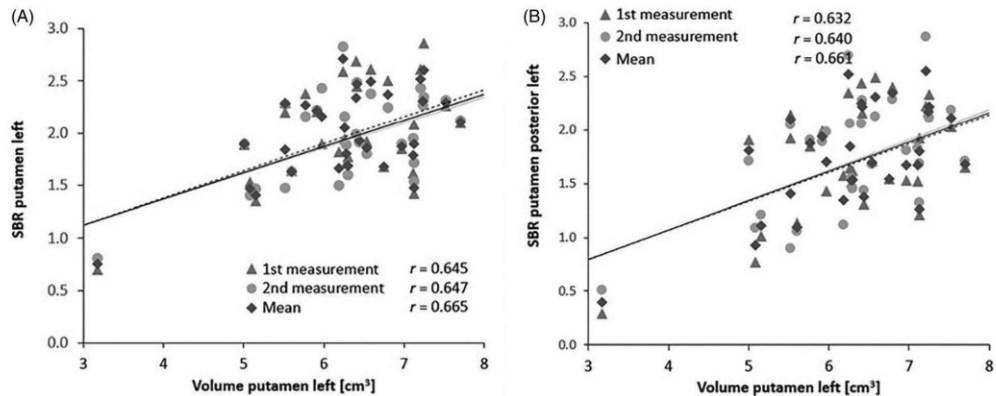


Figure 2. Correlation between SBR on DaT SPECT and volumes of the left putamen (A) and posterior putamen (B).

posterior putamen ($r = 0.327$, $p = 0.037$; $r = 0.286$, $p = 0.070$, respectively). Smokers had higher mean SBR for the whole striatum ($r = 0.319$, $p = 0.042$; $r = 0.325$, $p = 0.038$ for the right and the left hemispheres, respectively) and for the nucleus caudate ($r = 0.327$, $p = 0.037$; $r = 0.348$, $p = 0.026$ for the right and the left hemispheres, respectively) than non-smokers. However, SBR for the putamen did not differ significantly between smokers and non-smokers.

Positive correlation was present between arterial blood pH at admission as the main prognostic parameter of poisoning outcome and the SBR for the putamen ($r = 0.396$, $p = 0.012$; $r = 0.455$, $p = 0.004$ for the right and the left putamen, respectively). The strongest correlation was observed between arterial blood pH and the SBR for posterior putamen posterior bilaterally (Figure 3). Serum lactate concentration at admission as an indicator of the severity of metabolic acidosis, negatively correlated with the SBR of the putamen bilaterally ($r = -0.474$, $p = 0.006$; $r = -0.435$, $p = 0.013$ for the right and the left putamen, respectively). These data also showed the strongest correlation for the posterior putamen ($r = -0.596$, $p < 0.001$; $r = -0.533$, $p = 0.002$, for the right and the left posterior putamen, respectively).

The SBR for the bilateral posterior putamen was negatively associated with acute stress glycaemia ($r = -0.504$, $p = 0.001$; $r = -0.468$, $p = 0.002$ for right and left posterior putamen, respectively) and with serum creatinine concentration ($r = -0.353$, $p = 0.025$; $r = -0.350$, $p = 0.027$ for right and left posterior putamen, respectively). Both laboratory parameters reflected poor outcomes of acute methanol poisoning. No correlations between SBR and serum methanol, ethanol, or formic acid concentrations were identified. Further, no associations were present between the type of antidote administered at the hospital (ethanol or fomepizole), folate substitution, and the SBR for all VOI assessed in our study.

Follow-up laboratory parameters demonstrated no correlations between glycated haemoglobin, TSH, vitamin B₁₂ concentrations, and the SBR for all VOI assessed. However, despite the lack of significant differences between serum vitamin B₁ concentrations of the two groups, they were negatively correlated with the SBR for the putamen ($r =$

-0.314 , $p = 0.043$; $r = -0.382$, $p = 0.013$, for the right and the left putamen, respectively), with the strongest correlation for the SBR of the left putamen posterior ($r = -0.421$, $p = 0.005$).

The SBR for the bilateral posterior putamen positively correlated with global and nasal RNFL of the left eyes (for global RNFL: $r = 0.358$, $p = 0.027$, and $r = 0.376$, $p = 0.020$; for nasal RNFL: $r = 0.362$, $p = 0.025$, and $r = 0.382$, $p = 0.018$ for the right and the left putamen, respectively). However, correlations between SBR and RNFL values of the right eyes were not significant.

Specific binding ratio as the marker of putaminal damage in acute methanol poisoning

ROC and the AUC were used to assess the SBR as an indicator of putaminal damage in survivors of methanol poisoning. ROC analysis of the SBR for the posterior putamen and whole putamen (average of right and left sides) demonstrated a significant AUC of 0.753 (95% CI: 0.604–0.902; $p = 0.007$) and of 0.746 (95% CI: 0.595–0.897; $p = 0.009$), respectively (Figure 4). These data indicated that the SBR for the putamen and specifically for the posterior putamen is potentially a good marker of methanol-induced basal ganglia damage. ROC analyses demonstrated that the AUC for the SBR for the anterior putamen and whole striatum were 0.709 (95% CI: 0.549–0.868; $p = 0.027$) and 0.702 (95% CI: 0.542–0.863; $p = 0.031$), respectively. In contrast, the AUC for the SBR of the nucleus caudate was not significant (AUC = 0.563; 95% CI: 0.376–0.750; $p = 0.503$).

A multivariate regression model demonstrated that arterial blood pH, age at admission to the hospital, and gender were significant association factors for the SBR for the bilateral posterior putamen in survivors of acute methanol poisoning (Table 3). The association of smoking with SBR demonstrated borderline significance for the right, but not left, posterior putamen. The same model was relevant for the whole putamen, but the degree to which arterial blood pH and the age associated with SBR decreased since values of the SBR for the anterior putamen associated to a lesser

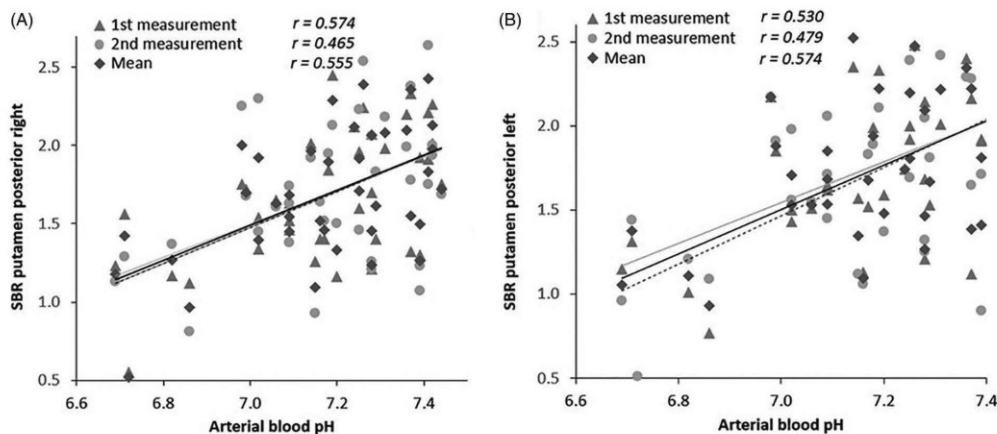


Figure 3. Correlation between arterial blood pH at admission as the main prognostic parameter of poisoning outcome and the SBR for the right (A) and left (B) posterior putamen.

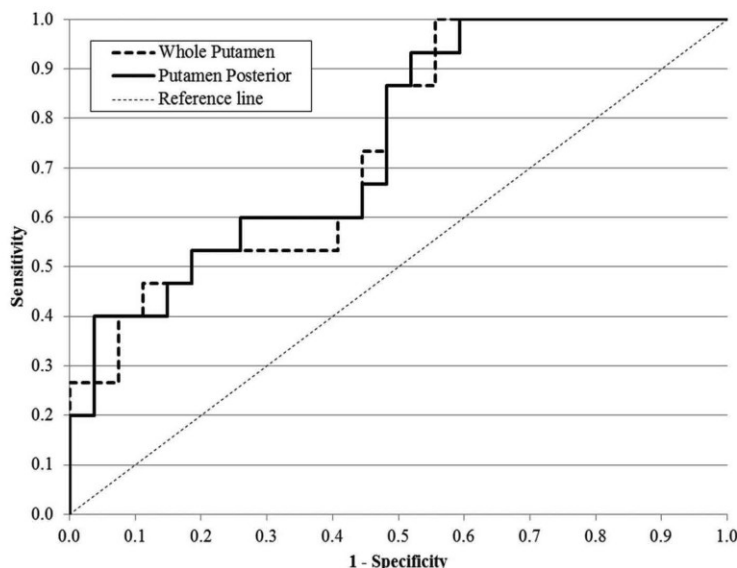


Figure 4. ROC curve analysis of the SBR for the putamen as an indicator of the basal ganglia damage in survivors of methanol poisoning.

degree than those for the posterior putamen to laboratory parameters of the severity of methanol poisoning.

Discussion

We utilized ^{123}I ioflupane SPECT to assess methanol-induced damage to the terminal structures of nigro-striatal neurons in the basal ganglia, particularly the posterior putamen. Our results revealed that the SBR for the putamen was significantly lower in patients with MRI signs of necrotic putaminal lesions and was correlated with volumetric data. DaT SPECT reflects dopaminergic axonal dysfunction in the striatum, whereas MRI-volumetry directly registers the size of relevant brain structures. The SBR for the putamen as the region of interest

showed better classification performance compared to the SBR for the whole striatum. Furthermore, the SBR for the putamen was positively correlated with arterial blood pH at admission to the hospital, acute laboratory parameter reflecting the severity of methanol poisoning and main prognostic indicator of hospital outcome [9,11,41,42]. Of all studied VOI, the SBR for the posterior putamen demonstrated highest sensitivity and specificity for detection of methanol-induced basal ganglia damage. Importantly, DaT expression in the posterior putamen was positively associated with RNFL thickness, which is a basic morphological feature of retinal neurodegeneration after acute methanol poisoning [30].

An association exists between striatal ^{123}I -ioflupane uptake and both the number of dopaminergic neurons in

Table 3. Summary of association factors for the SBR for the putamen posterior, putamen anterior, and the whole putamen in survivors of acute methanol poisoning.

