

623.459.4:547.1'118.5

FARMAKOLOGICKÁ A BIOCHEMICKÁ CHARAKTERISTIKA NĚKTERÝCH ÚČINKŮ VYSOCE TOXICKÉ NERVOVĚ PARALYTICKÉ LÁTKY GV

Plk. doc. MUDr. Jiří BAJGAR, DrSc., plk. prof. MUDr. Josef FUSEK, DrSc.,¹RNDr. Ing. František SKOPEC, CSc.

Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové

(rektor: plk. prof. MUDr. J. Fusek, DrSc.)

¹Lékařská fakulta UK, Hradec Králové

(děkan: doc. MUDr. K. Barták, CSc.)

Úvod

I když je v současné době známa celá řada vysoce toxických látek z několika skupin, které by mohly být použity jako náplně chemických zbraní (CHZ) (6, 29, 40, 50), nervově paralytické látky (NPL) patří

k nejaktuálnějším z nich (17). Podle informací, které dosud dodaly jednotlivé státy (do současné doby pouze dva), spektrum NPL jak v armádě USA, tak bývalého SSSR zahrnuje sarin, soman a látku VX (18, 19). U ostatních států tyto informace na dobrovolné bázi podány nebyly, takže je možné je zjistit pouze

ve výjimečných situacích (jako tomu bylo v případě Iráku). Spektrum otravných látek Iráku se v podstatě neliší od bývalého SSSR a USA, snad s výjimkou cyklosarinu (21).

Nervově paralytické látky patří do velké skupiny organofosfátů (OF), které zahrnují i organofosforové insekticidy (OFI) široce používané v zemědělství, některá léčiva, látky používané v průmyslu jako změkčovadla, hydraulické kapaliny apod. (4, 35, 37). Není tedy vyloučena možnost intoxikací náhodného, profesionálního nebo suicidalního charakteru, a proto efektivní léčba intoxikací OF obecně má význam nejen pro vojenskou, ale i civilní medicínu.

Z hlediska vojenského použití však spektrum zavedení NPL není optimální: u sarinu jeho relativně vysoká odparnost brání "efektivnímu použití" při zvýšených teplotách, a naopak prakticky nulová odparnost VX látky limituje její použití pouze na aerosol. Z tohoto hlediska byly hledány nové NPL, které by měly nižší odparnost než sarin a vyšší než VX. Tato snaha zřejmě vyústila v reálný efekt a byly zachyceny informace, které popisují NPL se střední těkavostí (intermediate volatility agent - IVA), jejíž odparnost by měla být větší než u VX látky, ale menší než u sarinu (42) s tím, že její toxicita je srovnatelná s nejznámějšími NPL. Její stálost je přitom o něco menší než NPL řady G (sarin, soman), což by předurčovalo její použití v binární munici. Byla vytipována její obecná struktura i v úvahu nejvíce přicházející sloučeniny (42).

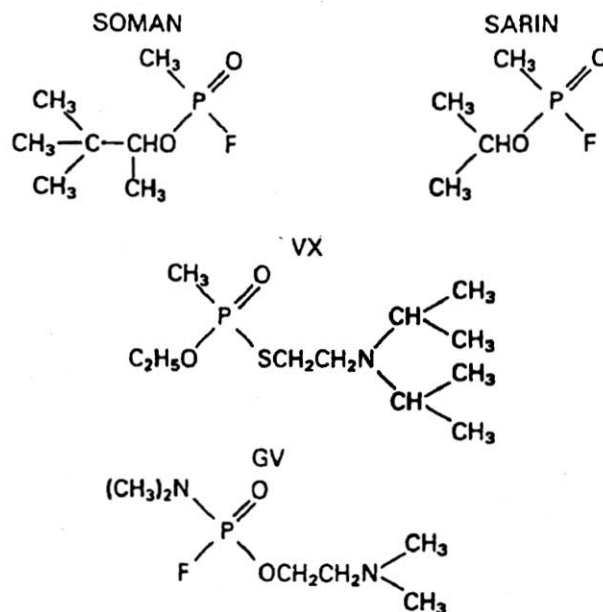
Zajímavým faktem přitom je skutečnost, že tato látka není zahrnuta (ani v obecné podobě) do spektra látek, které budou kontrolovány budoucí Úmluvou o zákazu chemických zbraní (17). Je možné však předpokládat, že po vstupu Úmluvy v platnost bude tato látka doporučena budoucí vědeckou radou (Scientific Advisory Board) k zahrnutí do spektra látek Úmluvou kontrolovaných.

