

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK / REVIEW ARTICLE

SIRNÝ YPERIT: PŘETRVÁVAJÍCÍ HROZBA SULFUR MUSTARD: PERSISTING THREAT

Petr Jošt, Ľubica Múčková, Rudolf Štětina, Jaroslav Pejchal ✉

Katedra toxikologie a vojenské farmacie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Česká republika

Přijato 5. dubna 2018.

Zrevidováno 15. května 2018.

Zveřejněno 7. září 2018.

Souhrn

Tento přehledový článek poskytuje informace o zpuchýřujících bojových chemických látkách. Hlavní pozornost je věnována sirnému yperitu. Článek shrnuje historii této chemické látky od jejího objevu až po současnost, dále fyzikálně-chemické vlastnosti, toxikokinetiku a klinický obraz akutní intoxikace. Probírány jsou i pozdní následky otravy. Laboratorní diagnostika expozice sirnému yperitu je otázkou, na kterou je aktuálně upřena celosvětová pozornost mnoha výzkumných skupin. Současné terapeutické přístupy doporučené organizací NATO jsou zaměřeny na rychlou dekontaminaci a symptomatickou léčbu. Přes všechny snahy nebylo do dnešní doby nalezeno účinné a použitelné antidotum, které by zabránilo devastujícím následkům expozice. Efektivní ochrana před sirným yperitem tak nadále spočívá v zamezení kontaktu s organismem.

Klíčová slova: sirný yperit; bis(2-chlorethyl)sulfid; toxicita; toxikokinetika; intoxikace; laboratorní diagnostika; terapie

Summary

This review provides information about blistering chemical warfare agents. The main focus lies on the sulfur mustard. The article summarizes the history of this agent from its discovery to the present, physicochemical properties, toxicokinetics, and the clinical picture of acute intoxication. Late effects of poisoning are discussed as well. The laboratory diagnosis of sulfur mustard exposure is an issue that is currently being investigated by many research groups worldwide. Current therapeutic approaches recommended by NATO are aimed at rapid decontamination and symptomatic treatment. In spite of all efforts, no potent and usable antidote has been found to prevent the devastating outcomes of the exposure. Therefore, efficient protection against sulfur mustard still consists in preventing the contact with organism.

Key words: sulfur mustard; bis(2-chloroethyl)sulfide; toxicity; toxicokinetics; intoxication; laboratory detection; therapy

Authors contributions

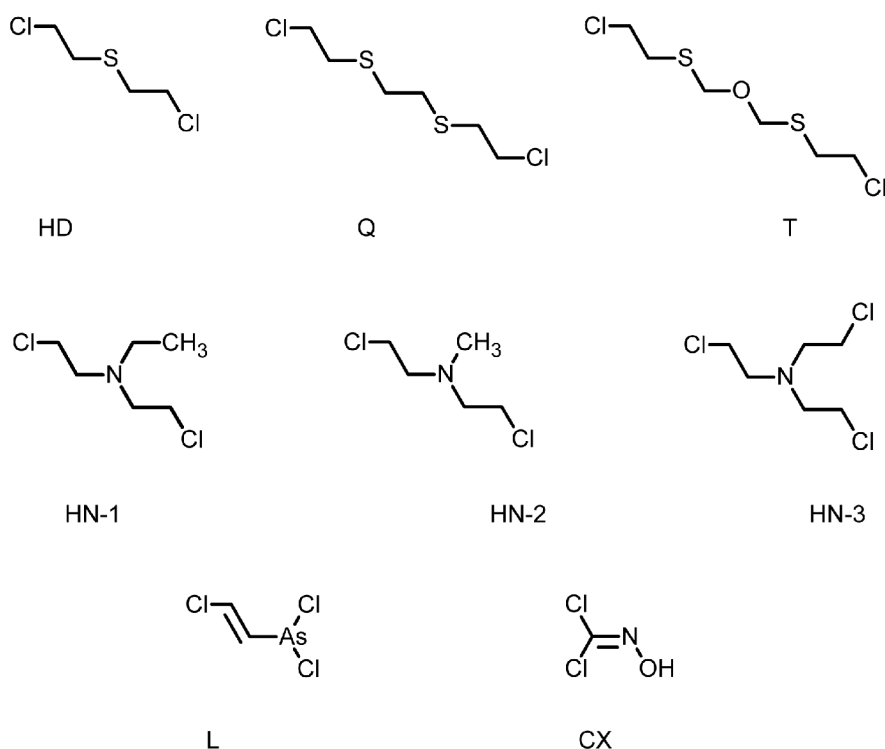
Petr Jošt – rešerše literatury, sepsání rukopisu
Rudolf Štětina – korekce textu

Ľubica Múčková – rešerše literatury, korekce textu
Jaroslav Pejchal – korekce textu

Zpuchýřující bojové chemické látky

Zpuchýřující bojové chemické látky tvoří, společně s nervově paralytickými látkami (NPL), nejvýznamnější skupinu vysoce toxických chemických látek. Z historického hlediska patří tato skupina mezi nejničivější bojové chemické látky použité během první světové války. Zákeřnost jejich použití byla, mimo jiné, i v neočekávanosti a nepřipravenosti na možný chemický útok, ke kterému byl do té doby často používán chlór nebo fosgen. Použití sirného yperitu mělo za následek mnoho vážných poranění s často fatálními následky. Tyto okolnosti vedly nejen k vývoji ochranných prostředků, ale také k výzkumu dalších chemických látek použitelných jako zbraně hromadného ničení (1, 2).

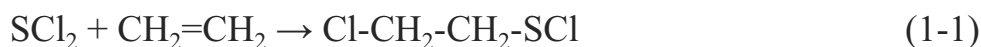
Nejvýznamnější látkou z této skupiny je sirný yperit [bis(2-chlorethyl)sulfid; HD], dále pak jeho deriváty: seskviyperit [1,2-bis(2-chlorethylthio)ethan; Q], oxolový yperit [bis(2-chlorethylthioethyl)ether; T], skupina dusíkatých yperitů: HN-1, bis(2-chloroethyl)ethylamin; HN-2, 2,2'-dichloro-N-methyldiethylamin a HN-3, tris(2-chlorethyl)amin. Dalšími zástupci této kategorie jsou lewisit [L, 2-chlorethyldichlorarsen] a fosgenoxim [CX] (1, 3). Strukturní vzorce zmíněných látek jsou vedeny na obrázku č. 1.



Obrázek č. 1. Strukturní vzorce zpuchýřujících bojových látek. Upraveno dle (1, 3).