Variable	B	Standard error	Beta	t	Significance	95% CI	
						Lower bound	Upper bound
Putamen posterior right							
Constant	-5.65	1.99		-2.84	0.008	-9.70	-1.60
Arterial pH	1.04	0.28	0.50	3.64	0.001	0.46	1.61
Age	-0.01	0.01	-0.25	-2.06	0.047	-0.02	0.00
Gender	0.35	0.14	0.32	2.58	0.014	0.07	0.62
Chronic alcohol	0.18	0.14	0.19	1.33	0.193	-0.10	0.47
Smoking	0.22	0.11	0.26	2.10	0.043	0.01	0.43
Putamen posterior left							
Constant	-8.21	2.35		-3.50	0.001	-12.98	-3.44
Arterial pH	1.42	0.34	0.56	4.23	0.000	0.74	2.10
Age	-0.01	0.01	-0.28	-2.42	0.021	-0.02	-0.00
Gender	0.49	0.16	0.37	3.10	0.004	0.17	0.82
Chronic alcohol	0.15	0.16	0.12	0.93	0.360	-0.18	0.48
Smoking	0.21	0.12	0.20	1.73	0.094	-0.04	0.46
Putamen anterior right							
Constant	-1.44	2.31		-0.62	0.537	-6.13	3.25
Arterial pH	0.49	0.33	0.24	1.49	0.145	-0.18	1.16
Age	-0.01	0.01	-0.20	-1.37	0.180	-0.02	0.00
Gender	0.39	0.16	0.36	2.48	0.018	0.07	0.71
Chronic alcohol	0.22	0.16	0.22	1.34	0.189	-0.11	0.54
Smoking	0.28	0.12	0.33	2.31	0.027	0.03	0.53
Putamen anterior left							
Constant	-2.48	2.41		-1.03	0.311	-7.38	2.42
Arterial pH	0.63	0.34	0.28	1.84	0.074	-0.07	1.33
Age	-0.01	0.01	-0.22	-1.58	0.124	-0.02	0.00
Gender	0.39	0.16	0.33	2.38	0.023	0.06	0.72
Chronic alcohol	0.24	0.17	0.23	1.45	0.156	-0.10	0.58
Smoking	0.32	0.13	0.35	2.50	0.017	0.06	0.58
Putamen right							
Constant	-2.79	2.14		-1.30	0.201	-7.15	1.56
Arterial pH	0.67	0.31	0.33	2.18	0.036	0.05	1.29
Age	-0.01	0.01	-0.22	-1.64	0.111	-0.02	0.00
Gender	0.37	0.16	0.36	2.57	0.015	0.08	0.67
Chronic alcohol	0.20	0.15	0.21	1.35	0.187	-0.10	0.50
Smoking	0.26	0.11	0.32	2.31	0.027	0.03	0.49
Putamen left							
Constant	-4.47	2.31		-1.94	0.061	-9.17	0.22
Arterial pH	0.91	0.33	0.40	2.76	0.009	0.24	1.58
Age	-0.01	0.01	-0.26	-1.97	0.057	-0.02	0.00
Gender	0.43	0.16	0.36	2.74	0.010	0.11	0.75
Chronic alcohol	0.22	0.16	0.20	1.34	0.188	-0.11	0.54
Smoking	0.28	0.12	0.30	2.32	0.026	0.04	0.53

Notes: CI: confidence interval; arterial pH: arterial blood pH at admission to the hospital with acute methanol poisoning; age: age at admission to the hospital; chronic alcohol: chronic alcohol abuse. The level of significance is $p < 0.05$ (bold numbers).

the substantia nigra pars compacta and the functional state of those neuron's axon terminals [48,49]. Outputs of the substantia nigra pars compacta are directed to the spines of dendrites of GABAergic medium spiny neurons in the striatum. Therefore, DaT SPECT, by evaluating the function of dopaminergic terminal axons, provides indirect information on the numbers of surviving GABAergic neurons in the putamen, especially within its posterior part, the caudal putamen, containing motor circuits where the reductions of dopamine transporters are most severe. Our data are in accordance with results of previous studies that revealed the selective vulnerability of the posterior putamen to hypoxic-ischemic brain injury, which researchers determined to be due to vascular and biochemical factors [50]. Further, we observed certain asymmetry in dopaminergic terminal function decrease with relatively lower indices for the SBR for the left striatum. It is interesting that Parkinsonian disease pathology occurs asymmetrically as well, and clinical motor symptoms manifest unilaterally in the early stages of the disease [51].

Common risk factors of poor prognosis in acute methanol poisoning, such as severity of metabolic acidosis with high anion gap, base deficit, serum lactate, and low arterial blood pH [41,42], were associated with the SBR for the putamen, especially for the posterior putamen, in our cohort of survivors of poisoning. The SBR for the posterior putamen was correlated not only with severity of acidemia, but also with stress glycaemia and serum creatinine levels upon admission to the hospital. Further, while difference in MRI-based volumes of the right putamen between two groups was under the level of significance, SBR indices clearly demonstrated significant decrease of dopaminergic activity in the right putamen in the patients from group I. Therefore, DaT SPECT may be comparable to, and in certain situations even more accurate marker than MRI-based volumetry with regard to its capacity to identify patients with toxic lesions of the putamen and quantify the scale of damage. One of the reasons is related to the limitations of MRI-volumetry calculations in the patients with striatum shrinkage, with substantially

scarred or deformed basal ganglia as a result of glial reparation processes within necrotic foci. On the other hand, the spatial resolution of SPECT imaging is typically inferior to that of MRI, and partial volume effects or smoothing may prevent SPECT from detecting small focal lesions in the brain of the patients with mild poisoning [52].

Age dependency has been reported for both males and females for DaT SPECT measurements [53]. In the present study, no correlation of the SBR with age and gender was observed. This lack of association can be explained by the relatively homogenous young age of the study population (IQR 35–58 years), small group size, and the capacity of methanol-induced basal ganglia damage to mask age-related DaT decline. Nevertheless, in the multivariate regression model, both age and gender were significantly associated with DaT availability in the putamen. This model demonstrated that arterial blood pH at admission most strongly affected DaT SPECT measurements (Table 3). The dissociation constant of formic acid (pK_a) is 3.8, therefore, a pH drop by 0.3 would double the undissociated formic acid levels and produce significant increases in toxicity. This occurs because only undissociated formic acid crosses the blood-brain barrier and reaches neurons of the basal ganglia [54].

In the current study, no significant differences were observed in the SBR for the nucleus caudate between the patients with and without MRI-signs of basal ganglia damage. Differences in the SBR for the anterior putamen between two groups were smaller than for the posterior putamen. These data may indicate that the anterior portions of the striatum, which are involved in cognitively demanding tasks that require the generation of novel movement sequences, are less vulnerable to acute methanol toxicity than posterior portions that are involved in simple motor functioning.

Treatment modalities applied during hospitalisation with acute methanol poisoning, administration of fomepizole or ethanol to inhibit ADH, and folate substitution as a co-factor of formic acid oxidation, had no association with DaT availability in the striatum. The effect of chronic alcohol abuse on the SBR was not significant; one of the reasons could be the high proportion (74%) of patients with chronic alcohol abuse in the cohort of survivors of methanol poisoning. No differences were observed in follow-up laboratory parameters (glucose, glycated haemoglobin, TSH, vitamins B₁ and B₁₂, and others) of the two groups, which indicated the absence of further confounders affecting DaT availability in the study cohort. Smoking produced an independent effect on the SBR of the putamen in the multivariate regression model. Smoking most significantly affected the anterior portion of the putamen. It has been previously reported that higher putamen volume was associated with longer lifetime cigarette use and younger age of smoking initiation [55].

Abnormal thickness of RNFL on optical coherence tomography as a result of the toxic effect of formic acid on retinal ganglion cells, followed by chronic retinal neurodegeneration, has been previously reported in survivors of acute methanol poisoning [30,56]. DaT SPECT measurements revealed a positive correlation between RNFL thickness and

the SBR of the posterior putamen. This finding indicates that OCT with RNFL measurement can be used as a reliable, cheap and simple screening method, indicating the group of methanol-poisoning survivors with possible basal ganglia damage. In this group, DaT SPECT with ¹²³I-ioflupane can be used for verifying the diagnosis.

Bradykinesia with rigidity and tremor, executive deficit, balance impairment and frontal gait disorder as neurological signs reflecting putamenal damage and disrupted connections in the cortico-basal ganglia loops in the survivors of acute methanol poisoning had been reported in our previous study [57]. More than 40% of the patients in our study population had signs of bradykinesia with rigidity and/or tremor with mean combined NNIPPS score 25 ± 9 corresponding to mild to moderate parkinsonism. In these patients, clinical signs of parkinsonism reflected both morphological (lower volume of the putamen), and functional (lower SBR of the putamen posterior) findings registered by MRI-volumetry and DaT SPECT. However, certain asymmetry in dopaminergic terminal function decrease with relatively lower indices for the SBR for the left striatum led to the fact that the difference in morphological and functional findings between the patients with and without clinical signs of parkinsonism was significant only for the left putamen.

The current study has several limitations. First, the number of study participants who underwent MRI-volumetry was smaller than the number of patients who underwent DaT SPECT. This may have affected correlations between the SBR and volumetry data. Further, short 2-year time span between the first and the second DaT SPECT examinations is insufficient for the conclusion if the SBR findings are progressive or not. In the longitudinal PRECEPT study, the percent change from baseline in striatal SBR at 22 months was -0.2% (SD 12.2) only in 72 newly diagnosed untreated subjects with Parkinson disease and a baseline scan without evidence of dopaminergic deficit [58]. Therefore, longer follow-up period is necessary for any conclusion on the dynamics of SBR after acute methanol poisoning. Nevertheless, this is the first study that prospectively assessed a homogenous cohort of survivors of acute methanol poisoning from single clinical setting. The patients of the study were subjected to the same study protocol and equipment for 6 years, and were recruited after a single, mass methanol poisoning event. Brain MRI was performed on all patients to detect the signs of methanol-induced damage. Second, patients with MRI data indicative of necrotic lesions of the putamen tended to be younger than those without signs of putamenal damage, but difference was not significant. Third, DaT SPECT was not performed on healthy controls due to ethical reasons. The diagnosis of acute methanol poisoning was confirmed *via* toxicological laboratory analysis in all patients. A reliable diagnosis of long-term CNS sequelae of acute methanol poisoning requires a relatively long follow-up. The strength of the study consisted in its prospective longitudinal character. MRI of the brain was performed, and patients were examined consecutively four times within a 6-year period post-discharge from the hospital. For each patient, DaT SPECT was performed twice in the same medical facility using the same

camera, hardware, and acquisition/reconstruction protocol to minimize variability.

Conclusion

DaT SPECT with ^{123}I -ioflupane demonstrates potential for the assessment of dopaminergic function in the putamen, especially within its posterior region, as a diagnostic tool for evaluating sequelae of toxic brain damage in survivors of acute methanol poisoning. Importantly, DaT SPECT demonstrated high diagnostic correspondence with MRI-volumetry, and the SBR decrease in the striatum correlated with acute laboratory parameters of poisoning severity and prognostic indicators of hospital outcome, which indicated that DaT SPECT has the potential to more accurately identify patients with basal ganglia damage than brain MRI-volumetry. Therefore, DaT SPECT with ^{123}I -ioflupane is useful for diagnosing sequelae of toxic brain damage in acute methanol poisoning.

Disclosure statement

The authors report no conflict of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this paper. The manuscript has been read and approved by all authors. The authors certify that the submission is not under review at any other publication. The authors certify that the authors have no other submissions and previous reports that might be regarded as overlapping with the current work. The authors declare no financial disclosures.

Funding

1. Ministry of Health of the Czech Republic (AZV) Grant [16-27075A]. 2. First Faculty of Medicine, Charles University in Prague Grant [PROGRES Q25], Grant [PROGRES Q29]. 3. The complimentary 6-months licence of DaTQUANT was provided by GE Healthcare for the purposes of this project.