Látka IVA byla již dříve charakterizována (8) jako NPL se střední těkavostí s poměrně vysokou toxicitou a relativní rezistencí k léčbě v současné době v AČR zavedenými antidotními prostředky. Tyto skutečnosti vedly ke snaze blíže specifikovat účinek možného představitele látky IVA, která byla syntetizována, včetně jejích modifikací ve VÚ 070 Brno. Obecně se jedná o 2-dialkylaminoalkyl-(dialkylamido)-fluorofosfáty.

Jsou to látky, které ve své molekule obsahují strukturu příbuznou látkám řady G (sarin, soman, tabun) i látkám řady V (VX). Tato skupina sloučenin je sice známa delší dobu (1, 24), avšak toxicita dosud popsaných látek, která by byla srovnatelná se současnými bojovými otravnými látkami, nebyla zjištěna.

Sloučeniny syntetizované ve VÚ 070 Brno a námi označené jako látky řady GV však měly toxicitu srovnatelnou se sarinem, somanem či VX, a to i při perkutánním podání (7). Nejjedovatější látkou z této skupiny byl dimethyl derivát, označovaný jako GV

[2-dimethylaminoethyl-(dimethylamido)-fluorofosfát] a jeho základní chemické a toxicitní charakteristiky byly již publikovány (5, 7, 8, 26, 27). Struktura nejznámějších NPL je uvedena na obr. 1.



Obr. 1 Vzorce nejznámějších NPL a GV látky

Mechanismus účinku NPL i méně toxických OFI je v podstatě totožný a tedy i základní mechanismus účinku GV látky se od ostatních neliší: zahrnuje inhibici cholinesteráz, především acetylcholinesterázy (AChE, E.C. 3.1.1.7) na cholinergních synapsích s následným hromaděním neuromediátoru acetylcholinu. Akumulace acetylcholinu vede k dalším metabolickým změnám (4-6, 8, 10), které se projevují zejména rozvrtem energetického a minerálního metabolismu a ve svém důsledku vedou k dysfunkci celé řady systémů nesouvisejících bezprostředně s cholinergním přenosem nervového vzruchu (8).

Vzhledem k vysoké toxicitě NPL obecně a GV zvláště je jasné, že jakékoliv ovlivnění koncentrace látky v organismu bude mít velký vliv na její toxicitu a následný efekt na organismus. Z tohoto důvodu je důležité získat informace o dějích, které koncentraci látky ovlivňují.

Mezi velmi důležité pochody v tomto smyslu by patřila detoxikace látky GV. V této otázce nebylo možné vycházet z literárních údajů, protože takové informace pro tento typ látek dosud popsány nebyly. Je známo, že látky řady G (sarin, soman) jsou v organismu detoxikovány (9, 20, 28, 51), zatímco látky řady V detoxikovány nejsou (9). Vzhledem k tomu, že strukturu látky GV je možno považovat za kombinaci obou typů, bylo nutné experimentálně tento děj ověřit. Je známo, že při detoxikaci organofosforových sloučenin obecně je důležitá role jater a plazmy. Zde existují specializované enzymy, triviálně označované

jako fosforylfosfatázy, schopné detoxikovat NPL i OFI. Biologická role těchto enzymů v současné době není známa (36, 49). Schopnost enzymů štěpit tyto látky byla aktivována kalciumem, magneziumem a manganem a inhibována kadmíem, rtuť a stříbrem. Aktivita jaterního enzymu byla pro jejich hydrolýzu důležitější než enzym v plazmě. Hladina podobného enzymu v mozku byla zanedbatelná (48, 49). Prioritní roli v mechanismu detoxikace by tedy měla mít játra (32, 47, 53).

Detoxikační schopnost jater je možno v podstatě sledovat dvěma způsoby. Jednak je možno ji pomocí chemických látek nebo jiných zásahů (např. hepatektomie) snížit (32, 47), nebo je možné naopak indukovat metabolickou aktivitu jater podáním např. barbiturátů (16), popř. dodat do organismu přímo enzym, na který se OF naváže (23), a ve všech případech pak sledovat sníženou, resp. zvýšenou hladinu či efekt daného OF. Tyto modely byly využity pro sledování detoxikace a toxicity různých OF a bylo prokázáno, že v případě látek řady G jsou tyto OF detoxikovány, zatímco látky řady V detoxikovány nejsou.

