615.9:616.24-008.64-036.11-08:615.525-092.9

OVLIVNĚNÍ pH KRVE A KREVNÍCH PLYNŮ MODERNÍMI ANTIDOTNÍMI PROSTŘEDKY PO INTOXIKACI POTKANA LÁTKOU VX

Pplk. MUDr. Jiří KASSA, CSc., Ing. Bedřiška MACHÁČKOVÁ
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové
(rektor: prof. MUDr. Josef Fusek, DrSc.)

Úvod

Organické sloučeniny fosforu (OF) patří mezi nejtoxičtější nízkomolekulární látky. Některé z nich patří mezi nejvíce nebezpečnou skupinu bojových otravných látek (BOL) - nervově paralytické látky (NPL). K nim náleží i vysoce toxická látka VX (4).

Vzhledem ke značným zásobám NPL stojí v popředí zájmu zdravotnických služeb armád co nejdokonalejší antidotní terapie otrav těmito noxami. Vyvíjená antidota jsou zaměřena především na eliminaci základního mechanismu účinku OF sloučenin - zásahu do cholinergního přenosu nervového vzruchu cestou ireverzibilní inhibice aktivity acetylcholinesterázy (AChE, EC 3.1.1.7) (2). Obvykle se antidotní kombinace skládá z cholinolytika, eliminujícího účinek acetylcholinu (ACh) na postsynaptických receptorech, a reaktivátoru AChE, obnovujícího aktivitu inhibované AChE na různých místech organismu (2). Tato antidota však ovlivňují i necholinergní účinky OF sloučenin. Ukazuje se totiž, že mechanismus účinku OF sloučenin zahrnuje vedle přímého zásahu do cholinergního přenosu nervového vzruchu i řadu dalších nespecifických účinků, které souvisejí s ireverzibilní inhibicí AChE nepřímo (3, 4). Mezi necholinergní účinky můžeme zařadit i rozvoj akutní respirační insuficience (ARI) v důsledku paralýzy dechového svalstva, bronchokonstrikce a deprese v dechových centrech (1). ARI může hrát významnou roli v klinickém obrazu akutní intoxikace a často se stává i příčinou exitu. Průběh ARI je možné sledovat prostřednictvím změn vnitřního prostředí organismu, které signalizují změnu energetické bilance buněk a tkání. Pokud porucha výměny energií postihne rozsáhlejší tkáňovou oblast, ohlásí se změnami vnitřního prostředí (8, 12).

Dosavadní antidotní prostředky, mezi něž patří i kombinace reaktivátoru Toxogonin[R] s cholinolytikem atropinem, nejsou vůči některým OF sloučeninám dostatečně účinné, a proto jsou vyvíjeny nové antidotní prostředky, které svou účinností překonávají efekt dosavadních antidot. Mezi nově vyvíjené antidotní prostředky patří i nový reaktivátor AChE, asymetrický biskvarterní oxim tzv. H-řady HI-6, který překonává svou účinností dosavadní klasické reaktivátory a navíc má periferní antimuskarinový a antinikotinový účinek a schopnost blokovat centrální cholinergní receptory (9, 11). Z cholinolytik se často vedle nejvíce používaného atropinu využívá centrálně působící benaktyzin (4).

V rámci symptomatické léčby akutních intoxikací OF sloučeninami je výhodné použít antikonvulzivní látky, eliminující rozvíjející se generalizované tonicko-klonické křeče příčně pruhovaného svalstva, které jsou v popředí klinického obrazu akutní intoxikace OF sloučeninami. Nejčastěji se z antikonvulzivních látek v rámci terapie otrav OF používá diazepam (6, 7).

Cílem práce je srovnat ovlivnění zvolených parametrů ARI klasickou antidotní kombinací Toxogonin[R] s atropinem oproti nově vyvíjenému reaktivátoru HI-6 s benaktyzinem v průběhu akutní subletální intoxikace

látkou VX. Současně je sledován efekt diazepamu přidaného k daným antidotním kombinacím na průběh ARI.