References

- [1] Blug M, Leker J, Plass L, et al. Methanol generation economics. In: Bertau M, Offermanns H, Plass L, Schmidt F, Wernicke HJ, editors. *Methanol: the basic chemical and energy feedstock of the future. Asinger's vision today*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2014. p. 603–618.
- [2] Kemsley J. Methanol's allure. *Chem Eng News*. 2007;85(49):55–59.
- [3] Olah GA. Beyond oil and gas: the methanol economy. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2005;44(18):2636–2639.
- [4] Choi JH, Lee SK, Gil YE, et al. Neurological complications resulting from non-oral occupational methanol poisoning. *J Korean Med Sci*. 2017;32(2):371–376.
- [5] Ryu J, Lim K, Ryu D, et al. Two cases of methyl alcohol intoxication by sub-chronic inhalation and dermal exposure during aluminum CNC cutting in a small-sized subcontracted factory. *Aoem*. 2016;28:65.
- [6] Soysal D, Yersal Kabayegit O, Yilmaz S, et al. Transdermal methanol intoxication: a case report. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2007;51(6):779–780.
- [7] Zhang G, Grews K, Wiseman H, et al. Application to include fomepizole on the WHO model list of essential medicines. 2015 (3.8.2015). http://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/19/applications/Fomepizole_4_2_AC_Ad.pdf.
- [8] Gummin DD, Mowry JB, Spyker DA, et al. 2018 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 36th Annual Report. *Clin Toxicol (Phila)*. 2019;57(12):1220–1413.
- [9] Hovda KE, Hunderi OH, Tafford AB, et al. Methanol outbreak in Norway 2002–2004: epidemiology, clinical features and prognostic signs. *J Intern Med*. 2005;258(2):181–190.
- [10] Paasma R, Hovda KE, Tikkerber A, et al. Methanol mass poisoning in Estonia: outbreak in 154 patients. *Clin Toxicol (Phila)*. 2007;45(2):152–157.
- [11] Zakharov S, Pelcova D, Urban P, et al. Czech mass methanol outbreak 2012: epidemiology, challenges and clinical features. *Clin Toxicol*. 2014;52(10):1013–1024.
- [12] Blanco M, Casado R, Vázquez F, et al. CT and MR imaging findings in methanol intoxication. *Am J Neuroradiol*. 2006;27(2):452–454.
- [13] Vaneckova M, Zakharov S, Klempir J, et al. Imaging findings after methanol intoxication (cohort of 46 patients). *Neuro Endocrinol Lett*. 2015;36:737–744.
- [14] Zakharov S, Kotikova K, Vaneckova M, et al. Acute methanol poisoning: prevalence and predisposing factors of haemorrhagic and non-haemorrhagic brain lesions. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2016;119(2):228–238.
- [15] Anderson CA, Rubinstein D, Filley CM, et al. MR enhancing brain lesions in methanol intoxication. *J Comput Assist Tomogr*. 1997;21(5):834–836.
- [16] Kuteifan K, Oesterlé H, Tajahmady T, et al. Necrosis and haemorrhage of the putamen in methanol poisoning shown on MRI. *Neuroradiology*. 1998;40(3):158–160.
- [17] Chen JC, Schneiderman JF, Wortzman G. Methanol poisoning: bilateral putaminal and cerebellar cortical lesions on CT and MR. *J Comput Assist Tomogr*. 1991;15(3):522–524.
- [18] Halavaara J, Valanne L, Setälä K. Neuroimaging supports the clinical diagnosis of methanol poisoning. *Neuroradiology*. 2002;44(11):924–928.
- [19] Sefidbakht S, Rasekhi AR, Kamali K, et al. Methanol poisoning: acute MR and CT findings in nine patients. *Neuroradiology*. 2007;49(5):427–435.
- [20] Vaneckova M, Zakharov S, Klempir J, et al. Methanol intoxication on magnetic resonance imaging. *Cesk Slov Neurol N*. 2014;77/110(2):235–239.
- [21] Anderson TJ, Shuaib A, Becker WJ. Neurologic sequelae of methanol poisoning. *Can Med Assoc J*. 1987;136(11):1177–1179.
- [22] Bezdicek O, Michalec J, Vaneckova M, et al. Cognitive sequelae of methanol poisoning involve executive dysfunction and memory impairment in cross-sectional and long-term perspective. *Alcohol*. 2017;59:27–35.
- [23] Galvez-Ruiz A, Elkhamary SM, Asghar N, et al. Visual and neurologic sequelae of methanol poisoning in Saudi Arabia. *Saudi Med J*. 2015;36(5):568–574.
- [24] LeWitt PA, Martin SD. Dystonia and hypokinesia with putaminal necrosis after methanol intoxication. *Clin Neuropharmacol*. 1988;11(2):161–167.
- [25] Ley CO, Gali FG. Parkinsonian syndrome after methanol intoxication. *Eur Neurol*. 1983;22(6):405–409.
- [26] Reddy NJ, Sudini M, Lewis LD. Delayed neurological sequelae from ethylene glycol, diethylene glycol and methanol poisonings. *Clin Toxicol (Phila)*. 2010;48(10):967–973.
- [27] Chiò A, Herrero Hernandez E, Mora G, et al. Motor neuron disease and optic neuropathy after acute exposure to a methanol-containing solvent mixture. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*. 2004;5(3):188–191.
- [28] McLean DR, Jacobs H, Mielke BW. Methanol poisoning: a clinical and pathological study. *Ann Neurol*. 1980;8(2):161–167.
- [29] Santos-García D, Lopez-Dequid IA, Exposito-Ruiz I, et al. Anton's syndrome due to occipital necrosis after methanol poisoning. *Rev Neurol*. 2015;60(2):90. [Article in Spanish].
- [30] Nurieva O, Diblik P, Kuthan P, et al. Progressive chronic retinal axonal loss following acute methanol-induced optic neuropathy: four-year prospective cohort study. *Am J Ophthalmol*. 2018;191:100–115.

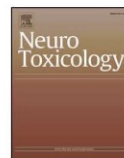
- [31] Rulisek J, Waldauf P, Belohlavek J, et al. Health-related quality of life determinants in survivors of a mass methanol poisoning outbreak: six-year prospective cohort study. *Clin Toxicol.* 2020;8:1–11.
- [32] Hlusicka J, Mana J, Vaneckova M, et al. MRI-based brain volumetry and retinal optical coherence tomography as the biomarkers of outcome in acute methanol poisoning. *NeuroToxicology.* 2020;80:12–19.
- [33] Blanco M, Casado R, Vazquez F, et al. CT and MR imaging findings in methanol intoxication. *Am J Neuroradiol.* 2006;27(2):452–454.
- [34] Zakharov S, Kotikova K, Nurieva O, et al. Leukotriene-mediated neuroinflammation, toxic brain damage, and neurodegeneration in acute methanol poisoning. *Clin Toxicol.* 2017;55(4):249–259.
- [35] Viola A, Stvrtina S, Bauer V, et al. Morphologic and clinical sequelae of focal ischemic lesions. *Cesk Patol.* 2000;36(4):140–145.
- [36] Luo X, Mao Q, Shi J, et al. Putamen gray matter volumes in neuropsychiatric and neurodegenerative disorders. *World J Psychiatry Ment Health Res.* 2019;3(1):1020.
- [37] Haber SN. Corticostriatal circuitry. *Dialogues Ckin Neurosci.* 2016;18(1):7–21.
- [38] Darcourt J, Boojj J, Tatsch K, et al. EANM procedure guidelines for brain neurotransmission SPECT using (123)I-labelled dopamine transporter ligands, version 2. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2010;37(2):443–450.
- [39] Doe de Mairville A, Bakchine S, Papathanassiou D, et al. Evidence of presynaptic dopaminergic dysfunction in acute methanol intoxication. *Rev Neurol (Paris).* 2017;173(6):420–422.
- [40] Airas L, Paavilainen T, Marttila RJ, et al. Methanol intoxication-induced nigrostriatal dysfunction detected using 6-[18F]fluoro-L-dopa PET. *Neurotoxicology.* 2008;29(4):671–674.
- [41] Barceloux DG, Bond GR, Krenzelok EP, American Academy of Clinical Toxicology Ad Hoc Committee on the Treatment Guidelines for Methanol Poisoning, et al. American Academy of Clinical Toxicology practice guidelines on the treatment of methanol poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol.* 2002;40(4):415–446.
- [42] Paasma R, Hovda KE, Hassanian-Moghaddam H, et al. Risk factors related to poor outcome after methanol poisoning and the relation between outcome and antidotes – a multicenter study. *Clin Toxicol.* 2012;50(9):823–831.
- [43] Zakharov S, Pelclova D, Navratil T, et al. Fomepizole versus ethanol in the treatment of acute methanol poisoning: comparison of clinical effectiveness in a mass poisoning outbreak. *Clin Toxicol.* 2015;53(8):797–806.
- [44] Zakharov S, Pelclova D, Navratil T, et al. Efficiency of acidemia correction on intermittent versus continuous hemodialysis in acute methanol poisoning. *Clin Toxicol.* 2017;55(2):123–132.
- [45] Mana J, Vaneckova M, Klempř J, et al. Methanol poisoning as an acute toxicological basal ganglia lesion model: evidence from brain volumetry and cognition. *Alcohol Clin Exp Res.* 2019;43(7):1486–1497.
- [46] Schmitter D, Roche A, Maréchal B, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, et al. An evaluation of volume-based morphometry for prediction of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neuroimage Clin.* 2015;7(1):7–17.
- [47] Mäkinen E, Joutsa J, Johansson J, et al. Visual versus automated analysis of [I-123]FP-CIT SPECT scans in parkinsonism. *J Neural Transm.* 2016;123(11):1309–1318.
- [48] Colloby SJ, McParland S, O'Brien JT, et al. Neuropathological correlates of dopaminergic imaging in Alzheimer's disease and Lewy body dementias. *Brain.* 2012;135(Pt 9):2798–2808.
- [49] Kordower JH, Olanow CW, Dodiya HB, et al. Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson's disease. *Brain.* 2013;136(Pt 8):2419–2431.
- [50] Shankaran S, Niimura K, Muzik O, et al. Selective vulnerability of posterior putamen on positron emission tomography (pet) in perinatal hypoxic-ischemic brain injury. *Pediatr Res.* 1999;45(4, Part 2 of 2):347A.
- [51] Okuzumi A, Hatano T, Kamagata K, et al. Neuromelanin or DaT-SPECT: which is the better marker for discriminating advanced Parkinson's disease? *Eur J Neurol.* 2019;26(11):1408–1416.
- [52] Jakobson Mo S, Axelsson J, Jonasson L, et al. Dopamine transporter imaging with [18F]FE-PE21 PET and [123I]FP-CIT SPECT-a clinical comparison. *EJNMMI Res.* 2018;8(1):100.
- [53] Varrone A, Dickson JC, Tossici-Bolt L, et al. European multicentre database of healthy controls for [123I]FP-CIT SPECT (ENC-DAT): age-related effects, gender differences and evaluation of different methods of analysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2013;40(2):213–227.
- [54] Zakharov S, Kurcova I, Navratil T, et al. Is the measurement of serum formate concentration useful in the diagnostics of acute methanol poisoning? A prospective study of 38 patients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2015;116(5):445–451.
- [55] Das D, Cherbuin N, Anstey KJ, et al. Lifetime cigarette smoking is associated with striatal volume measures. *Addict Biol.* 2012;17(4):817–825.
- [56] Nurieva O, Hubacek JA, Urban P, et al. Clinical and genetic determinants of chronic visual pathway changes after methanol-induced optic neuropathy: four-year follow-up study. *Clin Toxicol.* 2019;57(6):387–397.
- [57] Peterová K, Brožová H, Klempř J, et al. Gait and balance impairment after acute methanol poisoning. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2018;122(1):176–182.
- [58] Marek K, Seibyl J, Eberly S, For The Parkinson Study Group PRECEPT Investigators, et al. Longitudinal follow-up of SWEDD subjects in the PRECEPT study. *Neurology.* 2014;82(20):1791–1797.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Neurotoxicology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neuro

Full Length Article

Peripheral polyneuropathy after acute methanol poisoning: Six-year prospective cohort study

Katerina Kotikova^{a,b,*}, Petr Klepis^{a,b}, Petr Ridzon^c, Jiri Hlusicka^{a,b}, Tomas Navratil^{a,d}, Jan Rulisek^{a,e}, Ivan Zak^{a,b}, Sergey Zakharov^{a,b}

^a Toxicological Information Centre, General University Hospital, Prague, Czech Republic

^b Department of Occupational Medicine, 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

^c Department of Neurology, Thomayer Hospital and 3rd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

^d Department of Biomimetic Electrochemistry, J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

^e Department of Anesthesia and Intensive Care, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital, Prague, Czech Republic



ARTICLE INFO

Keywords:

Methanol poisoning
Long-term health sequelae
Peripheral polyneuropathy
Electromyography
Chronic alcoholism

ABSTRACT

Background: Methanol is a widely used industrial short-chain aliphatic alcohol with known neurotoxic properties. Mass poisoning outbreaks due to the consumption of methanol-adulterated alcoholic drinks present a challenge to healthcare providers due to the high mortality and serious central nervous system (CNS) damage in survivors. However, the impact of methanol exposure on the peripheral nervous system is unknown.

Objectives: To investigate the role of acute methanol exposure in the development of peripheral polyneuropathy (PNP) during the years following discharge from the hospital.