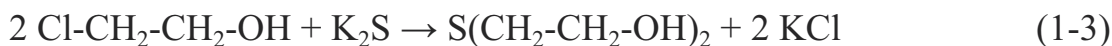
Sirný yperit – od historie k současnosti

Dle chemické struktury patří sirný yperit do skupiny thioetherů. První syntézu provedl César-Mansuète Despretz v roce 1822 při studiu interakcí mezi halogenidy síry a alkeny. Jako výchozí látky použil ethen a chlorid sirnatý (1-1, 1-2):



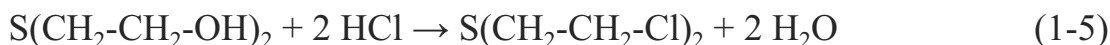
Pomineme-li vlastní syntézu, znalosti o účincích sirného yperitu byly v té době velmi nízké. Žádná zmínka o iritačních vlastnostech produktu nebyla uvedena, což pravděpodobně souvisí i s nízkou čistotou získávaného produktu (4). V roce 1854 byla Despretzova syntéza zopakována francouzským chemikem Alfredem Richem, avšak ani on nezaznamenal jakýkoliv projev toxicity. První negativní účinky produktu syntézy na lidské zdraví pozoroval až britský vědec Frederick Guthrie v roce 1860. Guthrie popsal pocit svědění a pálení kůže po expozici parám produktu, zvláště pak mezi prsty na rukou a kolem očí, které se objevily několik hodin po kontaktu. Pokud byla kapalina ponechána ve styku s kůží delší dobu, vznikly puchýře. V témže roce publikoval německý chemik Albert Niemann podobný popis následků expozice. Ten při experimentech s ethenem a chloridem sirným zjistil, že produkt reakce má zpuchýřující a dráždivé účinky při kontaktu s kůží, které se objevují se zpožděním. O rok později tento vědec zemřel na hnisavé onemocnění plic, patrně v souvislosti s chronickou expozicí parám sirného yperitu (4, 5).

V roce 1886 Viktor Meyer publikoval práci popisující dvojstupňovou syntézu sirného yperitu s dobrým výtěžkem. V prvním kroku reaguje 2-chlorethanol se sulfidem draselným za vzniku 2-(2-hydroxyethylsulfanyl)ethanolu (1-3), který je v druhém kroku podroben reakci s chloridem fosforitým (1-4):



Čistota produktu byla o mnoho vyšší, což mělo zřejmě souvislost s vyšší incidencí poškození zdraví jeho spolupracovníků (6).

V roce 1913 anglický chemik Hans Thacher Clarke při syntéze nahradil chlorid fosforitý chlorovodíkem v původní Mayerově reakci (1-4). Tento nový postup reakce 2-(2-hydroxyethylsulfanyl)ethanolu s chlorovodíkem za vzniku bis(2-chlorethyl)sulfidu a vody, byl nazván Meyer-Clarkeho reakce (1-5):



Ani tyto experimenty se neobešly bez následků. Při nehodě v laboratoři, kdy došlo k rozbití baňky s produktem, byl Clarke dva měsíce hospitalizován s těžkými „popáleninami“. Zpráva o incidentu byla podána Německé chemické společnosti. Událost podnítila zvýšený zájem o možnost využití toxických látek jako chemických zbraní. Po úspěšném chemickém útoku chlórem německé armády proti vojskům Francie, Kanady a Británie byly stupňovány snahy o vyvinutí účinnějších látek (4, 7).

Na návrh Wilhelma Lommela a Georga Wilhelma Steinkopfa byla v německých chemických továrnách Bayer AG a BASF (později součásti koncernu I. G. Farben) vyvinuta průmyslová výroba sirného yperitu využitím Meyer-Clarkeho reakce (1-5). Pro zvýšení čistoty, stability a snížení korozivních vlastností byl sirný yperit ze směsi extrahován nebo destilován. Byla rovněž zvládnuta technologie výroby chemické munice plněné yperitem (letecké bomby, rakety, miny) a postřikovacího zařízení na tvorbu aerosolu. Ke konci války dosahovala produkce až 1 000 tun měsíčně.

Dne 12. července 1917 byl poprvé proveden chemický útok yperitem německou armádou u belgického města Ypres, ležícího v blízkosti severovýchodních francouzských hranic. Během 10 dnů zde bylo použito více jak jeden milion granátů naplněných sirným yperitem. Je odhadováno, že během první světové války bylo zasaženo bojovými chemickými látkami přes 1,2 milionů vojáků (8).

Do této doby se pro sirný yperit používalo pojmenování „Lost“ dle počátečních dvou písmen jmen německých chemiků Lommela a Steinkopfa. Chemická munice plněná sirným yperitem byla značena žlutým křížem. Název „yperit“ se začal používat od prvního útoku u Ypres. Dle typického hořčicového zápachu je také v anglofonní literatuře dodnes nazýván „mustard gas“ nebo také „sulfur mustard“ (2).

Po první světové válce bylo zaznamenáno použití sirného yperitu v několika dalších konfliktech, například Španělska proti Maroku během války o marocké pohoří Rif (1920 až 1926), Itálie proti Etiopii (1935 až 1936), Japonsko použilo sirný yperit při invazi do Číny (1937 až 1945), Egypt při civilní válce v Jemenu (1963 až 1967). Irák použil sirný yperit a nervově paralytické látky při iránsko-iráckém konfliktu (1983 až 1988) a dále proti kurdským bojovníkům v letech 1987 až 1988 (6).

I přes snahy eliminace hrozby chemických zbraní mezinárodní smlouvou „Úmluva o zákazu vývoje, výroby, hromadění zásob a použití chemických zbraní a jejich zničení“ je pro současný svět vysokým rizikem zneužití sirného yperitu teroristickými organizacemi a extremistickými skupinami. V nedávné době bylo zaznamenáno použití sirného yperitu během občanské války v Sýrii při třech incidentech během let 2014 až 2015 (9).

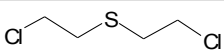
Nezanedbatelným nebezpečím pro civilní obyvatelstvo i životní prostředí je také možný únik sirného yperitu a dalších bojových chemických látek z nepoužité munice, která byla na koci světové války likvidována svržením na mořské dno. Množství chemické munice potopené na dno Baltského moře je odhadováno na stovky tisíc tun (10, 11).

Kromě bojového použití sirného yperitu bylo zaznamenáno a popsáno i několik náhodných expozic, ke kterým došlo při jeho likvidaci nebo při nehodách v laboratoři. Oproti hromadné expozici, se tyto případy liší nízkým počtem zasažených a snazší dostupností odborné lékařské péče. Ovšem i zde může být problémem v ojedinělosti těchto případů a v nedostatku informací o způsobu vedení terapie. Na druhou stranu jsou takové kazuistiky cenným přínosem a unikátní příležitostí nejen pro lékařský výzkum, ale i pro toxikologické studie zabývající se například detekcí nebo sledováním toxikokinetiky sirného yperitu a jeho metabolitů v lidském organismu (12, 13).

Fyzikálně-chemické vlastnosti

Sirný yperit je v čistém stavu stabilní látka, a to jak při skladování v hliníkových nádobách, tak i z pohledu persistence v terénu. V závislosti na klimatických podmínkách dokáže kontaminovat půdu po dobu několika dní, při chladném počasí až několik týdnů. Za horkého počasí dochází k prohřátí kontaminovaného terénu, odpaření kapalně fáze a zvýšenému riziku inhalační expozice. Páry sirného yperitu jsou přibližně 5krát těžší než vzduch. Přeměna na tuhé skupenství nastává již při 14,5 °C. Další fyzikálně-chemické vlastnosti jsou shrnuty v tabulce 1.