Dalším důležitým faktorem účinku NPL obecně je i jejich schopnost při intoxikaci reagovat na terapeutické zásahy. Zásady léčby intoxikací NPL i OF insekticidů jsou v podstatě stejná a zahrnují podávání anticholinergik a reaktivátorů cholinesteráz (4, 11, 35, 37, 40).

Z anticholinergik je nejvíce používán atropin, i když zejména zkušenosti z našeho pracoviště ukázaly výhodnost benactyzinu (4, 33, 52). U reaktivátorů existuje více možností: většinou jsou používány obidoxim nebo trimedoxim (4, 35, 37, 52). Kromě toho se jako velmi účinný ukázal methoxim (4, 52).

Přesto však tyto prostředky nejsou stejně účinné proti všem typům NPL, a proto je výzkum v této oblasti zaměřen na nové typy reaktivátorů, z nichž se jako perspektivní jeví 1-(2-hydroxyiminomethylpyridinium)-3-(4-karboxamidopyridinium)-2-oxapropan dihalogenid, označovaný jako HI-6 (6, 12, 33, 40, 52, 54).

O terapeutické účinnosti antidotních kombinací (anticholinergikum a reaktivátor) proti intoxikaci GV látkou byly dosud publikovány jen velmi omezené údaje z našeho pracoviště (33, 52): stresogenní účinek GV látky byl nejméně ovlivněn antidotní kombinací atropinu s reaktivátorem HI-6 a nejvíce kombinací téhož reaktivátoru s benactyzinem.

Cílem této práce bylo ověřit, zda látka GV je v játrech detoxikována, či nikoliv. Jako model byl vybrán organismus se sníženou detoxikační schopností jater v důsledku parciální hepatektomie či působením farmak. Dalším cílem této práce bylo ověřit účinek GV látky na některé fyziologické funkce a možnosti jejich terapeutického ovlivnění. Na základě získaných výsledků pak byl proveden odhad významu substituovaných skupin v molekule látky GV pro její toxické účinky.

Materiál a metody

Zvířata

V pokusech in vivo byla používána pokusná zvířata - bílí potkani (Velaz Praha, chov Wistar, samci) o hmotnostním rozmezí 220-280 g. Zvířata byla krmena standardní dietou ad libitum s volným přístupem k vodě. Pokusy na zvířatech byly prováděny pod dohledem Etické komise VLA JEP.

Aktivita AChE

Byla stanovena v krvi, pontomedulární oblasti mozku a bránici metodou Ellmana et al. (22) v naší modifikaci (3).

Hepatektomovaná zvířata

Postup hepatektomie byl popsán detailně v práci Bajgara et al. (11), takže zde uvádíme jen pokusné skupiny (n=6):

- a) kontrolní skupina - podán pouze fyziologický roztok (0,5 ml/kg),
- b) zvířata v této skupině byla jen intoxikována látkou GV (6 µg/kg, i. m.),
- c) slepě operovaná zvířata - v éterové narkóze provedeno otevření břišní dutiny bez hepatektomie,
- d) zvířata byla pouze narkotizována éterem,
- e) v éterové narkóze byla provedena hepatektomie dvou laloků jater podle Holečka et al. (30), rezultující v 65 ± 3 % resekce.

Zvířata ve skupinách c), d) a e) byla intoxikována GV látkou (6 µg/kg, i. m.) za 12 hodin po popsáních procedurách. Dávka GV reprezentovala přibližně $0,5 \times LD_{50}$ stanovené dříve na 4 skupinách intaktních zvířat v souhlase s publikovanými výsledky (7). Změny aktivity AChE u zvířat pouze hepatektomovaných stanovována nebyla, protože již dříve bylo prokázáno, že aktivita enzymu tímto zásahem nebyla ovlivněna (47).

Dvě hodiny po intoxikaci byla zvířata usmrcena, odebrány mozek, krev a bránice a v homogenátech tkání či hemolýzátech krve byla stanovena aktivita AChE. Aktivita byla vyjadřována jako µmol hydrolyzovaného substrátu/min/g tkáně (ml krve) nebo jako procento kontrolních hodnot.

Statistické hodnocení bylo provedeno pomocí příslušných programů na počítači Turbo 12 (Amer. Res. Ctr., USA) computer.

Tento přístup měl dovolit zjištění významu intaktních jater pro toxický efekt látky GV, avšak na jeho základě nebylo možné rozhodnout, zda převažují detoxikační procesy způsobené rozkladem GV látky, nebo ztráty GV látky způsobené vazbou na karboxylesterázy (EC 3.1.1.1).