Materiál a metody

Jako pokusná zvířata byli použiti samci bílých potkanů kmene Wistar chovu Velaz Praha o hmotnosti 200-250 g, kteří byli před vlastními pokusy krmeni standardní Larsenovou dietou a vodou ad libitum.

Látka VX (chemicky O-ethyl-S-/2-diizopropylaminoethyl/ methylthiofosfonát) byla pokusným zvířatům podávána intraperitoneálně (i. p.) v subletální dávce 20 μg/kg (40 % LD_{50}) (5), při které docházelo k plnému rozvoji klinického obrazu akutní intoxikace. Kontrolním zvířatům byl podáván i. p. fyziologický roztok ve stejném objemovém množství. Za 30 sekund po podání noxy či fyziologického roztoku byla potkanům podána intramuskulárně (i. m.) příslušná antidotní kombinace. Reaktivátory AChE a cholinolytika byly podávány v dávce odpovídající 20 % námi zjištěné LD_{50}, diazepam v dávce 2,5 mg/kg (4).

Odběry arteriální krve byly prováděny za 15, 30 a 45 minut po podání noxy, tedy v době nástupu a plného rozvoje klinických příznaků akutní intoxikace. V krvi bylo sledováno pH, pO_2 (parciální tlak kyslíku), pCO_2 (parciální tlak oxidu uhličitého) a O_2St (% saturace hemoglobinu kyslíkem). Jednotlivé parametry byly stanovovány v heparinizované krvi přístrojem Automatic Gaz Check AVL 940. Odebraná krev byla vyšetřována ihned po odběru, nejpozději do 1 hodiny, neboť později difundují plyny z erytrocytů do plazmy (8).

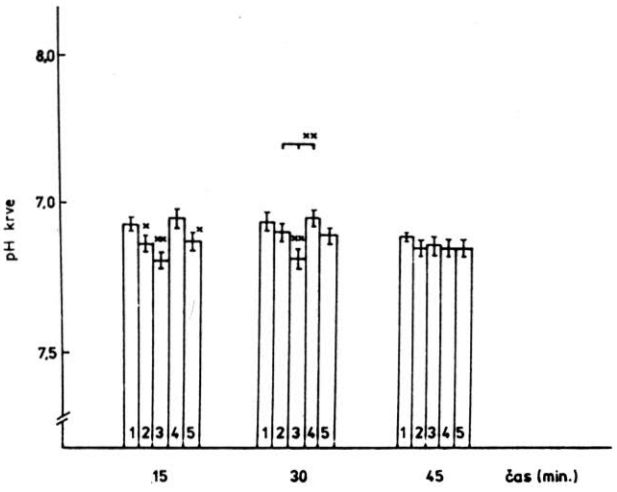
Získané hodnoty byly testovány analýzou rozptylu. Pokud byly rozdíly mezi jednotlivými skupinami (n = 6) hodnocenými analýzou rozptylu statisticky významné na 5% hladině významnosti, byly dále hodnoceny pomocí Scheffeho kontrastu. Statistické zpracování výsledků bylo provedeno podle příslušných programů na počítači ADT 4500.

Výsledky

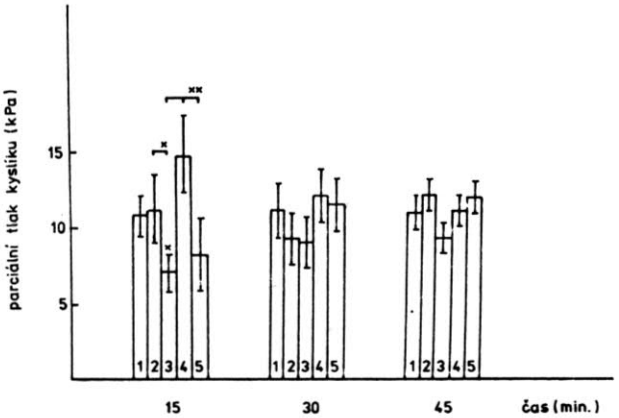
Statisticky významný pokles pH krve byl pozorován především při terapii otravy VX látkou reaktivátorem HI-6 s benaktyzinem, a to 15 a 30 minut po podání noxy ($p < 0,01$). V prvním sledovaném časovém intervalu (15 minut) kleslo pH krve signifikantně i při terapii otravy kombinací reaktivátoru HI-6 s benaktyzinem (BNZ) a diazepamem a dále kombinací Toxogonin[R] s atropinem ($p < 0, 05$). Ve 45. minutě po podání VX látky a léčiv bylo pH krve stabilizováno ve fyziologických mezích (graf 1).