Methods: A total of 55 patients with confirmed methanol poisoning (mean age of 47.9 ± 3.6 years; 9 females) were examined 4 times within a 6-year prospective longitudinal cohort study. The program included neurological and electromyographic examinations, visual evoked potentials, ocular examinations with retinal nerve fibre layer thickness measurements, brain magnetic resonance imaging, and a series of biochemical and toxicological tests.

Results: PNP was observed in 20/55 (36 %) patients, which, in most of the cases, was mild axonal sensorimotor neuropathy. In 8/55 (15 %) patients, worsening of electromyographic findings was registered during the follow-up period, including 5 cases with newly diagnosed PNP and 3 cases of PNP progression. In one subject, complete reversal of PNP was registered after cessation of alcohol intake. The patients with PNP were significantly older (57.3 ± 5.3 versus 42.5 ± 3.9 years; $p < 0.001$), with higher blood glucose (5.93 ± 0.97 versus 4.81 ± 0.32 mmol/L; $p = 0.035$) and lower vitamin B₁ (45.5 ± 7.4 versus 57.5 ± 5.2 ug/L; $p = 0.015$) concentrations. The number of chronic alcohol abusers was significantly higher in the PNP group (17/20 versus 20/35; $p = 0.034$). No associations between PNP prevalence/ dynamics and acute parameters of poisoning severity, arterial blood pH (7.26 ± 0.07 with PNP versus 7.18 ± 0.09 without PNP; $p = 0.150$), or serum methanol (1320.0 ± 700.0 with PNP versus 1430.0 ± 510.0 mg/L without PNP; $p = 0.813$) and ethanol (460.0 ± 560.0 with PNP versus 340.0 ± 230.0 mg/L without PNP; $p = 0.675$) concentrations at admission were found. No difference in the number of patients with visual (9/20 with PNP versus 12/35 patients without PNP; $p = 0.431$) and CNS sequelae (9/20 with PNP versus 15/35 patients without PNP; $p = 0.877$) of poisoning was present.

Discussion: Despite the relatively high number of PNP cases, no association was found between the severity of acute methanol poisoning and the prevalence of PNP and its dynamics during six years of observation. We did not find an association between methanol-induced visual/ brain damage and the prevalence of PNP in survivors of poisoning. A high prevalence of PNP and its progression might be attributed to other causes, mainly a history of chronic alcohol abuse and insufficiently treated diabetes mellitus. Our results highlight the importance of complete cessation of alcohol consumption and better control of glycaemia in diabetic patients in the prevention and treatment of peripheral PNP.

* Corresponding author at: Toxicological Information Center, Department of Occupational Medicine, 1st Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital, Na Bojisti 1, 120 00 Prague, Czech Republic.

E-mail address: katka.kotikova@icloud.com (K. Kotikova).

<https://doi.org/10.1016/j.neuro.2020.04.010>

Received 1 December 2019; Received in revised form 22 April 2020; Accepted 24 April 2020

Available online 05 May 2020

0161-813X/ © 2020 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

1.1. Background

Methanol is one of the most widely used industrial short-chain aliphatic alcohols with known neurotoxic properties (Tanner, 1992; Zakharov et al., 2017a, 2018). Cases of acute, subacute, and chronic methanol intoxication due to occupational inhalational exposure with severe visual and neurological sequelae have been reported in China, Korea, Thailand, and other Asian countries (Choi et al., 2017; Kang et al., 2018; Ma et al., 2019). Methanol poisonings occur either intentionally through abuse or attempted suicide or unintentionally through misuse or accident (Bucaretschi et al., 2009; Zakharov et al., 2013a,b). Mass or cluster poisoning outbreaks due to the consumption of methanol-adulterated alcoholic drinks occur worldwide and present a challenge to healthcare providers due to the high mortality and serious central nervous system (CNS) damage in survivors (Bezdicsek et al., 2017; Hovda et al., 2005; Paasma et al., 2007; Peterova et al., 2018; Rostrup et al., 2016).

The key treatment measure in methanol poisoning is timely application of an antidote, ethanol or fomepizole, to inhibit its oxidation by alcohol dehydrogenase to highly neurotoxic formaldehyde and formic acid (McMartin et al., 2016; Zakharov et al., 2014a, 2015a, 2016a, 2017b). Additional therapy includes extended extracorporeal elimination techniques, different modalities of continuous renal replacement therapy or intermittent haemodialysis, alkalinisation with bicarbonate, folate supplementation, and complex intensive care measures (Barceloux et al., 2002; Hassanian-Moghaddam et al., 2019; Kraut and Mullins, 2018; Rulisek et al., 2017; Zakharov et al., 2014b,c, 2017c,d).

If treatment measures are inadequate or delayed, brain damage due to histotoxic effects of formic acid on neurons leads to bilateral necrosis of the basal ganglia, mostly of the putamen and globus pallidus, and haemorrhagic necrotic lesions in the subcortical white matter in up to 50 % of survivors of methanol poisoning (Vaneckova et al., 2014, 2015; Zakharov et al., 2016c). Formic acid, the main toxic product of methanol oxidation, causes neuronal hypoxia by inhibiting mitochondrial cytochrome c oxidase when its concentration is higher than 9.0–11.0 mmol/L (Drangsholt et al., 2018; Liesivuori and Savolainen, 1991). However, the first signs of visual toxicity might already appear with approximately 4.0 mmol/L of serum formate (Zakharov et al., 2015d). Experimental studies demonstrated retinotoxic effects at blood formate concentrations as low as 5.0 mmol/L in folate-deficient rodents (Eells et al., 1996; Treichel et al., 2004). Methanol-induced brain lesions can be associated with neurotoxic disorders, mainly extrapyramidal syndrome, characterised by rigidity, dystonia, bradykinesia, mild tremor, and cognitive deficits (Bezdicsek et al., 2014; Galvez-Ruiz et al., 2015; Reddy et al., 2010).

1.2. Importance

There are several prognostic factors for hospital survival in acute methanol poisoning. The severity of acidemia, serum ethanol concentration, state of consciousness at admission, time to presentation after methanol ingestion, and the number and character of treatment complications are the most important ones (Hassanian-Moghaddam et al., 2007; Paasma et al., 2012; Zakharov et al., 2015c; Zakharov et al., 2020). However, there is increasing community interest in the long-term neurological sequelae and the health-related quality of life of survivors of methanol intoxication and the factors that contribute to recovery or deterioration in the following years (Chung et al., 2018; Mana et al., 2019; Nurieva et al., 2018, 2019). Long-term neurological sequelae of poisoning may be responsible for decreased mobility, difficulty walking, chronic pain in the extremities, problems in one's social life, lower chances to regain the same working position, and a need for medico-social rehabilitation (Bezdicsek et al., 2017; Peterova et al., 2018; Rulisek et al., 2020; Zakharov et al., 2020).

At present, no studies have investigated the impact of acute methanol exposure on the peripheral nerves of patients in the years following discharge from the hospital. The association between clinically significant peripheral polyneuropathy (PNP) and occupational exposure to organic solvents containing methanol remains controversial (Albers et al., 1999; Hageman et al., 1999). Rare clinical case reports have demonstrated the possible involvement of the peripheral nervous system in chronic motor dysfunction and PNP after acute methanol poisoning (Chiò et al., 2004; Guggenheim et al., 1971; Jarwani et al., 2012; Quartarone et al., 2000). In a cohort study by Paasma et al. (2009), 8/27 (30 %) patients who survived methanol poisoning developed PNP six years after discharge from the hospital.

However, these studies have serious confounders and limitations of individual case reports, such as possible effect of other coingestants in the solvent mixtures, chronic alcohol abuse and other conditions that could be alternative causes of PNP, insufficient biochemical and toxicological data, the absence of baseline electromyographic examination on discharge or shortly after discharge with further systematic follow-up, and a very limited number of observed patients. Experimental studies on rats did not demonstrate the direct effect of acute methanol exposure on neuromuscular functions, but these studies are of limited interest due to the different metabolic pathways of methanol oxidation in rodents compared to humans (Moral et al., 2015).

Therefore, how to account for the influence of long-term neurological sequelae of methanol intoxication, the possible progression or development of new methanol-associated illnesses, the physical and mental state of these patients, their need for specific treatment and rehabilitation, their social re-adaptation, and their medical and psychological support remain unclear. No data are available in the literature as to whether the severity of acute methanol poisoning, the comorbidities burden, chronic alcohol abuse, or the character of methanol-induced visual damage and brain damage may independently impact the subsequent development of peripheral PNP in patients poisoned with methanol. This makes the evaluation of the effectiveness of therapeutic interventions, the timely intervention needed to enhance the quality of life of methanol-poisoning survivors, and their prognosis challenging.

1.3. Study goals

We report data based on the recent methanol mass poisoning outbreak, with more than 130 cases and more than 50 deaths (Rulisek et al., 2017; Šejvl et al., 2019; Zakharov et al., 2014a). In this prospective longitudinal cohort study, we investigated the possible role of acute methanol exposure in the development of peripheral PNP in the years following discharge from the hospital. We analysed the association between the electromyographic examination results and the admission laboratory data (arterial blood pH, serum methanol and ethanol concentrations), the demographic characteristics, and the results of objective examinations performed during the follow-up period.

During the six years after the mass poisoning outbreak in 2012, we performed four consecutive clinical examinations of the survivors according to the same standardised clinical protocol, which included neurological and electromyographic examination, in the same medical facility to study the state of the peripheral nerves of the upper and lower extremities, dynamics of EMG changes, and its association with key clinical and laboratory determinants.

2. Materials and methods

2.1. Study design and setting

The patients with confirmed methanol poisoning treated in hospitals during a poisoning outbreak were included in the prospective observational cohort study (Zakharov et al., 2014a, 2015b). A standardised data collection form was used for the collection of clinical,

toxicological, and biochemical data. The data regarding the treatment outcome were received from hospital discharge reports. Follow-up clinical examinations were performed 4 times in the same hospital: 4–6 months after discharge; then 2, 4, and 6 years later.

2.2. Patient population

All cases of hospital admission with confirmed methanol poisoning had been mandatorily reported to the Ministry of Health and Toxicological Information Center (TIC), and nationwide daily monitoring of the situation in all hospitals was established. All patients hospitalised with confirmed methanol poisoning were eligible for this study.

During hospitalisation with acute methanol poisoning, each patient's disease history and clinical, toxicological, and biochemical data were collected (arterial blood pH, serum methanol, ethanol, glucose, creatinine, and lactate concentrations). Ocular examination with standard ophthalmologic tests, cerebral computed tomography (CT) or magnetic resonance (MR) brain imaging, and neurological examinations were performed. Methanol exposure histories were based on the individual's description and the serum concentrations of methanol, ethanol, and formic acid at admission. Patients were considered to have visual sequelae of methanol poisoning if the symptoms of optic neuropathy were documented during hospitalisation, with pathologic findings on visual acuity, perimeter, colour vision, contrast sensitivity, and persisting lesions on funduscopy on discharge from the hospital. Furthermore, patients were considered to have CNS sequelae of poisoning if symmetrical necrosis and haemorrhages of the basal ganglia and subcortical white matter, compatible with the diagnosis of acute methanol poisoning, were present on CT or MR imaging of the brain.

2.3. Follow-up investigation protocol

The follow-up clinical examination protocol that was applied four times during the six-year observation period included standard clinical neurological examinations and electromyography (EMG) tests using TrueTrace EMG CL 2, 4-channel machine. Motor nerve conduction tests of bilateral tibial and peroneal nerves and sensory nerve action potential amplitudes of bilateral sural nerves, complete ocular examination and standard ophthalmic tests, optical coherence tomography with retinal nerve fibre layer thickness measurements, visual evoked potentials, MR imaging of the brain, addictological examination, biochemical tests [complete blood count, electrolytes, liver tests, glucose, glycohaemoglobin, albumin, pre-albumin, renal and hepatic tests, cholesterol, lipids, thyroid-stimulating hormone, vitamins B₁ and B₁₂, thyroid-stimulating hormone (TSH), carbohydrate deficient transferrin (CDT), and ethyl glucuronide in urine] were performed.