K tomuto rozlišení bylo využito následujícího postupu:

Inhibice karboxylesteráz

Karboxylesterázy byly inhibovány podáním tri-o-kresylfosfátu (TOCP) v dávce 250 mg/kg (s. c.) 24 hodin před aplikací GV látky další skupině 6 zvířat. Uvedená dávka TOCP způsobuje prakticky kompletní inhibici aktivity karboxylesteráz v plazmě, kůži a játrech a nemá vliv na enzymy detoxikující (fosforylfosfatázy) (32). U této skupiny byla stanovena aktivita AChE v materiálech a metodou uvedenou výše. Skupinu byla pro odlišení označena jako TG. Přehled postupů včetně očekávaných odpovědí udává následující tabulka.

Tabulka 1

skupina	podmínky			očekávaná zbytková aktivita AChE (%)	interpretace
a)	F	12 h	F	100	normální průběh intoxikace, neměl by být ovlivněn narkózou ani slepou operací u b, c, d vazba na CaE a detoxikace v játrech předpokládány
b)	F	12 h	GV	50	
c)	slepá operace	12 h	GV	50	
d)	narkóza	12 h	GV	50	
e)	hepatektomie	12 h	GV	20	vazba na CaE snížena, detoxikace snížena, role jater významná
				50	vazba na CaE neovlivněna, detoxikace neovlivněna, role jater zanedbatelná
TG)	TOCP	24 h	GV	50	vazba na CaE vyloučena, převažuje detoxikace
				20	vazba na CaE vyloučena, nižší podíl detoxikace

Monitorování fyziologických funkcí

V pokusech byla používána anestezie thiopentalem v dávce 50 mg.kg⁻¹ i. p. Pro potřeby sledování srdeční frekvence, dechového volumu, hodnot středního krevního tlaku, snímání EKG křivky byla zvířata heparinizována (25 mg.kg⁻¹, S-Heparinoid, Léčiva Praha). Plicní ventilace byla sledována pomocí snímačů v průdušnici, EKG bylo snímáno pomocí podkožních jehlových elektrod z končetin zvířete fixovaného na vyhřívaném operačním stole, TK z vypreparované a. carotis. Podání otravné látky bylo realizováno i. m. způsobem, léčba pak buď i. m., resp. i. v. do vypreparované v. femoralis (max. objem 0,2 ml na 100 g hmotnosti). K registraci základních životních funkcí bylo použito zařízení firmy Hugo-Sachs-Electronic (Německo), zapisovače typu PN 8221 Philips (Holandsko) a ke snímání EKG NEK 401 elektrokardiograf firmy Messgärette-Zwönitz (Německo). Terapeutická účinnost používaných léčiv byla hodnocena dobou přežití zvířat po intoxikaci a za základní kritérium terapeutické účinnosti byla brána doba 24 hodin přežití od intoxikace.

V pokusných skupinách bylo 6 zvířat, v případech neúspěšnějších výsledků terapie intoxikací byly pokusy s tímto počtem zvířat ve skupině minimálně jednou opakovány s odstupem jednoho měsíce.

Použité dávky

GV látka byla používána v dávkách, které odpovídaly vždy násobku LD₅₀ pro i. m. podání (1, 2, 4 atd.). LD₅₀ látky GV pro i. m. podání byla 17,0 (15,5 až 23,6) µg.kg⁻¹ (7). Z řady anticholinergik byly použity následující látky:

ATR, atropin - v dávkách 0,5, 1, 2, 5, mg.kg⁻¹ i. v. nebo 10 a 20 % LD₅₀ pro i. v. podání

- v dávkách 5, 10 a 20 % dávky LD₅₀ pro i. m. podání.

BNZ, benaktyzin - v dávkách 2, 5 mg.kg⁻¹ i. v. nebo v dávkách 5, 10 a 20 % LD₅₀ pro i. m. podání.

Velikosti LD₅₀ pro tyto sloučeniny byly pro i. m. a i. v. podání u atropinu 1264 a 117,4 mg/kg, u benaktyzinu 184,7 a 30,6 mg/kg.