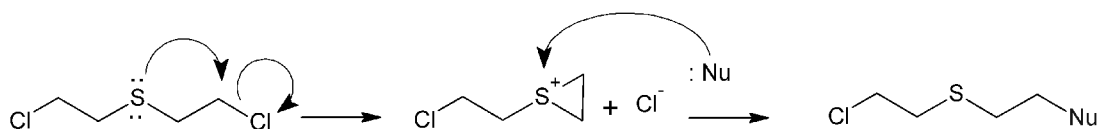
Tabulka č. 1. Vybrané fyzikálně-chemické vlastnosti destilovaného sirného yperitu. Upraveno dle (8,15).

sumární vzorec	$C_4H_8Cl_2S$
strukturní vzorec	
molekulová hmotnost	159,08 g.mol ⁻¹
skupenství	bezbarvá olejovitá kapalina (20 °C)
bod tuhnutí	14,5 °C
bod varu	215 až 217 °C
specifická hustota	1,27 g.cm ⁻³ (20 °C)
rozpustnost	voda: 92 mg/100 g vody (22 °C) organická rozpouštědla: neomezeně
hydrolýza	$\tau_{1/2}$ = 8,5 minut, destilovaná voda (25 °C) $\tau_{1/2}$ = 60 minut, mořská voda (25 °C)
tlak nasycených par	96,1 Pa (20 °C)
Těkavost	610 mg.m ⁻³
Zápach	spálená guma, hořčice, česnek, křen

Jelikož vysoký bod tuhnutí omezuje použití sirného yperitu za nízkých teplot, byla vyvinuta směs yperitu a některé z přísad jako je například oxolový yperit (bod tuhnutí až -30 °C) nebo lewisit (bod tuhnutí -12 °C).

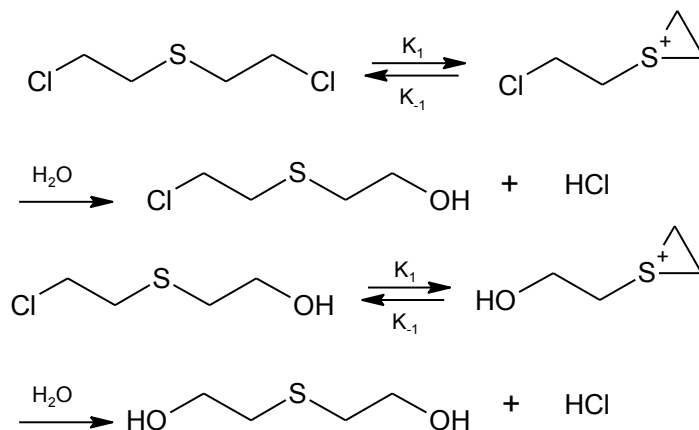
Přidáním nitrobenzenu bylo docíleno nejen snížení bodu tuhnutí, ale i překrytí charakteristického zápachu. Dále pak byly používány další příměsi jako tetrachlormethan, chlorpikrin nebo chlorbenzen, které upravovaly další vlastnosti jako například viskozita, přilnavost k oděvu, zvýšení těkavosti nebo dráždivé účinky (1, 2, 6).

Molekula sirného yperitu je dihaloalkan a zároveň thioether. Má symetrickou strukturu a jeho chemické vlastnosti a reaktivitu určují dva postranní haloalkylové řetězce a centrální atom síry s dvěma volnými elektronovými páry. Kovalentní vazba mezi atomem uhlíku a chlóru vykazuje v rámci molekuly nejvyšší polaritu. Ta uděluje atomům chlóru v chlormethylové skupině vysokou reaktivitu. Na rozštěpení vazby C-Cl se také významně podílí atom síry. Při reakci s nukleofilem (například s vodou) vzniká 1-(2-chlorethyl)thiiranium chlorid. Tato molekula je nestabilní a vysoce reaktivní, protože struktura thiiraniového kationtu vykazuje silné vnitřní pnutí (obrázek č. 2.). Při následné reakci proběhne otevření trojčlenného heterocyklu a reakce s nukleofilem. Reakce probíhá mechanismem nukleofilní substituce prvního řádu $S_N1(14)$.



Obrázek č. 2. Iniciační reakce sirného yperitu v polárním prostředí

Rozpustnost sirného yperitu ve vodě je velmi nízká. Pokud je však rozpuštěn v polárním organickém rozpouštědle (ethanol, dimethylketon, dimethylsulfoxid, atd.), podléhá ve vodném prostředí hydrolyze (obrázek č. 3). Proces probíhá ve čtyřech krocích dle reakční kinetiky prvního řádu (6). První reakce začíná intramolekulární cyklizací 2-chlorethylenového řetězce za současného odštěpení chloridového aniontu a vzniku 1-(2-chlorethyl)thiiranium chloridu na jedné straně molekuly. Následuje rychlá substituční reakce s vodou za vzniku 2-(2-chlorethylsulfanyl)ethanolu a HCl. Dále pak obě reakce probíhají znovu na druhém 2-chlorethylovém řetězci. Výsledným produktem hydrolyzy sirného yperitu je 2-(2-hydroxyethylsulfanyl)ethanol neboli thiodiglykol (6, 15).



Obrázek č. 3. Hydrolyza sirného yperitu ve vodném prostředí. Upraveno dle (15).

Kromě thiodiglykolu byly nalezeny i další minoritní produkty hydrolyzy, jako jsou bis(2-hydroxyethylthio)methan, 1,2-bis(2-hydroxyethylthio)ethan, 1,3-bis(2-hydroxyethylthio)propan a 1,4-bis(2-hydroxyethylthio)butan (16).

Toxicita samotného thiodiglykolu je velmi nízká. Reddy a kol. (2005) udává hodnotu LD_{50} pro potkana $>500 \text{ mg.kg}^{-1}$ při perorálním podání. V dalších testech na zvířecím modelu byly nalezeny pouze mírné projevy kožní dráždivosti a střední stupeň oční dráždivosti. Mutagenní účinky zjištěny nebyly (17).

Toxikokinetika

Sirný yperit je lipofilní kapalina a snadno penetruje skrz epitelální tkáň. Významnou branou vstupu při absorpci plynné i kapalně formy je kůže. Při expozici kapalnou fází se z povrchu kůže odpaří 80 až 90 % původního množství. Zbývající část, přibližně 10 až 20 %, penetruje skrz kůži. Z tohoto množství je 10 až 20 % vyvázáno ve strukturách kůže, zbylá část (80 až 90 %) rychle vstupuje krevním řečištěm do celého organismu (18).

Ve farmakokinetické studii s radioizotopicky značeným sirným yperitem pomocí uhlíku ^{14}C , byl zjištěn distribuční poločas sirného yperitu $t_{1/2} = 5,56$ minut a eliminační poločas $t_{1/2} = 3,59$ hodin. Parametry byly stanoveny po intravenózním podání sirného yperitu laboratornímu potkanovi (10 mg.kg^{-1}), na základě dvoukompartimentového farmakokinetického modelu. Hodnota distribučního objemu v ustáleném stavu byla 74,4 litrů. Vysoká hodnota distribučního objemu naznačuje velkou míru akumulace sirného yperitu v orgánech nebo tkáních s vysokým obsahem tuku. Následná redistribuce nehydrolyzované formy sirného yperitu pak dále působí alkylaci různých proteinů včetně hemoglobinu. Na zvířecím modelu (morče a kosman) bylo dokázáno, že hladina těchto proteinových aduktů je zvýšená až po dobu několika dní. Podobná zjištění byla nalezena i u člověka, kdy byla detekována nehydrolyzovaná forma sirného yperitu v tukové tkáni zasažených osob (18, 19).