V souladu s poklesem pH dochází v krvi otrávených potkanů i k poklesu parciálního tlaku kyslíku. Statisticky významný pokles pO_2 byl však zaznamenán pouze v 15. minutě po podání látky VX, a to v případě terapie otravy reaktivátorem HI-6 s BNZ. Výrazný pokles pO_2 byl zjištěn i po podání kombinace antidot HI-6, BNZ a diazepam, ale nebyl signifikantní (graf 2).

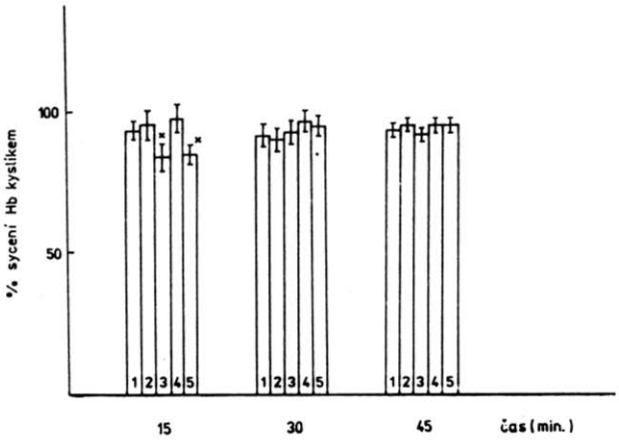
Poklesu pO_2 přesně odpovídají i změny procenta sycení hemoglobinu kyslíkem. Statisticky významný pokles O_2St



Graf 1 Změny pH krve po i. p. podání subletální dávky látky VX a následné léčbě (1 - kontrolní hodnoty, 2 - terapie Toxogoninem[R] a atropinem, 3 - terapie HI-6 a BNZ, 4 - terapie Toxogoninem[R], atropinem a diazepamem, 5 - terapie HI-6, BNZ a diazepamem). Statistická významnost: x - p < 0,05 xx - p < 0,01



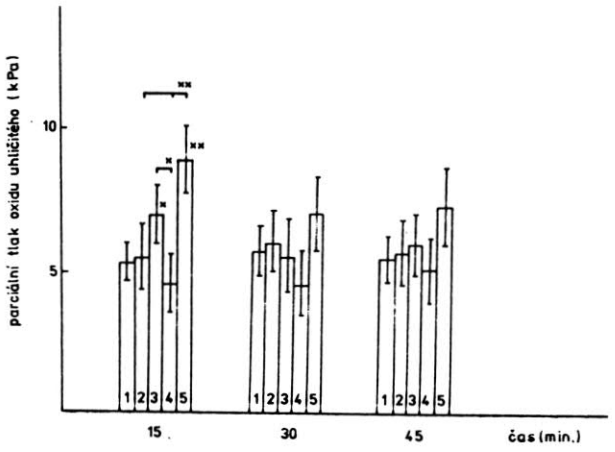
Graf 2 Změny parciálního tlaku kyslíku v krvi pokusných zvířat po i. p. podání subletální dávky látky VX a následné léčbě. Symboly - viz graf 1



Graf 3 Změny procenta sycení hemoglobinu kyslíkem v krvi pokusných zvířat po i. p. podání subletální dávky látky VX a následné léčbě. Symboly - viz graf 1

byl zaznamenán pouze v 15. minutě intoxikace léčené buď reaktivátorem HI-6 s BNZ, nebo kombinací antidot HI-6, BNZ a diazepam ($p < 0,05$) (graf 3).