Reaktivátory cholinesteráz byly používány i. m. a i. v. v dávkách obvykle odpovídajících 10 a 20 % hodnot LD₅₀ pro daný způsob podání, jejichž hodnoty byly publikovány dříve (52). Z centrálních analeptik byla použita 9-antracen karboxylová kyselina, ANCA - v dávce 10, 30, 60 a 100 mg.kg⁻¹ i. v., resp. i. m. a jako doplňkové antikonvulzivum Diazepam - Faustan^R v dávce 0,1-0,3 mg.kg⁻¹ i. m.

Výsledky

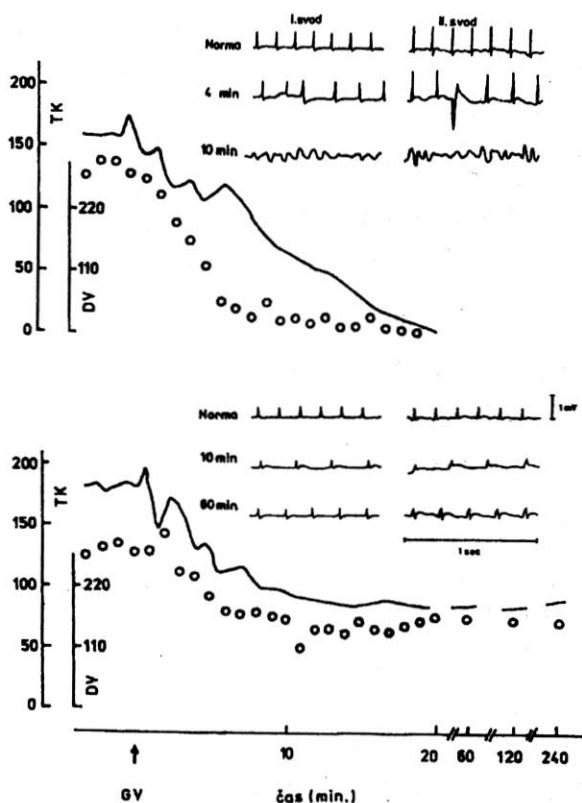
V úvodu výsledků s látkou GV je potřebné uvést symptomatologii intoxikace a dobu hynutí pokusných zvířat po dávce 2x LD₅₀ i. m. Do dvou až tří minut po injekci roztoku noxy do svalstva zadní končetiny se dostavuje u zvířat zvýšení orientačně pátrací aktivity, do pěti až šesti minut přezvykávání, zvýšené slinění, naježení srsti, plazení po boxu. Do 6 až 10 minut fascikulace svalstva hlavy, krku, předních a zadních končetin, za 10 až 12 minut tachypnoe, ztížené dýchání v inspiriu s lehem zvířete na břicho, zvednutou hlavou a nataženým krkem, za 14 až 15 minut tonicko-klonické křeče s dobou trvání 5-10 vteřin opakovaně, za 18 až 20 minut chromodacryorrhoea, velmi namáhavé dýchání v inspiriu i expiriu, smrt za 22 až 30 minut zástavou dýchání a následně srdeční činnosti. U vyšší dávky (4x LD₅₀ i. m.) byly tyto intervaly zkráceny - exitus byl pozorován zhruba do 10 minut po intoxikaci, naopak u dávek nižších než LD₅₀ se prodlužovaly (obr. 2).

Sumarizované výsledky potvrzují, že toxicita GV látky stanovená probit-logaritmicou metodou byla relativně vysoká, avšak časové konstanty ze všech pokusů (vysoké i nízké dávky) byly naopak posunuty směrem k delším hodnotám. Toxikologické konstanty pro i. m. podání látky GV potkanům udává následující tabulka.

Tabulka 2

LD ₅₀	17,0 (15,5-23,6)	μg/kg
CT	14,2 ± 4,4	min
LT	24,3 ± 4,2	min

Hodnoty udávají průměr s 95% mezemi spolehlivosti (LD₅₀), resp. průměry se směrodatnými odchylkami (CT a LT)