Medical records were reviewed to identify confounding conditions unrelated to methanol exposure that could adversely affect the peripheral nervous system. A diagnosis of peripheral PNP was determined according to the presence of abnormalities related to the symptoms, signs, and electrodiagnostic testing that were considered consistent with standard clinical practice. To be considered positive, symptoms and signs had to be judged by the examining neurologist as consistent with symmetric sensory or sensorimotor PNP involving the lower or upper and lower extremities. Clinical PNP was defined as an abnormal clinical examination consistent with symmetric sensory or sensorimotor PNP. The examiners were masked to the admission laboratory parameters, severity of poisoning, clinical course, treatment measures, and outcomes in methanol-poisoned patients on discharge from hospitals, as well as to each other's results.

2.4. Calculations and data analysis

Basic descriptive statistics were calculated for all variables, which were subsequently tested for normality using the Kolmogorov–Smirnov

test. The Chi-squared test was used to compare frequency counts of demographic and clinical categorical variables. The bivariate relationship was assessed using Pearson's correlation coefficient. The independent variables included in the study were age; sex; the severity of metabolic acidosis; chronic alcoholism, diabetes mellitus, hepatopathy, hypothyroidism, and macrocytic anaemia status; serum glucose, glycohaemoglobin, TSH, prealbumin, vitamin B₁, vitamin B₁₂, and CDT concentrations; acute serum concentrations of methanol and ethanol; and visual and CNS sequelae of poisoning. The two-sided statistical significance was set at $p < 0.05$. The study was approved by the Institutional Ethics Committee.

3. Results

3.1. Patients and baseline characteristics

A total of 108 patients with acute methanol poisoning were treated in the hospital. Of these patients [mean age with standard deviation (SD) of 50.9 ± 2.6 years], 24 patients deceased during hospitalisation. Altogether, 84 patients with a mean age of 49.9 ± 3.0 years, including 27 patients with MR signs of toxic brain damage, survived and were discharged. Of those who survived poisoning, 55 patients (84 % males, 16 % females) provided their informed consent and were recruited into the prospective study of neurological sequelae of poisoning.

Of the 55 patients included in the study, EMG examination was performed 4 times in 31 patients, 3 times in 13 patients, 2 times in 6 patients, and 1 time in 5 patients. Ten patients died during the follow-up period, and four patients were recruited after the first round of examinations. Basic demographic, clinical, and laboratory data of the patients from the study population are presented in Table 1.

3.2. Prevalence of peripheral polyneuropathy in the study population

Of the 55 patients, 20 (36 %) patients had symptoms, signs, and electrodiagnostic abnormalities consistent with PNP. In most of the cases, mild axonal sensorimotor neuropathy was registered. In 6 (11 %) subjects a diagnosis of peripheral PNP had already been present in medical records before methanol exposure, and in 14 (25 %) patients peripheral PNP was diagnosed after acute poisoning and discharge from the hospital within the follow-up period. Of these 14 patients, in 9 subjects, peripheral neuropathy was diagnosed during the first round of the follow-up examinations, and in the rest of the 5 subjects abnormal electrodiagnostic findings were detected later during the six-year follow-up period.

There was no gender difference in the prevalence of peripheral PNP (2/9 females versus 18/46 males, $p = 0.335$), but the patients with PNP were significantly older than those without polyneuropathy (Table 1, Fig. 1).

The patients with chronic alcohol abuse had a significantly higher prevalence of peripheral PNP than the patients without alcoholism (Fig. 2). Only two patients without chronic alcohol abuse had peripheral PNP: a 51-year-old male with insufficiently compensated diabetes mellitus (serum glucose concentration of 11.0 mmol/L; glycohaemoglobin concentration of 51.0 mmol/mol) and with diabetic PNP diagnosed before methanol exposure; and a 64-year-old male with untreated hypothyroidism (TSH concentration of 18.62 mIU/L) and with PNP diagnosed during the first round of follow-up examinations. Of 37 patients with a history of chronic alcohol abuse, in 21 (57 %) patients, carbohydrate deficient transferrin levels (sensitive and specific routine alcohol biomarker for detection and follow-up of heavy drinking) measured four times during six-year observation period was within normal reference limit (0–2%). As the plasma half-life of CDT is 10–14 days, normal percentage of CDT is strongly suggestive of the absence of episodes of chronic excessive alcohol consumption within at least two weeks before the examination.

The difference in the number of patients with diabetes mellitus ($n =$

Table 1

Basic demographic, clinical, acute and follow-up laboratory data of the patients from the study population, means with standard deviation (n = 55) and numbers (n, %).

Characteristics	All patients (n = 55)	No PNP (n = 35)	Yes PNP (n = 20)	Yes PNP** (n = 14)	p	p**
Age, years	47.9 ± 3.6	42.5 ± 3.9	57.3 ± 5.3	59.0 ± 5.8	< 0.001	< 0.001
Gender (M/F)	46/9	28/7	18/2	13/1	0.335	0.271
History of chronic alcohol abuse, n (%)	37 (67 %)	20 (57 %)	17 (85 %)	13 (93 %)	0.034	0.016
CDT, %	3.4 ± 1.3	2.9 ± 1.5	4.3 ± 3.0	3.3 ± 3.2	0.375	0.824
Diabetes mellitus, n (%)	9 (16 %)	4 (11 %)	5 (25 %)	2 (14 %)	0.191	0.783
Glucose, mmol/L	5.15 ± 0.38	4.81 ± 0.32	5.93 ± 0.97	5.41 ± 0.50	0.035	0.060
Glycohaemoglobin, mmol/mol	35.8 ± 2.0	34.6 ± 2.4	37.8 ± 3.6	37.0 ± 3.2	0.134	0.276
Hepatopathy, n (%)	34 (62 %)	20 (57 %)	14 (70 %)	10 (71 %)	0.345	0.354
Hypothyroidism, n (%)	3 (5 %)	2 (6 %)	1 (5 %)	1 (7 %)	0.911	0.851
TSH, mIU/L	2.68 ± 0.40	2.94 ± 0.56	3.10 ± 1.90	3.40 ± 2.80	0.900	0.767
Prealbumin, g/L	0.29 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.29 ± 0.03	0.29 ± 0.04	0.990	0.986
Vitamin B ₁₂ , ng/L	451.0 ± 69.0	417.0 ± 57.0	510.0 ± 170.0	490.0 ± 230.0	0.294	0.566
Vitamin B ₁ , ug/L	61.0 ± 14.0	57.5 ± 5.2	45.5 ± 7.4	46.0 ± 11.0	0.015	0.040
Macrocytic anaemia, n (%)	3 (5 %)	0	3 (15 %)	1 (7 %)	–	–
MetOH*, mg/L	1390.0 ± 400.0	1430.0 ± 510.0	1320.0 ± 700.0	1170.0 ± 700.0	0.813	0.587
Arterial blood pH*	7.21 ± 0.06	7.18 ± 0.09	7.26 ± 0.07	7.27 ± 0.09	0.150	0.146
EtOH*, mg/L	380.0 ± 230.0	340.0 ± 230.0	460.0 ± 560.0	230.0 ± 240.0	0.675	0.493
Time, hours	30 ± 6	29 ± 8	31 ± 10	26 ± 9	0.677	0.658
Visual sequelae, n (%)	21 (38 %)	12 (34 %)	9 (45 %)	5 (36 %)	0.431	0.924
Brain damage, n (%)	24 (44 %)	15 (43 %)	9 (45 %)	4 (29 %)	0.877	0.354

Notes: M – male; F – female; CDT – carbohydrate-deficient transferrin; TSH – thyroid-stimulating hormone; MetOH – serum methanol concentration; EtOH – serum ethanol concentration; PNP – peripheral polyneuropathy; Time – time span between methanol ingestion and hospital admission/blood testing * - at admission to hospital with acute methanol poisoning; ** - after exclusion of six patients with pre-existing PNP diagnosed before intoxication. The level of significance is p < 0.05 (bold numbers).

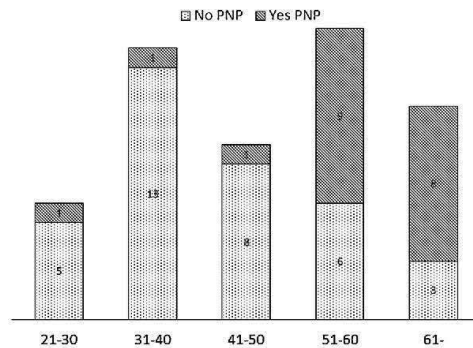


Fig. 1. Histogram of age of the patients from the study population with (n = 20) and without (n = 35) peripheral polyneuropathy (PNP).

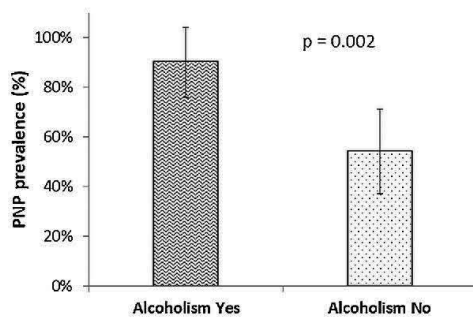


Fig. 2. Prevalence of peripheral polyneuropathy (PNP) stratified by chronic alcohol abuse in the groups of patients with (n = 20) and without (n = 35) PNP (n = 55).

9) in the two groups was not significant (4/35 patients without PNP versus 5/20 patients with PNP; p = 0.206), but the mean serum glucose concentration in the group of patients with PNP was significantly higher (Table 1). The patients with peripheral PNP had lower serum vitamin B₁ concentrations (see Table 1), but the difference in the number of patients with vitamin B₁ concentrations below the normal reference limit of 42.0 ug/L was not significant between the two groups (6/35 without PNP versus 7/20 with PNP; p = 0.134). Of the seven patients with low serum vitamin B₁ concentrations in the group with PNP, three patients had macrocytic anaemia.

In the group of patients with peripheral PNP, three patients had low prealbumin concentrations, suggesting malnutrition, and one patient had a low serum concentration of vitamin B₁₂ (no patients with low serum prealbumin and vitamin B₁₂ concentrations were present in the group of patients without PNP).

3.3. Association between the severity of acute methanol poisoning, the treatment outcome, and the prevalence of peripheral polyneuropathy

The difference in the severity of methanol poisoning, defined as the degree of acidaemia at admission (arterial blood pH), between the groups of patients with and without peripheral PNP was not significant (Table 1). Moreover, the patients with PNP had relatively higher arterial blood pH values than those without PNP, suggesting less severe poisoning (Fig. 3).

The patients with peripheral PNP had relatively lower serum methanol concentrations and relatively higher protective serum ethanol concentrations at admission to the hospital (Fig. 4), demonstrating the absence of a dose–response association between the concentration of methanol and PNP; although, the difference between the two groups was insignificant (p = 0.813 for methanol and p = 0.675 for ethanol, see Table 1). No difference in time span between methanol ingestion and hospital admission and blood testing was present between the groups.

To eliminate uncertainties brought by six patients with pre-existing peripheral polyneuropathy before acute methanol intoxication, the calculations were performed after exclusion of these subjects. The effects of age, history of chronic alcohol abuse, and concentration of

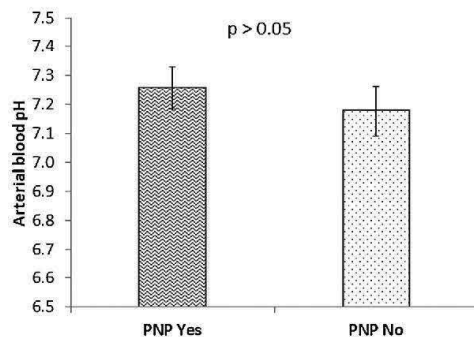


Fig. 3. Arterial blood pH at hospital admission with acute methanol poisoning in the groups of patients with and without peripheral polyneuropathy (PNP).