Také změny parciálního tlaku oxidu uhličitého byly nejvýraznější v 1. sledovaném časovém intervalu (15. minutě) po podání VX látky a antidot. V této době byl zaznamenán statisticky významný vzestup pCO_2 u potkanů léčených reaktivátorem HI-6 s BNZ ($p < 0, 05$) nebo kombinací antidot HI-6, BNZ a diazepam ($p < 0,01$). V dalších časových intervalech nejsou změny pCO_2 signifikantní (graf 4).



Graf 4 Změny parciálního tlaku oxidu uhličitého v krvi pokusných zvířat po i. p. podání subletální dávky VX látky a následné léčbě. Symboly - viz graf 1

Diskuse

Rozvoj ARI, která je odrazem narušení cholinergního přenosu nervového vzruchu ireverzibilní inhibicí AChE, vede k respirační acidóze, vyjádřené snížením pH krve pokusných zvířat, hypoxemii, vyjádřené snížením pO_2 a O_2St, a konečně hyperkapnii, vyjádřené zvýšením pCO_2 (8, 12).

Při sledování výše uvedených parametrů v průběhu neléčené intoxikace OF sloučeninami se jako nejcitlivější markr ARI jeví pH krve v důsledku rozvoje respirační a později i metabolické acidózy (5). Byl však popsán i signifikantní pokles pO_2 a vzestup pCO_2 bez statisticky významných změn pH krve u psů otrávených modelovým organofosfátem EDMM (1) a u koček otrávených paraoxonem (10).

Z vývoje sledovaných parametrů u intoxikovaných zvířat léčených zvolenými antidoty vyplývá významný rozdíl v účinku Toxogonin[R] s atropinem ve srovnání s účinkem HI-6 s benaktyzinem. Zatímco při terapii intoxikovaných zvířat kombinací Toxogonin[R] + atropin dochází již v 15. minutě k úpravě parametrů ARI na úroveň kontrolních hodnot (s výjimkou pH krve), při terapii reaktivátorem HI-6 s BNZ přetrvává ještě v 15. minutě intoxikace statisticky významná hypoxie a hyperkapnie, ve 30. minutě intoxikace statisticky významná acidóza. Teprve ve 45. minutě byla zaznamenána úprava všech markrů ARI na úroveň kontrolních hodnot.

Z těchto výsledků vyplývá dobrá terapeutická účinnost obou zvolených kombinací v případě subletální intoxikace látkou VX, přičemž však účinek reaktivátoru HI-6 s BNZ nastupuje později než účinek Toxogoninu [R] a atropinu, zřejmě v důsledku pomalejší distribuce reaktivátoru HI-6 v organismu a obtížného přestupu přes hematoencefalickou bariéru na rozdíl od Toxogoninu [R] (9).

Ze srovnání vývoje uvedených parametrů ARI při terapii otravy VX látkou antidotními kombinacemi, ke kterým byl přidán diazepam, vyplývá, že přidání diazepamu ke kombinaci reaktivátoru AChE a cholinolytika prakticky neovlivní rozvoj ARI a neurychlí ani nezvýší efekt základní antidotní terapie na eliminaci ARI přes svůj nesporný efekt na četnost a intenzitu tonicko-klonických křečí kosterního svalstva v průběhu intoxikace.

Všechny uvedené léčebné kombinace jsou schopné eliminovat laboratorní projevy ARI v průběhu subletální intoxikace látkou VX, i když antidotní kombinace obsahující reaktivátor HI-6 eliminuje parametry ARI pomaleji než antidotní kombinace obsahující Toxogonin [R].