Biotransformační procesy probíhající v krvi, játrech, ledvinách a dalších parenchymatózních orgánech modifikují sirný yperit pochody zahrnujícími hydrolyzu, oxidaci, reakci s thioley, aminy, konjugaci s glutathionem a dalšími proteiny. Většina produktů biotransformace je pak vylučována močí. Studie provedené na laboratorních potkanech udávají, že během 24 hodin je takto vyloučeno až 60 % absorbované dávky. Nejčastěji nacházenými metabolity jsou thiodiglykol sulfoxid, thiodiglykol a produkty enzymatického štěpení aduktů sirného yperitu a glutathionu enzymem cystathionin β -lyasou, EC 4.4.1.8 (5, 20).

Intoxikace sirným yperitem

V porovnání s NPL je akutní toxicita sirného yperitu nižší. Z pohledu látky fyzicky zneschopňující jsou ovšem účinky sirného yperitu na živé organismy devastující. Jediná kapka ($\sim 10 \text{ }\mu\text{g}$) dokáže vyvolat vážné poranění při kontaktu s pokožkou (11, 21). Množství 5 ml (odpovídající dávce 70 mg.kg^{-1}) již může usmrtit dospělého člověka (2). Ovšem k paralýze zasaženého a vzniku dlouhodobých komplikací je dostačující i nižší množství. Údaje o toxicitě pro člověka jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tabulka č. 2. Toxicita sirného yperitu pro člověka. Upraveno dle (1, 22).

LD ₅₀ (perorálně)	10 mg.kg^{-1}
LD ₅₀ (perkutánně)	100 mg.kg^{-1}
LC _{t50} (inhalačně)	$1\,000 \text{ až } 1\,500 \text{ mg.min}^{-1}.\text{m}^{-3}$
LC _{t50} (perkutánně)	$10\,000 \text{ mg.min}^{-1}.\text{m}^{-3}$

Při zasažení sirným yperitem obvykle dochází ke kombinované intoxikaci parami i kapalnou fází. Při prvním kontaktu se sirným yperitem (v kapalném nebo plynném skupenství) necítí zasažený žádnou bolest v místě expozice. Při koncentraci $0,15 \text{ až } 0,6 \text{ mg.m}^{-3}$ ve vzduchu lze zaznamenat zápach po česneku, křenu, či spálené gumě. Následuje latentní období, kdy nejsou přítomny žádné klinické projevy intoxikace. Tato doba je vždy závislá na způsobu expozice, obdržené dávce, skupenství sirného yperitu a teplotě. Reaktivita sirného yperitu vzrůstá s teplotou a vlhkostí prostředí. Tímto faktem lze vysvětlit akutní projevy intoxikace, které se nejdříve objevují na vlhkých a teplých místech lidského těla jako jsou sliznice a kožní záhyby (6). Se zvyšující se dávkou se doba latence zkracuje. Účinky kapalně formy se projevují dříve než při expozici parám (5, 7).

Klinická manifestace příznaků zasažení sirným yperitem je popisována v kontextu mírné nebo těžké otravy. Postiženými orgány s výrazným klinickým obrazem intoxikace jsou především brány vstupu sirného yperitu do organismu, tedy oči, dýchací cesty a kůže. V závažných případech jsou pozorovány i systémové účinky.

Oči

Sirný yperit velmi rychle penetruje skrz vlhkou rohovku do hlubších struktur oka. Oči jsou nejcitlivějším orgánem a známky akutní intoxikace se projevují do jedné hodiny po expozici. Zasažený má pocit pálení a cizího tělesa v oku. Se stupňující se bolestivostí dochází k rozvoji akutního zánětu spojivky a překrvení bulbu. Po několika hodinách nastává velmi bolestivý otok rohovky a očních víček, rozostřené vidění a fotofobie. Tento stav je často doprovázen křečovitým sevřením očních víček (blefarospasmus) a dočasnou ztrátou zraku. Po 48 hodinách je pozorováno postupné zlepšení stavu a do 4 až 5 dnů i regenerace rohovky. Ta však může být trvale poškozena vaskularizací. Kompletní rekonvalescence ale může trvat 6 týdnů a déle (7, 18).

Expozice koncentrovaným parám, a zvláště pak kapalně fázi, způsobuje těžké poškození oka. Příznaky se objevují během několika minut. Jedná se zejména o vážné poškození rohovky vedoucí až k perforaci oka, ztrátě vidění a v krajním případě i celého bulbu. Oční víčka vykazují známky popálenin prvního až druhého stupně. Závažnou komplikací může být akutní hnisavý zánět celého očního bulbu způsobený sekundární infekcí (21).

Dýchací cesty

Hlavní branou vstupu pro plynnou formu sirného yperitu je dýchací systém. Inhalace par vede k dráždění nosní sliznice, horních a následně i dolních cest dýchacích. Příznaky expozice začíná postižený vnímat po delší době latence než při zasažení očí, avšak dříve, než dochází k toxickým projevům při zasažení kůže. Prvními manifestními symptomy jsou dušnost, pocit tísně na hrudi a kašel (15).

Při středně těžké expozici se nejprve projevují příznaky zasažení horních cest dýchacích, jako je slzení, rýma, ztráta čichu a chuti, erytém a bolest v oblasti hltanu a hrtanu, zvýšená tvorba sekretu nosní a ústní sliznice (21).

U těžkých intoxikací je pozorován výrazný rozvoj výše uvedených příznaků, doprovázený ztrátou hlasu, tvorbou zánětlivého infiltrátu, nekrotickými změnami respiračního epitelu a tvorbou pseudomembrán. Ty mohou následně působit obstrukce dolních cest dýchacích (21).

Jednou z nejzávažnějších komplikací, které znesnadňují léčbu, jsou bakteriální infekce, které mají za následek další poškození epitelu dýchacích cest. Výskyt infekcí bývá pozorován 4. až 6. den po intoxikaci. V tuto dobu dochází k rozvoji zánětu, zvýšení teploty, leukocytóze, tvorbě plicního infiltrátu a sekretů. Systémově absorbovaná dávka sirného yperitu zároveň poškozuje kostní dřeň a působí oslabení imunitního systému. Výsledná imunosuprese usnadňuje rozvoj bronchopneumonie a sepse, která končí pro zasaženého fatálně (5, 21).