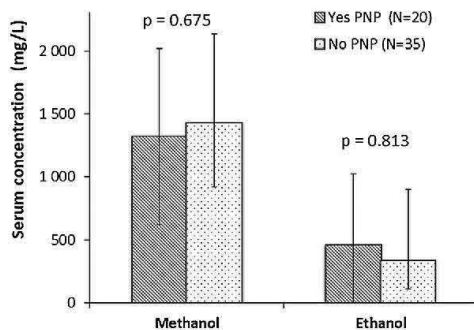


Fig. 4. Serum methanol and ethanol concentrations at hospital during admission in the groups of patients with (n = 20) and without (n = 35) peripheral polyneuropathy (PNP).

vitamin B₁ remained significant (the significance of history of chronic alcohol abuse has even increased). Only the significance of serum glucose concentration decreased, because of six excluded patients with pre-existing polyneuropathy, three of them had diabetes mellitus. The effects of acute serum methanol and ethanol concentrations, as well as arterial blood pH at admission remained insignificant.

Finally, no difference between the two groups in the number of patients with long-term visual sequelae (12/35 without PNP versus 9/20 with PNP; $p = 0.431$) and CNS sequelae (15/35 without PNP versus 9/20 with PNP; $p = 0.877$) of methanol poisoning was present. Therefore, no association between the severity of acute methanol poisoning, visual loss, brain damage, and the prevalence of peripheral PNP in survivors during the follow-up period was found.

3.4. Determinants of negative dynamics of electromyographic findings during the follow-up period

In 8/55 (15 %) patients, worsening of electromyographic findings was registered during the follow-up period, including 5 cases with newly diagnosed peripheral PNP (not present during the first round of follow-up examinations) and 3 cases with the progression of PNP diagnosed before methanol intoxication. An improvement in electromyographic findings was registered during the follow-up period, after complete cessation of alcohol intake for more than two years, for only 1 subject of the 20 patients with PNP, as reported by the patients and confirmed by repeated CDT and liver tests. The demographic, laboratory, and clinical data of 8 patients with negative dynamics of EMG findings are presented in Table 2.

All eight patients in this subgroup were chronic alcohol abusers,

with hepatopathy and/or repeatedly detected high CDT. One of the patients had diabetes mellitus, with high serum glucose and glycohaemoglobin concentrations of 55.0 mmol/mol, suggesting insufficient therapy. Another patient had liver cirrhosis, macrocytic anaemia, and malnutrition with low serum prealbumin. Vitamin B₁ deficiency was also present in another case.

No patients in this subgroup had severe metabolic acidosis upon admission to the hospital with acute methanol poisoning (defined as having an arterial blood pH lower than 7.20). The serum concentration of methanol varied from very low (non-toxic) to very high, up to 4100.0 mg/L, and the serum ethanol concentration upon admission varied from negative to sufficiently protective (1410.0 mg/L), suggesting the absence of a dose–response association. Finally, only two of the eight patients had MR signs of methanol-induced brain damage, while six patients had no brain damage.

4. Discussion

At present, no information is available regarding the effect of acute methanol exposure on the peripheral nervous system. Here, we report the results of a longitudinal study that prospectively evaluated the six-year dynamics of electromyographic findings in a cohort of patients after a mass methanol poisoning outbreak; the prevalence of peripheral PNP; and its association with basic demographic, clinical, and laboratory parameters; the severity of poisoning; and long-term visual and CNS sequelae. Our study demonstrates the absence of a dose–response association between the severity of methanol poisoning, defined by the arterial blood pH, serum methanol and ethanol concentrations, and the prevalence of peripheral PNP, as well as the dynamics of electromyographic findings in the following years. Furthermore, we did not find any association between methanol-induced visual loss, MR signs of toxic brain damage, and the prevalence of peripheral PNP in the study population.

The patients with peripheral PNP were mostly elderly, with a history of chronic alcohol abuse continuing after discharge from the hospital, alcoholic hepatopathy, diabetes mellitus, hypothyroidism, and higher serum glucose and lower vitamin B₁ concentrations, suggesting new causative agents for the development and progression of PNP other than methanol. Newly diagnosed cases of PNP, as well as cases of PNP progression during the follow-up period, can be attributed to causes other than methanol, mainly a history of chronic alcohol abuse. A reversal of the pathologic electromyographic findings after several years of abstinence observed in one patient from the study population confirms this conclusion.

In acute methanol intoxications, mortality may exceed 30–40 %, and the issue of impact of neurological sequelae of poisoning on the quality of life of survivors may be considered “of secondary importance.” Nevertheless, a high prevalence of peripheral PNP in the population of methanol-exposed patients presents a challenge for health care providers. The frequency of alcoholic PNP reported in the literature varies from 12.5%–29.6% (Beghi and Monticelli, 1998; Wetterling et al., 1999). In our study, peripheral PNP was diagnosed in 36 % of the patients, or more than one third of the methanol-exposed population, while a diagnosis of peripheral PNP had been reported in medical records before methanol poisoning in only 11 % of the examined subjects. These high figures correspond to the prevalence of long-term visual sequelae of toxic optic neuropathy, which reaches up to 40 % of methanol poisoning survivors, and of toxic brain damage, with a prevalence of 30–50 % (Hlusicka et al., 2018, 2019a, 2019b; Urban et al., 2016; Zakharov et al., 2015b, Zakharov et al., 2020). Nevertheless, if the prevalence, character, and dynamics of neuroophthalmological findings, as well as the prevalence and character of toxic brain damage, in survivors of poisoning demonstrate a significant association with the severity of acidaemia and serum methanol and ethanol concentrations, or certain dose–response relation, no association was observed between these acute laboratory parameters and EMG findings in our study

Table 2
Demographic, laboratory, and clinical data of 8 patients with negative dynamics of electromyographic findings.

Patient	Age/ gender	Alcohol abuse	CDT, %	Diabetes	Glucose, mmol/L	Hepatopathy	Arterial blood pH	MetOH, mg/L	EtOH, mg/L	Brain damage
1	70/M	yes	5.78	yes	8.4	yes	7.24	980.0	ND	no
2	29/M	yes	16.43	no	4.4	yes	7.41	420.0	370.0	yes
3	52/F*	yes	ND	no	5.1	yes	7.20	5313.0	0.0	yes
4	55/M	yes	2.44	no	5.5	yes	7.41	360.0	1410.0	no
5	61/M	yes	15.62	no	4.3	no	7.28	2269.0	330.0	no
6	58/M	yes	1.55	no	4.8	yes	7.17	406.0	0.0	no
7	34/M	yes	1.36	no	5.1	yes	7.26	4100.0	0.0	no
8	54/M**	yes	4.00	no	5.0	no	7.45	85.0	260.0	no

Notes: CDT – carbohydrate-deficient transferrin; ND – not determined; * malnutrition with prealbumin 0.13 g/L, liver cirrhosis and macrocytic anaemia; **vitamin B₁ deficiency 28.6 ug/L; bold figures – the patients without polyneuropathy at the first round of the follow-up examinations.

(Nurieva et al., 2016, 2018, 2019; Zakharov et al., 2016c).

The severity of metabolic acidosis, characterised by the arterial blood pH at admission, is a known prognostic factor of the outcome of acute methanol poisoning (Hassanian-Moghaddam et al., 2007; Paasma et al., 2012; Zakharov et al., 2015c). Patients with higher serum methanol concentrations are typically more severely poisoned (Hassanian-Moghaddam et al., 2019; Hovda et al., 2004). A positive serum ethanol concentration at admission has a protective effect and is known as a prognostic factor of survival without health sequelae of poisoning (Zakharov et al., 2016a, 2016b). If acute methanol exposure has an independent effect on the peripheral nervous system, certain dose–response relations could occur with more severe acidaemia, higher serum methanol, and lower ethanol concentrations during admission in the group of patients with peripheral PNP, as well as in the patients with newly diagnosed or worsened PNP during the follow-up period. Nevertheless, in our study, we did not find an association between the acute parameters of poisoning and the electromyographic findings. The group of patients with peripheral PNP had relatively higher arterial blood pH values, lower serum methanol concentrations, and higher serum ethanol concentrations, suggesting a lower grade of poisoning. Finally, no association was found between the prevalence of peripheral PNP and long-term health sequelae of methanol poisoning, visual damage, and brain damage.

The only cohort study reporting new cases of peripheral PNP in 8/27 survivors of acute methanol poisoning six years after discharge was the study by Paasma et al. (2009). However, in this study, no electromyographic examinations were performed and the diagnosis was based on the neurological examinations; no toxicological and biochemical data were collected, and the impact of other conditions was not considered. Despite these limitations, the authors of the study stated that “the most likely reason (for new neurological impairment) was the continuous use of excess alcohol.” This conclusion is in line with our findings that previous and current chronic alcohol abuse, often in combination with hepatopathy, diabetes mellitus, hypothyroidism, malnutrition, and vitamin B₁ deficiency, leads to metabolic alterations and degeneration of the peripheral nerves (Vittadini et al., 2001).

The nutritional status of the patient, mainly vitamin B₁, vitamin B₁₂, and protein deficiency, is often reported as one of the key elements in the pathogenesis of alcoholic PNP (Charness et al., 1989; Victor, 1984). In our study, the group of patients with PNP had significantly lower mean serum vitamin B₁ concentrations than those without PNP; although, only 35 % of the patients in the PNP group had vitamin B₁ concentrations below 42.0 ug/L, and nobody had concentrations below 25.0 ug/L. Only one patient had a vitamin B₁₂ deficiency and three patients had low serum prealbumin concentrations, suggesting protein deficiency.

The patients with peripheral PNP were significantly older, with a mean age of 57 ± 5 years, compared to 43 ± 4 years in those without PNP. Therefore, there was a potentially longer history of chronic alcohol abuse in the group with PNP. The development of alcoholic PNP

typically requires ten or more years of excessive drinking, although the first subjective symptoms can occur after one to five years of excessive alcohol abuse (Vittadini et al., 2001). From the literature, it is known that cessation of drinking is a key factor for preventing the progression of alcoholic PNP, with complete reversal of mild to moderate forms after drinking stops (Savoldi, 1995). Therefore, our study confirms these observations. All patients with negative dynamics of electromyographic findings were current alcohol abusers, and the only patient with complete reversal of PNP stopped alcohol consumption for several years.

Acute pancreatitis is a common complication of severe methanol poisoning (Barceloux et al., 2002). There are case reports suggesting that methanol poisoning may be a trigger for diabetes mellitus (Mousavi et al., 2019). In our previously published study, diabetes mellitus as a co-morbidity was present in 12 % of methanol-poisoned population at admission to the hospital, and methanol poisoning may lead to exacerbation with high hyperglycaemia and diabetic ketoacidosis (Zakharov et al., 2020). Therefore, there is certain evidence suggesting that methanol can cause, or exacerbate, diabetes mellitus, and contribute by this way to the development of polyneuropathy via diabetes. Diabetic PNP is a frequent complication of diabetes mellitus (Galer et al., 2000). Up to 50 % of diabetics develop a neuropathy after 25 years of the disease (Pirart, 1977). In our study, 5/9 (56 %) patients with diabetes had peripheral PNP, and the serum glucose concentration in the group of patients with PNP was significantly higher than in the patients without PNP. In four of the patients, elevated glycohaemoglobin was detected, suggesting insufficient treatment. Therefore, better control of glycaemia in diabetic patients is an important measure for PNP prevention.

Our study has certain strengths and limitations. The strengths of the study include its prospective longitudinal design with a six-year follow-up and the four consecutive rounds of examinations, according to the same standardised clinical protocol in the same medical facility. The 55 survivors of acute methanol poisoning exposed over a relatively short time during one mass “epidemics” that were systematically examined at one medical centre represent a sufficient sample size for statistical analysis; but it is limited. A larger sample size might have provided more significant associations for separate variables and the electromyographic findings. The six-year follow-up period provided sufficient time to estimate the long-term dynamics of peripheral nervous system changes; therefore, we worked with complete and reliable information on the long-term impact of acute methanol poisoning on the peripheral nerves.