Souhrn

V pokusech na samcích potkana byl sledován vývoj akutní respirační insuficience prostřednictvím zvolených markrů (pH krve, parciální tlak kyslíku, % sycení hemoglobinu kyslíkem, parciální tlak oxidu uhličitého) v průběhu subletální intoxikace VX látkou léčené různými kombinacemi antidot (Toxogonin[R] s atropinem, Toxogonin[R] s atropinem a diazepamem, HI-6 s benaktyzinem, HI-6 s benaktyzinem a diazepamem). Zatímco při terapii intoxikace kombinacemi antidot obsahujícími reaktivátor HI-6 dochází v 15. minutě intoxikace ke statisticky významné acidóze (přetrvávající do 30 minut), hypoxii a hyperkapnii, při terapii intoxikace kombinací antidot obsahující Toxogonin[R] dochází v 15. minutě intoxikace pouze k acidóze bez signifikantních změn parciálního tlaku kyslíku a oxidu uhličitého. Ve 45. minutě léčené intoxikace jsou markry akutní respirační insuficience v souladu s kontrolními hodnotami bez ohledu na výběr antidot.

Z uvedených výsledků vyplývá pozdější nástup účinku kombinace antidot s HI-6 ve srovnání s kombinací antidot obsahující Toxogonin[R] a mizivý vliv diazepamu na změny markrů akutní respirační insuficience.

Literatura

1. BAJGAR, J. et al.: Biochemická syndromologie akutní otravy organofosfáty. Biochem. clin. bohemoslov., 6, 1977, s. 87-97.
2. BAJGAR, J.: Intoxikace organofosforovými inhibitory cholinesteráz - účinek, diagnóza a terapie. Novinky v medicíně. 1. vyd. Praha, Avicenum. 1985. 40 s.
3. BAJGAR, J.: Biological monitoring of exposure to nerve agents. Br. J. ind. Med., 49, 1992, s. 648-653.
4. KASSA, J.: Studium cholinergních a necholinergních účinků OF sloučenin a jejich léčebné ovlivnění. [Kandidátská disertace]. Hradec Králové 1991. 210 s.
5. KASSA, J. et al.: Změny pH krve a krevních plynů v průběhu neléčené akutní intoxikace potkana VX látkou. Voj. zdrav. Listy, 61, č. 5/6, 1992, s. 210-214.
6. KRUTAK, K. H. et al.: Comparative effects of diazepam and midazolam on paraoxon toxicity in rats. Toxicol. appl. Pharmacol., 81, 1985, s. 545-550.
7. MARTIN, L. J. et al.: Protective effect of diazepam pretreatment on

soman-induced brain lesion formation. Brain. Res., 325, 1985, s. 287-289.
8. NEJEDLÝ, B. et al.: Vnitřní prostředí, klinická biochemie a praxe. 1. vyd., Praha, Avicenum 1980. 587 s.
9. ROOOUSSEAUX, C. G. et al.: Pharmacology of HI-6 an H-series oxime. Can. J. Physiol. Pharmacol., 67, 1989, s. 1183-1189.
10. SCHMIDT, G. et al.: Spätreaktionem an Atmung und Paraoxonvergiftung mit Esterasereaktiovatoren und Atropin an Katzen. Arch. Toxicol., 24, 1969, s. 102-122.
11. SHIH, T. M. et al.: A comparison of cholinergic effects of HI-6 and pralidoxime-2-chloride (2-PAM) in soman poisoning. Toxicol. Lett., 55, 1991, s. 131-147.
12. TRÁVNÍČEK, T.: Patologická fyziologie. 1. vyd. Praha, Avicenum 1987. 728 s.

Poděkování

Autoři děkují paní J. Uhlířové, J. Petrové a M. Zechovské za technickou spolupráci a panu Mgr. V. Bláhovi za pomoc při statistickém hodnocení.

Klíčová slova: VX látka; Toxogonin [R]; Atropin; HI-6; Benaktyzin; Akutní respirační insuficience; Krevní plyny.

Do redakce došlo 14. 5. 1993