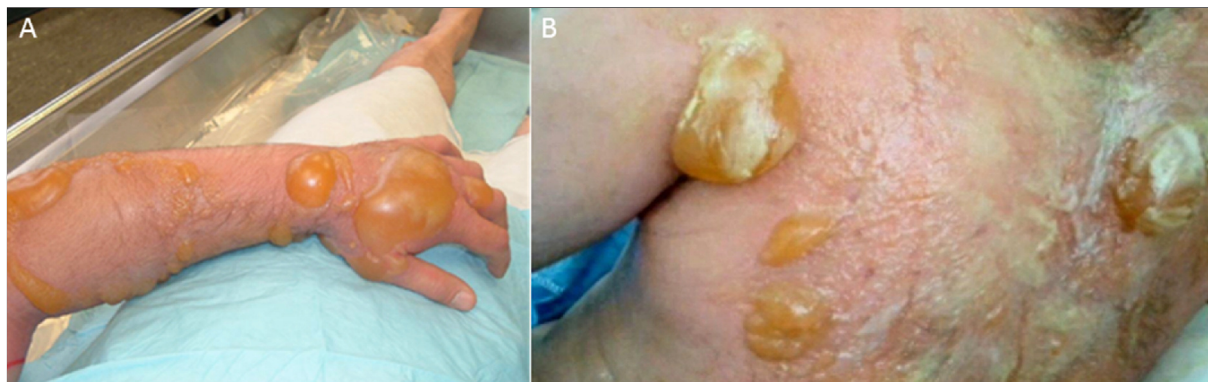
Kůže

K nejvýraznější manifestaci toxických účinků sirného yperitu dochází při zasažení kůže. Zde se opět uplatňuje intoxikace plynnou i kapalnou fází. Nejcitlivější jsou teplá a vlhká místa s tenčí vrstvou pokožky, jako je například oblast krku, loketní jamka, podpaží, oblast zevního genitálu a hráze (21).

Zranění způsobená parami sirného yperitu má nejčastěji charakter popáleniny prvního až druhého stupně. Prvním příznakem v místě kontaktu je erytém, který vzniká po 4 až 8 hodinách od expozice a bývá doprovázen svěděním, pálením a pocitem bodání. Poté dochází k vývoji malých puchýřků uvnitř nebo na okrajích léze, které později splývají ve velké puchýře (obrázek č. 4). Vývoj puchýřů nastává po 2 až 18 hodinách a může přetrvávat i několik dní po expozici. Velké puchýře mají pľukulovitý tvar, velikost až 5 cm v průměru, jejich stěna je tenká, průhledná, nažloutlé barvy a jsou obklopeny erytémem. Tekutina uvnitř puchýře je zpočátku čirá nebo nažloutlá. Později se tekutina zbarvuje do žluta a částečně koaguluje. Tekutina obsahuje hydrolytické a jiné degradační produkty sirného yperitu, které nejsou toxické (5).

Po expozici extrémně vysokým dávkám, zejména kapalného yperitu, se objevují hlubší léze srovnatelné s popáleninami čtvrtého stupně. Ty jsou charakteristické centrální zónou nekrózy a puchýři na okraji ložiska. Pro léze tohoto typu se lze setkat s pojmenováním „yperitový růženec“. Takováto zranění vyžadují dlouhodobou léčbu, komplikovanou vysokým rizikem sekundární infekce (21).

Doba nutná pro zhojení kožních lézí je závislá na jejich závažnosti. Erytém se zhojí během několika dní, zatímco těžké léze vyžadují léčbu několik týdnů až měsíců, v závislosti na anatomické lokalizaci, celkové zasažené ploše a hloubce léze.



Obrázek č. 4. A) Puchýře vzniklé 24 hodin po náhodné expozici sirnému yperitu během likvidace chemické munice (2004). B) Oběť útoku sirným yperitem při konfliktu v Sýrii (2015). Zdroj (37, 38).

Doprovodným znakem při zasažení kůže bývá vznik hyper- a hypopigmentovaných ložisek. Pod těmito ložisky, v případě exfoliace, zůstává epitel v původní barvě. Hyperpigmentované oblasti jsou následkem zvýšené aktivity melanocytů, která jsou stimulována zánětlivými procesy v zasažené kůži. Pokud však dojde ke zničení melanocytů, vzniknou hypopigmentovaná ložiska, která mohou být přítomna po dobu několika měsíců až trvale (21).

Systémové účinky

Při expozici vysokým dávkám sirného yperitu, absorbovaných skrz kůži nebo inhalačně, je kromě lokálního poškození významným faktorem i systémová toxicita (5, 23).

Nejnáchylnější k poškození jsou orgány obsahující buňky s vysokou proliferační aktivitou. Jedná se především o generalizované potlačení funkce kostní dřeně (myelosupresi), což je doprovázeno změnami v periferním krevním obraze a poškozením imunitního systému. Velmi citlivými buňkami jsou granulocyty a megakaryocyty. Třetí den po intoxikaci je pozorována leukocytóza následovaná leukocytopenií až pancytopenií, která se objevuje za 7 až 10 dní. U iránských veteránů zasažených sirným yperitem byly zjištěny celkové počty leukocytů i méně než 200/ μ l (10, 24). Nejcitlivější se zdá být populace NK buněk (natural killers), jejichž pokles vykazuje signifikantní změny i po 20 letech (8). Poškození imunitního systému se projevuje také na humorální úrovni. Byly zjištěny zvýšené hladiny imunoglobulinů IgG a IgA, které byly detekovatelné až 12 měsíců po expozici. U některých pacientů však byly nalezeny signifikantně zvýšené hodnoty i po 8 letech. U těžce exponovaných iránských veteránů byly nalezeny významně vyšší hodnoty IgM. Zvýšená hladina složek komplementu C3 a C4 byla zjištěna po dobu jednoho roku (8).

Sliznice gastrointestinálního traktu (GIT) je další cílovou strukturou při systémové intoxikaci. Zde rovněž nastává cytostatický účinek na aktivně proliferující buňky střevní sliznice. Nejčastějšími příznaky jsou nauzea, zvracení, bolest břicha a stav těžkého vyčerpání. Ojedinelými příznaky jsou krvácení do GIT a průjem. Na druhou stranu při středně těžké expozici byla pozorována zácpa. GIT může být také poškozen i lokálně po požití kontaminované potravy (10).

Poškození centrálního nervového systému se projevuje apatií, depresí a duševní otupělostí. Expozice vysokým dávkám může vyvolat abnormální svalovou aktivitu a stavy blízké agitaci nebo naopak kómatu. Mechanismus kterým sirný yperit narušuje funkci centrálního nervového systému je však nejasný (8).

Dlouhodobé následky

Zatímco časné komplikace lze pozorovat do jednoho týdne po expozici, pozdní následky se rozvíjí v průběhu dalších několika desítek let života. Chronické zdravotní obtíže jsou spojeny s neuropatickými bolestmi, náchylností k nádorovému onemocnění a chronickými změnami očí, kůže a dýchacího ústrojí.

Trvalé následky byly intenzivně studovány zejména u osob, které byly exponovány sirnému yperitu během osmiletého irácko-iránského konfliktu (1980 až 1988). Je odhadováno, že během 387 chemických útoků bylo iráckou stranou použito více jak 1 000 tun sirného yperitu (25). Khateri a kol. vyšetřili 34 000 iránských obyvatel, především válečných veteránů iránské armády (95 % muži, 5 % ženy), kteří útok sirným yperitem přežili (26). Respirační obtíže chronického charakteru, jako je astma, fibróza plic, bronchiektázie, chronická obstrukční plicní nemoc, karcinom hrtanu a plic, opakující se plicní infekce a poškození hlasivek, byly identifikovány ve 42,5 % případů (26).

Chronické dermatologické změny po expozici sirnému yperitu jsou rovněž velmi rozmanité. Popsána byla suchost kůže, svědění, pocit pálení, zvýšené pocení, vypadávání vlasů, makulární a papulární vyrážky, vezikuly, vředy, plaky, kopřivka, hyper-, hypo- a depigmentované léze, jizvy, atrofie kůže a mnohočetné bazocelulární karcinomy. Kožní komplikace byly ve výše zmíněné studii diagnostikovány u 24,5 % případů (26).