5. Conclusions

In conclusion, acute methanol poisoning is a severe medical condition with high mortality and morbidity, which may lead to long-term visual and CNS sequelae in survivors. Nevertheless, we did not find the association between acute methanol exposure and the prevalence and

dynamics of peripheral PNP. The high prevalence of peripheral PNP and its progression might be attributed to other causes, mainly a history of chronic alcohol abuse and diabetes mellitus.

Funding sources

This work was supported by Ministry of Health (grant number 16-27075A, AZV VES 2016), by 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague (projects PROGRES Q25 and Q29). The funding sources had no involvement in the conduct of the research and preparation of the article, in study design, in the collection, analysis and interpretation of data, in the writing of the report, and in the decision to submit the article for publication.

Declaration of Competing Interest

The authors report no conflict of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this paper. The manuscript has been read and approved by all authors. The authors certify that the submission is not under review at any other publication. The authors certify that the authors have no other submissions and previous reports that might be regarded as overlapping with the current work. The authors declare no financial disclosures.

References

Albers, J.W., Wald, J.J., Werner, R.A., Franzblau, A., Berent, S., 1999. Absence of polyneuropathy among workers previously diagnosed with solvent-induced toxic encephalopathy. *J. Occup. Environ. Med.* 41, 500–509.

Barceloux, D.G., Bond, G.R., Krenzelok, E.P., Cooper, H., Vale, J.A., 2002. American Academy of Clinical Toxicology practice guidelines on the treatment of methanol poisoning. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 40, 415–446.

Beghi, E., Monticelli, M.L., 1998. Chronic symmetric symptomatic polyneuropathy in the elderly: a field screening investigation of risk factors for polyneuropathy in two Italian communities. Italian General Practitioner Study Group (IGPST). *J. Clin. Epidemiol.* 51, 697–702.

Bezdicek, O., Klempir, J., Liskova, I., Michalec, J., Vaneckova, M., Seidl, Z., Janikova, B., Miovsky, M., Hubacek, J.A., Diblík, P., Kuthan, P., Pillin, A., Kurcova, I., Fenclova, Z., Petrik, V., Navratil, T., Pelcova, D., Ruzicka, E., Zakharov, S., 2014. Sequelae of methanol poisoning for cognition. *Cesk. Slov. Neurol. Neurochir.* 77/110, 320–325.

Bezdicek, O., Michalec, J., Vaneckova, M., Klempir, J., Liskova, I., Seidl, Z., Janikova, B., Miovsky, M., Hubacek, J.A., Diblík, P., Kuthan, P., Pillin, A., Kurcova, I., Fenclova, Z., Petrik, V., Navratil, T., Pelcova, D., Zakharov, S., Ruzicka, E., 2017. Cognitive sequelae of methanol poisoning involve executive dysfunction and memory impairment in cross-sectional and long-term perspective. *Alcohol* 59, 27–35.

Bucarechi, F., De Capitani, E.M., de Madureira, P.R., Cesconetto, D.M., Lanaro, R., Vieira, R.J., 2009. Suicide attempt using pure methanol with hospitalization of the patient soon after ingestion: case report. *Sao Paulo Med. J.* 127, 108–110.

Charness, M.E., Simon, R.P., Greenberg, D.A., 1989. Ethanol and the nervous system. *NEJM* 321, 442–454.

Chiò, A., Herrero Hernandez, E., Mora, G., Valentini, C., Discalzi, G., Pira, E., 2004. Motor neuron disease and optic neuropathy after acute exposure to a methanol-containing solvent mixture. *Amyotroph. Lateral Scler. Other Motor Neuron Disord.* 5, 188–191.

Choi, J.H., Lee, S.K., Gil, Y.E., Ryu, J., Jung-Choi, K., Kim, H., Choi, J.Y., Park, S.A., Lee, H.W., Yun, J.Y., 2017. Neurological complications resulting from non-oral occupational methanol poisoning. *J. Korean Med. Sci.* 32, 371–376.

Chung, J.Y., Ho, C.H., Chen, Y.C., Chen, J.H., Lin, H.J., Wang, J.J., Hsu, C.C., Huang, C.C., 2018. Association between acute methanol poisoning and subsequent mortality: a nationwide study in Taiwan. *BMC Public Health* 18, 985.

Drangsholt, E., Vangstad, M., Zakharov, S., Hovda, K.E., Jacobsen, D., 2018. The hypothesis of circulus hypoxicus and its clinical relevance in patients with methanol poisoning - an observational study of 35 patients. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 123 (6), 749–755.

Eells, J.T., Salzman, M.M., Lewandowski, M.F., Murray, T.G., 1996. Formate-induced alterations in retinal function in methanol-intoxicated rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 140, 58–69.

Galer, B.S., Ganas, A., Jensen, M.P., 2000. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 47, 123–128.

Galvez-Ruiz, A., Elkhamary, S.M., Asghar, N., Bosley, T.M., 2015. Visual and neurologic sequelae of methanol poisoning in Saudi Arabia. *Saudi Med. J.* 36, 568–574.

Guggenheim, M.A., Couch, J.R., Weinberg, W., 1971. Motor dysfunction as a permanent complication of methanol ingestion. *Arch. Neurol.* 24, 550–554.

Hageman, G., van der Hoek, J., van Hout, M., van der Laan, G., Steur, E.J., de Bruin, W., Herholz, K., 1999. Parkinsonism, pyramidal signs, polyneuropathy, and cognitive decline after long-term occupational solvent exposure. *J. Neurol.* 246, 198–206.

Hassanian-Moghaddam, H., Pajoumand, A., Dadgar, S.M., Shadnia, S.H., 2007. Prognostic factors in methanol poisoning. *Hum. Exp. Toxicol.* 26, 583–586.

Hassanian-Moghaddam, H., Zamani, N., Roberts, D.M., Brent, J., McMartin, K., Aaron, C., Eddleston, M., Dargan, P.I., Olson, K., Nelson, L., Bhalla, A., Hantson, P., Jacobsen, D., Megarbane, B., Balali-Mood, M., Buckley, N.A., Zakharov, S., Paasma, R., Jarwani, B., Mirafzal, A., Salek, T., Hovda, K.E., 2019. Consensus statements on the approach to patients in a methanol poisoning outbreak. *Clin. Toxicol.* 57, 1129–1136. <https://doi.org/10.1080/15563650.2019.1636992>.

Husicka, J., Loster, T., Lischkova, L., Vaneckova, M., Seidl, Z., Diblík, P., Kuthan, P., Urban, P., Navratil, T., Kacer, P., Zakharov, S., 2018. Role of activation of lipid peroxidation in the mechanisms of acute methanol poisoning. *Clin. Toxicol.* 56, 893–903.

Husicka, J., Loster, T., Lischkova, L., Vaneckova, M., Diblík, P., Urban, P., Navratil, T., Kacer, P., Kacerova, T., Zakharov, S., 2019a. Markers of nucleic acids and proteins oxidative damage in acute methanol poisoning. *Monatsh. Chem.* 150, 477–487.

Husicka, J., Loster, T., Lischkova, L., Vaneckova, M., Diblík, P., Urban, P., Navratil, T., Kacer, P., Kacerova, T., Zakharov, S., 2019b. Reactive carbonyl compounds, carbonyl stress and neuroinflammation in methyl alcohol intoxication. *Monatsh. Chem.* 150, 1723–1730.

Hovda, K.E., Hunderi, O.H., Rudberg, N., Froyshov, S., Jacobsen, D., 2004. Anion and osmolar gaps in the diagnosis of methanol poisoning: clinical study in 28 patients. *Intensive Care Med.* 30, 1842–1846.

Hovda, K.E., Hunderi, O.H., Tafjord, A.B., Dunlop, O., Rudberg, N., Jacobsen, D., 2005. Methanol outbreak in Norway 2002–2004: epidemiology, clinical features and prognostic signs. *J. Intern. Med.* 258, 181–190.

Jarwani, B.S., Motiani, P., Divetia, R., Thakkar, G., 2012. Rare combination of bilateral putaminal necrosis, optic neuritis and polyneuropathy in a case of acute methanol intoxication among patients met with hooch tragedy in Gujarat, India. *J. Emerg. Trauma Shock* 5, 356–359.

Kang, C.W., Kim, H., Shin, K., Ryu, J., Jung-Choi, K., Lim, K.H., Kim, J.H., 2018. Toxic effects of methanol among illegally dispatched workers at aluminum CNC cutting process in small-scale, third-tier subcontractor factories of smartphone manufacturers in the Republic of Korea. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15 pii: E1332.

Kraut, J.A., Mullins, M.E., 2018. Toxic alcohols. *N. Engl. J. Med.* 378, 270–280.

Liesivuori, J., Savolainen, H., 1991. Methanol and formic acid toxicity: biochemical mechanisms. *Pharmacol. Toxicol.* 69, 157–163.

Ma, Z., Jiang, H., Wang, J., 2019. Clinical analysis of severe visual loss caused by in-hospital methanol poisoning in a chronic process with acute onset: a retrospective clinical analysis. *BMC Ophthalmol.* 19, 124.

Mana, J., Vaneckova, M., Klempir, J., Liskova, I., Brozova, H., Polakova, K., Seidl, Z., Miovsky, M., Pelcova, D., Bukacova, K., Marechal, B., Kober, T., Zakharov, S., Ruzicka, E., Bezdicek, O., 2019. Methanol poisoning as an acute toxicological basal ganglia lesion model: evidence from brain volumetry and cognition. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 43, 1486–1497.

McMartin, K., Jacobsen, D., Hovda, K.E., 2016. Antidotes for poisoning by alcohols that form toxic metabolites. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 81, 505–515.

Moral, A.R., Çankayalı, I., Sergin, D., Boyacılar, O., 2015. Neuromuscular functions on experimental acute methanol intoxication. *Türk. J. Anaesthesiol. Reanim.* 43, 337–343.

Mousavi, S.R., Dadpour, B., Moshiri, M., Toktam, M., Khosrojerdi, H., Najari, F., 2019. Methanol poisoning as a trigger for the presentation of diabetes mellitus: a case report. *Int. J. Med. Toxicol. Forens. Med.* 9, 151–154. <https://doi.org/10.32598/ijmtfm.v9i3.25085>.

Nurieva, O., Kotikova, K., Urban, P., Pelcova, D., Petrik, V., Navratil, T., Zakharov, S., 2016. Prevalence, dynamics, and biochemical predictors of optic nerve remyelination after methanol-induced acute optic neuropathy: a two-year prospective study in 54 patients. *Monatsh. Chem.* 147, 239–249.

Nurieva, O., Diblík, P., Kuthan, P., Sklenka, P., Meliska, M., Bydzovsky, J., Heissigerova, J., Urban, P., Kotikova, K., Navratil, T., Komarc, M., Seidl, Z., Vaneckova, M., Pelcova, D., Zakharov, S., 2018. Progressive chronic retinal axonal loss following acute methanol-induced optic neuropathy: four-year prospective cohort study. *Am. J. Ophthalm.* 91, 100–115.

Nurieva, O., Hubacek, J.A., Urban, P., Husicka, J., Diblík, P., Kuthan, P., Sklenka, P., Meliska, M., Bydzovsky, J., Heissigerova, J., Kotikova, K., Navratil, T., Komarc, M., Seidl, Z., Vaneckova, M., Vojtova, L., Zakharov, S., 2019. Clinical and genetic determinants of chronic visual pathway changes after methanol-induced optic neuropathy: four-year follow-up study. *Clin. Toxicol.* 57, 387–397.

Paasma, R., Hovda, K.E., Tikkerber, A., Jacobsen, D., 2007. Methanol mass poisoning in Estonia: outbreak in 154 patients. *Clin. Toxicol.* 45, 152–157.

Paasma, R., Hovda, K.E., Jacobsen, D., 2009. Methanol poisoning and long-term sequelae - a six years follow-up after a large methanol outbreak. *BMC Clin. Pharmacol.* 9, 5. <https://doi.org/10.1186/1472-6904-9-5>.

Paasma, R., Hovda, K.E., Hassanian-Moghaddam, H., Brahmil, N., Afshari, R., Sandvik, L., Jacobsen, D., 2012. Risk factors related to poor outcome after methanol poisoning and the relation between outcome and antidotes - a multicenter study. *Clin. Toxicol.* 50, 823–831.

Peterova, K., Brozova, H., Klempir, J., Liskova, I., Bezdicek, O., Ridzon, P., Vaneckova, M., Zakharov, S., Pelcova, D., Miovsky, M., Ruzicka, E., 2018. Gait and balance impairment after acute methanol poisoning. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 122, 176–182.

Pirart, J., 1977. Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4400 patients observed between 1947 and 1973. *Diabete Metab.* 3, 245–256.

Quartarone, A., Girlanda, P., Vita, G., Battaglia, F., Majorana, G., Monici, M., Messina, C., 2000. Oromandibular dystonia in a patient with bilateral putaminal necrosis after methanol poisoning: an electrophysiological study. *Eur. Neurol.* 44, 127–128.

Reddy, N.J., Sudini, M., Lewis, L.D., 2010. Delayed neurological sequelae from ethylene glycol, diethylene glycol and methanol poisonings. *Clin. Toxicol.* 48, 967–973.

Rostrup, M., Edwards, J.K., Abukalish, M., Ezzabi, M., Some, D., Ritter, H., Menge, T.,

- Abdelrahman, A., Rootwelt, R., Janssens, B., Lind, K., Paasma, R., Hovda, K.E., 2016. The methanol poisoning outbreaks in Libya 2013 and Kenya 2014. *PLoS One* 11, e0152676.
- Rulisek, J., Balik, M., Polak, F., Waldauf, P., Pelcova, D., Belohlavek, J., Zakharov, S., 2017. Cost-effectiveness of hospital treatment and outcomes of acute methanol poisoning during the Czech Republic mass poisoning outbreak. *J. Crit. Care* 39, 190–198.
- Rulisek, J., Waldauf, P., Belohlavek, J., Balik, M., Kotikova, K., Hlusicka, J., Vaneckova, M., Seidl, Z., Diblík, P., Bydzovsky, J., Heissigerova, J., Urban, P., Miovsky, M., Sejvl, J., Pelcova, D., Zakharov, S., 2020. Health-related quality of life determinants in survivors of mass methanol poisoning outbreak: six-year prospective cohort study. *Clin. Toxicol.* <https://doi.org/10.1080/15563650.2019.1702994>.
- Savoldi, F., 1995. Polineuropatie. In: In: Ceroni, M., Camana, C., Franciotta, D.M., Giardini, G., Farilla, C., Soffiantini, F. (Eds.), *Lezioni di Neurologia Vol. 1*. CUSL, Pavia, pp. 119–139.
- Sejvl, J., Barták, M., Gavurová, B., Mašlániová, M., Petruželka, B., Rogalewicz, V., Zakharov, S., Miovský, M., 2019. Public health response to methanol mass poisoning in the Czech Republic in 2012: a case study. *Cent. Eur. J. Public Health* 27 (Suppl), 29–39. <https://doi.org/10.21101/cejpha5764>.
- Tanner, C.M., 1992. Occupational and environmental causes of parkinsonism. *Occup. Med.* 7, 503–513.
- Treichel, J.L., Murray, T.G., Lewandowski, M.F., Stueven, H.A., Eells, J.T., Burke, J.M., 2004. Retinal toxicity in methanol poisoning. *Retina* 24, 309–312.
- Urban, P., Zakharov, S., Diblík, P., Pelcova, D., Ridzoň, P., 2016. Visual evoked potentials in patients after methanol poisoning. *Intern. J. Occup. Med. Environ. Health* 2016 (29), 471–478.
- Vaneckova, M., Zakharov, S., Klempir, J., Ruzicka, E., Bezdicek, O., Liskova, I., Diblík, P., Miovsky, M., Hubacek, J.A., Urban, P., Ridzon, P., Pelcova, D., Burgetova, A., Masek, M., Seidl, Z., 2014. Methanol intoxication on magnetic resonance imaging – case reports. *Cesk. Slov. Neurol. N.* 77, 235–239.
- Vaneckova, M., Zakharov, S., Klempir, J., Ruzicka, E., Bezdicek, O., Brozova, H., Diblík, P., Miovsky, M., Hubacek, J.A., Urban, P., Ridzon, P., Pelcova, D., Burgetova, A., Masek, M., Kotikova, K., Peterova, K., Liskova, I., Hamplova, L., Seidl, Z., 2015. Imaging findings after methanol intoxication (cohort of 46 patients). *Neuro Endocrinol. Lett.* 36, 737–744.
- Victor, M., 1984. Polyneuropathy due to nutritional deficiency and alcoholism. In: Dick, P.J., Thomas, P.K., Lambert, E.H., Bunge, R.P. (Eds.), *Peripheral Neuropathy*. WB Saunders, Philadelphia pp. 1899.
- Vittadini, G., Buonocore, M., Colli, G., Terzi, M., Fonte, R., Biscaldi, G., 2001. Alcoholic polyneuropathy: a clinical and epidemiological study. *Alcohol Alcohol.* 36, 393–400.
- Wetterling, T., Veltrup, C., Driessen, M., John, U., 1999. Drinking pattern and alcohol-related medical disorders. *Alcohol Alcohol.* 34, 330–336.
- Zakharov, S., Navratil, T., Pelcova, D., 2013a. Non-fatal suicidal self-poisonings in children and adolescents over a 5-year period (2007–2011). *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 112, 425–430.
- Zakharov, S., Navratil, T., Pelcova, D., 2013b. Suicide attempts by deliberate self-poisoning in children and adolescents. *Psych. Res.* 210, 302–307.
- Zakharov, S., Pelcova, D., Urban, P., Navratil, T., Diblík, P., Kuthan, P., Hubacek, J.A., Miovsky, M., Klempir, J., Vaneckova, M., Seidl, Z., Pllin, A., Fenclova, Z., Petrik, V., Kotikova, K., Nurieva, O., Ridzon, P., Rulisek, J., Komarc, M., Hovda, K.E., 2014a. Czech mass methanol outbreak 2012: epidemiology, challenges and clinical features. *Clin. Toxicol.* 52, 1013–1024.
- Zakharov, S., Pelcova, D., Navratil, T., Belacek, J., Kurcova, I., Komzak, O., Salek, T., Latta, J., Turek, R., Bocek, R., Kucera, C., Hubacek, J.A., Fenclova, Z., Petrik, V., Cermak, M., Hovda, K.E., 2014b. Intermittent hemodialysis is superior to continuous veno-venous hemodialysis / hemodiafiltration to eliminate methanol and formate during treatment for methanol poisoning. *Kidney Int.* 86, 199–207.
- Zakharov, S., Nurieva, O., Navratil, T., Diblík, P., Kuthan, P., Pelcova, D., 2014c. Acute methanol poisonings: folates administration and visual sequelae. *J. Appl. Biomed.* 12, 309–316.
- Zakharov, S., Pelcova, D., Navratil, T., Belacek, J., Komarc, M., Eddleston, M., Hovda, K.E., 2015a. Fomepizole versus ethanol in the treatment of acute methanol poisoning: comparison of clinical effectiveness in a mass poisoning outbreak. *Clin. Toxicol.* 53, 797–806.
- Zakharov, S., Pelcova, D., Urban, P., Navratil, T., Diblík, P., Kuthan, P., Nurieva, O., Kotikova, K., Navratil, T., Komarc, M., Belacek, J., Seidl, Z., Vaneckova, M., Hubacek, J.A., Bezdicek, O., Klempir, J., Yurchenko, M., Ruzicka, E., Miovsky, M., Janikova, B., Hovda, K.E., 2015b. Long-term visual damage after acute methanol poisonings: longitudinal cross-sectional study in 50 patients. *Clin. Toxicol.* 53, 884–892.
- Zakharov, S., Navratil, T., Pelcova, D., 2015c. Analysis of serum anion gap and osmolal gap in diagnosis and prognosis of acute methanol poisoning: clinical study in 86 patients. *Monatsh. Chem.* 146, 787–794.
- Zakharov, S., Kurcova, I., Navratil, T., Salek, T., Komarc, M., Pelcova, D., 2015d. Is the measurement of serum formate concentration useful in the diagnostics of acute methanol poisoning? A prospective study of 38 patients. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 116, 445–451.
- Zakharov, S., Pelcova, D., Urban, P., Navratil, T., Nurieva, O., Kotikova, K., Diblík, P., Kurcova, I., Belacek, J., Komarc, M., Eddleston, M., Hovda, K.E., 2016a. Use of out-of-hospital ethanol administration to improve outcome in mass methanol outbreaks. *Ann. Emerg. Med.* 68, 52–61.
- Zakharov, S., Nurieva, O., Kotikova, K., Urban, P., Navratil, T., Pelcova, D., 2016b. Factors predicting optic nerve axonal degeneration after methanol-induced acute optic neuropathy: a two-year prospective study in 54 patients. *Monatsh. Chem.* 147, 251–261.
- Zakharov, S., Kotikova, K., Vaneckova, M., Seidl, Z., Nurieva, O., Navratil, T., Caganova, B., Pelcova, D., 2016c. Acute methanol poisoning: prevalence and predisposing factors of haemorrhagic and non-haemorrhagic brain lesions. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 119, 228–238.
- Zakharov, S., Kotikova, K., Nurieva, O., Hlusicka, J., Kacer, P., Urban, P., Vaneckova, M., Seidl, Z., Diblík, P., Kuthan, P., Navratil, T., Pelcova, D., 2017a. Leukotriene-mediated neuroinflammation, toxic brain damage, and neurodegeneration in acute methanol poisoning. *Clin. Toxicol.* 55, 249–259.
- Zakharov, S., Nurieva, O., Kotikova, K., Belacek, J., Navratil, T., Pelcova, D., 2017b. Positive serum ethanol concentration on admission to hospital as the factor predictive of treatment outcome in acute methanol poisoning. *Monatsh. Chem.* 148, 409–419.
- Zakharov, S., Pelcova, D., Navratil, T., Belacek, J., Latta, J., Pisar, M., Rulisek, J., Leps, J., Zidek, P., Kucera, C., Bocek, R., Mazur, M., Belik, Z., Chalupa, J., Talafa, V., Kodras, K., Nalos, D., Sedlak, C., Senkyrik, M., Smid, J., Salek, T., Roberts, D.M., Hovda, K.E., 2017c. Efficiency of acidemia correction on intermittent versus continuous hemodialysis in acute methanol poisoning. *Clin. Toxicol.* 55, 123–132.
- Zakharov, S., Rulisek, J., Nurieva, O., Kotikova, K., Navratil, T., Komarc, M., Pelcova, D., Hovda, K.E., 2017d. Intermittent versus continuous renal replacement therapy in acute methanol poisoning: comparison of clinical effectiveness in mass poisoning outbreaks. *Ann. Intensive Care* 7, 77.
- Zakharov, S., Hlusicka, J., Nurieva, O., Kotikova, K., Lischkova, L., Kacer, P., Kacerova, T., Urban, P., Vaneckova, M., Seidl, Z., Diblík, P., Kuthan, P., Heissigerova, J., Lesovsky, J., Rulisek, J., Vojtova, L., Hubacek, J.A., Navratil, T., 2018. Neuroinflammation markers and methyl alcohol induced toxic brain damage. *Toxicol. Lett.* 298, 60–69.
- Zakharov, S., Rulisek, J., Hlusicka, J., Kotikova, K., Navratil, T., Komarc, M., Vaneckova, M., Seidl, Z., Diblík, P., Bydzovsky, J., Heissigerova, J., Zogala, D., Hubacek, J.A., Miovsky, M., Sejvl, J., Vojtova, L., Pelcova, D., 2020. The impact of co-morbidities on a 6-year survival after methanol mass poisoning outbreak: possible role of metabolic formaldehyde. *Clin. Toxicol.* 58, 241–253. <https://doi.org/10.1080/15563650.2019.1637525>.