K chronickým změnám zraku náleží rozmazané vidění, zjizvení a neovaskularizace přední komory oční, ale i vnitřních částí oka (cévnatky, duhovky, řasnatého tělíska). Dalšími komplikacemi jsou zákal rohovky, keratitida nebo kalcifikace rohovky. Trvalá slepota se vyskytuje spíše ojediněle. Ve výše zmíněné studii, bylo diagnostikováno dlouhodobé poškození očí ve 39,9 % případech (26).

Mezi další následky trvalého charakteru jsou také řazeny dlouhotrvající psychické obtíže zahrnující úzkostlivé stavy, posttraumatickou stresovou poruchu, deprese, poruchy osobnosti, psychózy, paranoii, poruchy chování, pozornosti a poruchy spánku. Byly též popsány funkční poruchy jako fotofobie, afonie nebo chronický únavový syndrom. U iránských vojenských veteránů zahrnutých ve studii dlouhodobých následků expozice (1 428 osob) byly po 3 až 9 letech od expozice zjištěny deprese (46 %), emoční poruchy (98 %), poruchy chování (80 %) a poruchy paměti (80 %). Téměř u 80 % veteránů těžce exponovaných sirnému yperitu, byly též zjištěny i abnormality v periferním nervovém systému (8).

U zasažených osob studie prokázaly korelaci mezi expozicí sirnému yperitu a výskytem karcinomu nosohltanu, plic, žaludku a akutní lymfoblastické a myeloblastické leukémie (25, 26). Dle klasifikace Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC) je sirný yperit zařazen do 1. skupiny, tedy mezi látky s prokazatelným karcinogenním účinkem na člověka (27).

Laboratorní diagnostika otravy sirným yperitem

Detekce sirného yperitu v biologických vzorcích se provádí pouze ve specializovaných laboratořích za účelem diagnózy expozice, odhadu obdržené dávky nebo potvrzení porušení zákazu chemických zbraní. Metody detekce vychází z analytických technik plynové nebo vysokoúčinné kapalinové chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (GC-MS, HPLC-MS). Oproti tomu testy založené na enzymové imunoanalýze (ELISA), byly vyvinuty pro analýzu biologického materiálu v polních podmínkách (28).

Analyty sledované v souvislosti s podezřením na expozici sirnému yperitu lze rozdělit do tří skupin. Jsou to metabolity, alkylované proteiny a alkylované báze DNA. Metabolity sirného yperitu bývají nejčastěji stanoveny v moči, produkty alkylace pak ve vzorku krve nebo plazmy. Přestože hlavním hydrolytickým produktem je thiodiglykol, jeho oxidovaná forma bis(2-hydroxyethyl)sulfoxid je přítomna v moči zasažených osob v mnohem větší míře. Poločas přeměny thiodiglykolu měřený u obětí chemického útoku je přibližně 28 hodin. Přesto obě zmiňované látky nelze považovat za jednoznačné ukazatele expozice sirnému yperitu, protože jsou v nízké koncentraci stanovitelné i u neexponovaných osob (8, 28).

Větší citlivost a specifitu stanovení v moči lze dosáhnout analýzou metabolitů, které nevznikly hydrolyzou, ale katalytickým působením enzymu cystathionin β -lyasa. Tento enzym katalyzuje za fyziologických podmínek reakci (1-6):



Cystathionin β -lyasa dokáže štěpit široké množství substrátů, kde je přítomna vazba S-C, mezi které patří i proteiny alkylované sirným yperitem. Například adukt glutathionu a sirného yperitu je v organismu oxidován a následně štěpen cystathionin β -lyasou za vzniku několika produktů: 1,1'-sulfonylbis[2-S-(N-acetylcysteinyl)ethan], 1,1'-sulfonylbis[2-(methylthio)ethan], 1,1'-methylsulfinyl-2-[2-(methylthio)ethylsulfonyl]ethan a 1,1'-sulfonylbis[2-(methylsulfinyl)ethan]. Tyto fragmenty lze pak následně stanovit pomocí GC-MS analýzy. Uvedené metabolity mohou být stanoveny až dva týdny po expozici. V moči neexponovaných osob se zmíněné látky nevyskytují, a proto jsou považovány za perspektivní biomarkery expozice sirnému yperitu (29, 30).

Při průniku sirného yperitu do krevního řečiště dochází k alkylaci krevních elementů i sérových proteinů. Významným diagnostickým znakem je tvorba alkylačních aduktů s hemoglobinem. Jedním z nejvíce studovaných analytů jsou adukty s N-terminálním valinem (hydroxyethylthioethyl-valin) nebo histidinem (hydroxyethylthioethyl-histidin). Tyto analyty lze stanovit metodou GC-MS až 120 dní po expozici, tedy po dobu životnosti erytrocytu (31, 32). V krevní plazmě lze též stanovit alkylační adukt s albuminem. Místem alkylace je aminokyselina cystein na 34. pozici. Vzniklý adukt S-2-hydroxyethylthioethyl-albumin je pro účely analýzy následně štěpen na tripeptid S-2-hydroxyethylthioethyl-Cys-Pro-Phe, který lze následně stanovit metodou HPLC-MS. Adukty s albuminem jsou stanovitelné v plazmě až 50 dní po expozici sirnému yperitu (30, 32).

Alkylaci jaderné DNA vzniká řada produktů, především reziduí sloučenin deoxyguanosinu, jejichž depurinaci lze získat N7-[2-[(2-hydroxyethyl)thio]ethyl]-guanin, který lze stanovit v krvi (lymfocytech), v moči, ale i ve vzorcích kůže nebo jiných tkání. Stanovení se provádí metodou HPLC-MS nebo ELISA (8, 28). Na základě reakce sirného yperitu s DNA byl též vyvinut imunochromatografický testovací proužek pro detekci sirného yperitu z různých povrchů, včetně kůže. Adukt sirného yperitu a oligonukleotidu obsahujícího guanin, je detekován pomocí specifické reakce s protilátkou 2F8. Tato protilátka je konjugována s částicemi koloidního zlata, které umožňují vizualizaci pozitivního výsledku v podobě červené linie v testovací zóně (33).

Terapie akutní otravy

Základy léčby otravy sirným yperitem vychází z válečných zkušeností a z chemických havárií, při nichž došlo k náhodné expozici. Nové poznatky rovněž přináší i studie na zvířatech. Postupy a názory na léčbu otravy sirným yperitem uváděné v literatuře nejsou jednotné. Dosud nebyl popsán efektivní způsob profylaxe, ani specifická antidotní léčba. Přesto, že existuje mnoho experimentálních studií, ve kterých bylo testováno několik stovek potenciálních ochranných látek, žádná neprokázala potřebné vlastnosti. Reálná léčba má tedy charakter symptomatický. To vše je navíc komplikováno dlouhým asymptomatickým obdobím, během kterého dochází k nezvratným změnám na molekulární úrovni. V rámci Organizace Severoatlantické smlouvy (NATO) je doporučená terapie akutních otrav sirným yperitem popsána v příručce „NATO handbook on the medical aspects of NBC defensive operations AMedP-6(B)“ (1, 34).

Předlékařská první pomoc

První pomoc zasaženým sirným yperitem spočívá v přemístění z kontaminovaného prostoru, okamžitým odstranění kontaminovaného oděvu a odmoření kapalně formy sirného yperitu (v podmínkách AČR je doporučen univerzální odmořovací prostředek na bázi práškového sorbentu IPB-80). Neprodleně následuje důkladná mokrá dekontaminace. Protože interakce sirného yperitu s biologickými strukturami je velice rychlá, efektivní dekontaminace musí být provedena v co nejkratším čase. K dekontaminaci lze použít speciální dekontaminační prostředky. Pro Armádu České republiky jsou tyto prostředky definovány v „Českém obranném standardu ČOS 681001“ a dekontaminace je řízena předpisem Vševojsk-2-11 „Dekontaminace v Armádě České republiky“ (35, 36).

Dekontaminace očí a sliznic se provádí omytím čistou vodou, izotonickým roztokem hydrogenuhličitanu sodného nebo fyziologickým roztokem. Zasažená kůže je okamžitě odmořena pomocí práškového absorbentu

a chemickým dezaktivacím prostředkem (nejčastěji na bázi sloučenin chloru) ve formě příměsi do práškového sorbentu, masti, vodného nebo organického roztoku. Přídavek detergentu zvyšuje účinnost dekontaminace. Na druhou stranu je třeba vyvarovat se rizika sekundární kontaminace vlivem rozmytí sirného yperitu do nezasazených oblastí kůže. V rámci první pomoci je rovněž doporučeno chladit postižená místa pro zmírnění následků expozice (34).

Na základě rychlého vyšetření rozhodne lékař o závažnosti stavu pacienta. Středně až těžce zasažení musí být neprodleně transportováni do nejbližšího centra urgentní lékařské péče. Méně akutní případy zasažení, kde nejsou přítomny známky intoxikace, je doporučeno pozorovat po dobu nejméně 24 hodin (8).

Následná odborná léčba

Obecná lékařská péče je zaměřena na tišení bolesti, zklidnění a psychickou podporu. Léčba systémových účinků sirného yperitu se odvíjí od závažnosti expozice. Ošetřování by mělo probíhat za sterilních podmínek. Zásadní je udržet adekvátní metabolický status, doplnit ztrátu elektrolytů a důsledně bránit sekundární infekci obzvláště v období leukopenie. Pro obnovení krvetvorby je možné provést transplantaci kostní dřeně a imunostimulačními prostředky podpořit buněčnou imunitu. Dalšími podpůrnými prostředky terapie jsou: zavedení parenterální výživy, podávání kardiotonik, spasmolytik, analgetik, antihistaminik a případně i neuroleptik. Mímotělní eliminační metody jako hemoperfuze nebo hemodialýza jsou neúčinné (1, 34).

Specifická orgánová péče určuje speciální postupy pro léčbu při zasažení kůže, očí a dýchacích cest (8, 34).

Při terapii kožních lézí je důležité zamezit mikrobiální kontaminaci rány ještě před zahájením samotné léčby. Aplikací chladivých a protizánětlivých přípravků, jako jsou například suspenze oxidu zinečnatého, kortikosteroidy a antimikrobiální krém sulfadiazin, se snažíme potlačit svědění a pálení. Menší puchýře je doporučeno ponechat v klidu, u větších provést aseptické snesení a lézi ošetřit širokospektrým antibiotikem, sterilním krytím popřípadě podáním lokálních anestetik. Hojivé procesy mohou být urychleny pomocí laserové ablace nekrotické tkáně nebo autologní transplantací kožních štěpů (12, 34).

Zasažení očí sirným yperitem je velmi bolestivé. Použití lokálních anestetik může zvýšit poškození rohovky a proto je vhodnější, dle situace, aplikovat celková analgetika popřípadě narkotika. Pro zabránění zánětu a infekce se podává hydrokortizon a alkalická oční mast s obsahem antibiotik. Mydriatika se aplikují jako prevence synechií duhovky a čočky. Oči chráníme před světlem tmavými brýlemi, sterilní krytí se nedoporučuje. Při těžší intoxikaci dochází k otoku a křečovitému sevření víček, což brání vidění. Tento stav zasaženého značně zneklidňuje, proto je vhodné víčka rozevřít a ujistit pacienta, že neoslepl. Přechodná ztráta zraku může způsobovat depresivní stavy, a proto je důležité poskytnout zasaženému psychologickou pomoc (34).

Dýchací cesty exponované parám sirného yperitu ošetřujeme v méně závažných případech symptomaticky. Při těžkém zasažení je třeba zajistit podporu dýchání a saturaci kyslíkem. V případě bakteriální bronchopneumonie je třeba nasadit cílenou antibiotickou léčbu (34).

Závěr

Sirný yperit je doposud celosvětovým problémem a hrozbou. Zvláště v dnešní době, kdy bývají teroristické útoky stále častější součástí reality. I přes zákaz používání chemických zbraní a úmluvě o jejich postupném zničení, několik států vlastní značné zásoby chemické munice s obsahem této látky. To potvrzuje i nedávné použití sirného yperitu během občanské války v Sýrii. Neméně velké riziko představují i dělostřelecké granáty svržené na dno Baltského moře, jejichž kovový obal postupně koroduje. Intenzivním obranným výzkumem byla získána řada poznatků o toxickém působení sirného yperitu. Tato látka je vysoce reaktivní a vzhledem k rychlé reakci s biomolekulami indukuje nespecifické poškození nejen na molekulární a buněčné úrovni, ale i na úrovni tkání a organismu. Vzhledem k této nespecifitě je obtížné najít antidotum, které by účinně chránilo před jeho působením nebo by bylo použitelné postexpozičně. Včasná a odborná lékařská pomoc je v případě zasažení sirným yperitem nezbytná. Velmi nápomocným nástrojem je i rozvoj laboratorních diagnostických metod určených pro detekci sirného yperitu v biologickém materiálu. Na druhou stranu je nutné myslet i na bezpečnost ošetřujícího personálu a jeho informovanost.

Poděkování

Práce vznikla v rámci institucionální podpory projektu „DZRO - Zdravotnická problematika ZHN“.

Acknowledgements

The work was supported by the institutional support “Long Term Development Plan (DZRO - Zdravotnická problematika ZHN)”.

Prohlášení o střetu zájmů

Prohlašuji, že v souvislosti s uvedeným příspěvkem, jehož jsem autorem/spoluautorem, nemám žádný střet zájmů.

Conflict of interest statement

The authors state that there are no conflicts of interest regarding the publication of this article.

Literatura

1. Patočka J. Vojenská toxikologie. Praha: Grada Publishing; 2004.
2. Pitschmann V. Historie chemické války. Kounice: Military system Line; 1999.
3. Gupta RC. Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents 2nd Edition. Cambridge: Academic Press; 2015.
4. Pechura CM, Rall DP. Veterans at Risk: The Health Effects of Mustard Gas and Lewisite. Washington DC: National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine; 1993.
5. Kehe K, Szincz L. Medical aspects of sulphur mustard poisoning. Toxicology. 2005;214(3):198–209.
6. Ghabili K, Agutter PS, Ghanei M, Ansarin K, Panahi Y, Shoja MM. Sulfur mustard toxicity: history, chemistry, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. Critical Reviews in Toxicology. 2011;41(5):384–403. doi: 10.3109/10408444.2010.541224.
7. Balali-Mood M, Balali-Mood B. Sulphur Mustard Poisoning and Its Complications in Iranian Veterans. Iran J Med Sci. 1. září 2009;34(3):155–71.
8. Balali-Mood M, Hefazi M. The pharmacology, toxicology, and medical treatment of sulphur mustard poisoning. Fundamental and Clinical Pharmacology. 2005;19(3):297–315.
9. Patočka J. Syria conflict and chemical weapons: what is the reality? Military Medical Science Letters. 2016; 85(1):39–43.
10. Pita R, Vidal-Asensi S. Cutaneous and Systemic Toxicology of Vesicant (Blister) Warfare Agents. Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition). 2010;101(1):7–18.
11. Tuorinsky SD, Redding J, Lindsay R, Mason V, Metzgar M, Wise D, Maston B. Medical Aspects of Chemical Warfare. Washington DC: Government Printing Office; 2008.
12. Schmidt A, Steinritz D, Rudolf K-D, Thiermann H, Striepling E. Accidental sulfur mustard exposure: A case report. Toxicology Letters. 2017. V tisku. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.11.023.
13. Steinritz D, Striepling E, Rudolf K-D, Schröder-Kraft C, Püschel K, Hullard-Pulstinger A, et al. Medical documentation, bioanalytical evidence of an accidental human exposure to sulfur mustard and general therapy recommendations. Toxicology Letters. 2016;244:112–120. doi: 10.1016/j.toxlet.2015.08.1105.
14. Malhotra RC, Ganesan K, Sugendran K, Swamy RV. Chemistry and toxicology of sulphur mustard - a review. Defence Science Journal. 1999;49(2):97–116.
15. Wattana M, Bey T. Mustard gas or sulfur mustard: an old chemical agent as a new terrorist threat. Prehospital and Disaster Medicine. 2009;24(1):19–29.
16. Kroening KK, Richardson DD, Afton S, Caruso JA. Screening hydrolysis products of sulfur mustard agents by high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry detection. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2009;393(8):1949–1956. doi: 10.1007/s00216-009-2642-y.
17. Reddy G, Major MA, Leach GJ. Toxicity assessment of thiodiglycol. International Journal of Toxicology. 2005;24(6):435–442.

18. Kehe K, Balszuweit F, Emmeler J, Kreppel H, Jochum M, Thiermann H. Sulfur Mustard Research-Strategies for the Development of Improved Medical Therapy. *Eplasty*. 2008;8:e32.
19. Maisonneuve A, Callebaut I, Debordes L, Coppet L. Biological fate of sulphur mustard in rat: toxicokinetics and disposition. *Xenobiotica. The Fate of Foreign Compounds in Biological Systems*. 1993;23(7):771–780.
20. Pant SC, Lomash V. Sulphur Mustard Induced Toxicity, Mechanism of Action and Current Medical Management. *Defence Life Science Journal*. 2016;1(1):7-17. doi: 10.14429/dlsj.1.10089.
21. Romano Jr. JA, Romano JA, Salem H, Lukey BJ, Lukey BJ. *Chemical Warfare Agents: Chemistry, Pharmacology, Toxicology, and Therapeutics*, Second Edition. Boca Raton: CRC Press; 2007.
22. Hoenig SL. *Compendium of chemical warfare agents*. New York: Springer; 2007.
23. Imani S, Panahi Y, Salimian J, Fu J, Ghanei M. Epigenetic: A missing paradigm in cellular and molecular pathways of sulfur mustard lung: a prospective and comparative study. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2015;18(8):723–736.
24. McManus J, Huebner K. Vesicants. *Critical Care Clinics*. 2005;21(4):707–718. doi: 10.1016/j.ccc.2005.06.005.
25. Mansour Razavi S, Salamati P, Saghafeinia M, Abdollahi M. A review on delayed toxic effects of sulfur mustard in Iranian veterans. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;20(1):51. doi: 10.1186/2008-2231-20-51.
26. Khateri S, Ghanei M, Keshavarz S, Soroush M, Haines D. Incidence of lung, eye, and skin lesions as late complications in 34,000 Iranians with wartime exposure to mustard agent. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 2003;45(11):1136–1143.
27. Baan R, Grosse Y, Straif K, Secretan B, Ghissassi FE, Bouvard V, et al. A review of human carcinogens–Part F: Chemical agents and related occupations. *The Lancet Oncology*. 2009;10(12):1143–1144.
28. Zübel T, Bürkle A, Mangerich A. Mass spectrometric analysis of sulfur mustard-induced biomolecular adducts: Are DNA adducts suitable biomarkers of exposure? *Toxicology Letters*. 2017. V tisku. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.12.014.
29. Xu H, Nie Z, Zhang Y, Li C, Yue L, Yang W, et al. Four sulfur mustard exposure cases: Overall analysis of four types of biomarkers in clinical samples provides positive implication for early diagnosis and treatment monitoring. *Toxicology Reports*. 2014;1:533–543. doi: 10.1016/j.toxrep.2014.07.017.
30. Lin Y, Dong Y, Chen J, Li C-Z, Nie Z-Y, Guo L, et al. Gas chromatographic-tandem mass spectrometric analysis of β -lyase metabolites of sulfur mustard adducts with glutathione in urine and its use in a rabbit cutaneous exposure model. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2014;945–946:233–239. doi: 10.1016/j.jchromb.2013.11.058.
31. Liu C, Liang L, Xiang Y, Yu H, Zhou S, Xi H, et al. An improved method for retrospective quantification of sulfur mustard exposure by detection of its albumin adduct using ultra-high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2015;407(23):7037–7046. doi: 10.1007/s00216-015-8842-8.
32. Smith JR, Capacio BR, Korte WD, Woolfitt AR, Barr JR. Analysis for plasma protein biomarkers following an accidental human exposure to sulfur mustard. *Journal of Analytical Toxicology*. 2008;32(1):17–24.
33. Klaus S, Beitsch C, Scheibenzuber M. Development of a rapid and reliable on-site sulfur mustard detector. *Toxicology*. 2007;233(1):233.
34. CBRN Medical Working Group. *AMedP-6 Part 3: Management of Chemical Casualties*. Brussels: NATO Headquarters; 2016.
35. Zahradníček R. Praktické otázky a odpovědi k problematice vedení operací v kontaminovaném prostředí. *Vojenské rozhledy*. 2017(4):79–98.
36. Vševojsk-2-11. Dekontaminace v Armádě České republiky, Vojenský předpis. Praha: Ministerstvo obrany ČR; 2016.
37. Levá ruka zasažená sirným yperitem, [online, 14. 5. 2018]. Dostupné z: <https://static01.nyt.com/images/2014/12/23/world/americas/mustard-burn/mustard-burn-master315.png>
38. Záda a levé rameno oběti zasažené sirným yperitem, [online, 14. 5. 2018]. Dostupné z: <https://i.guim.co.uk/img/static/sys-images/Guardian/Pix/pictures/2015/9/2/1441186387627/44e091d6-917b-4a53-b5f6-e9dec0be43a9-620x518.jpeg?w=620&q=20&auto=format&usm=12&fit=max&dpr=2&s=5f33ae9195cb4e3e6766bf677fb76cfa>