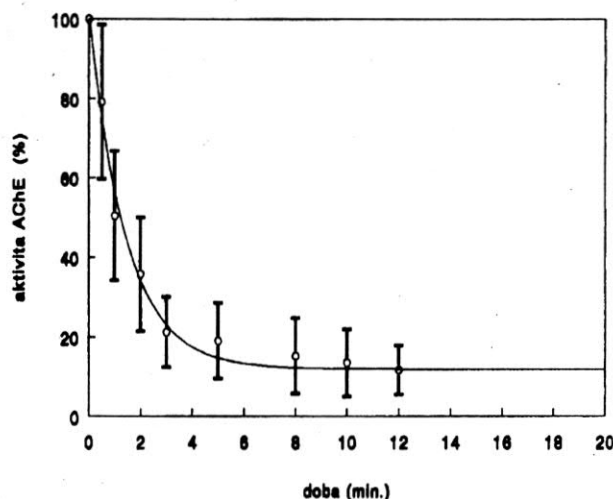
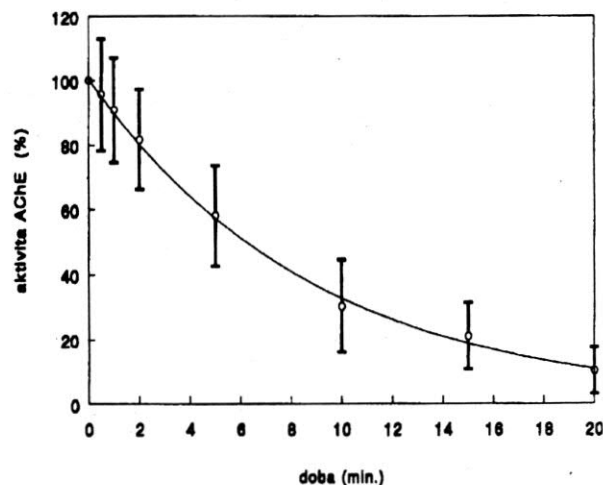
Obr. 2 Schematické znázornění změn EKG, hodnot středního krevního tlaku (TK) a minutového dechového volumu (DV) u neléčené intoxikace potkanů GV látkou v dávce 2x LD₅₀ i. m. (nahore) a u potkanů otrávených GV látkou v dávce 4x LD₅₀ i. m. a léčených i. v. kombinaci atropinu (11,7 mg/kg), benactyzinu (30 mg/kg) a HI-6 (140 mg/kg)

Aktivita krevní AChE byla v průběhu intoxikace GV látkou snížena (obr. 3a, b) v závislosti na dávce (2x a 4x LD₅₀), avšak skupiny příznaků (salivace, fascikulace, ztížené dýchání, křeče, exitus) u obou dávek byly pozorovány u téměř stejného stupně inhibice krevní AChE.

U hepatektomovaných zvířat byly výsledky odlišné. Čas výskytu křečí byl u skupiny hepatektomovaných zvířat statisticky signifikantně zkrácen (tab. 3 uvádí čas výskytu křečí u skupin pokusných zvířat, kterým byla i. m. podána látka GV v dávce 6 μg/kg.). Z výsledků vyplývá, že u narkotizovaných a slepě operovaných zvířat (skupiny c, d) nedošlo k ovlivnění časového výskytu křečí. Co se týká letality, u žádné ze čtyř skupin (b, c, d, e) nedošlo k úmrtí pokusných zvířat.

Změny aktivity AChE byly také rozdílné (obr. 4). Nebyly pozorovány statisticky signifikantní rozdíly ve

změnách aktivity krevní AChE ve skupinách b, c, d, tj. jen intoxikované, narkotizované se slepou operací a narkotizované.



Obr. 3 Změny aktivity krevní AChE potkanů otrávených i. m. GV látkou v dávce 2x LD₅₀ (obr. 3a) a 4x LD₅₀ (obr. 3b). Výsledky udávají průměry se směrodatnými odchylkami.

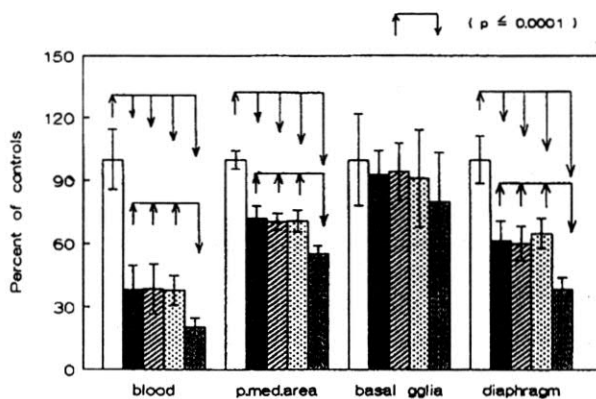
Tabulka 3

skupina b	18,7 ± 4,72
c	18,5 ± 4,51
d	19,3 ± 4,73
e	14,0 ± 4,13

Hodnoty udávají průměry se směrodatnými odchylkami

Ve srovnání s kontrolními hodnotami u zvířat, kterým byl podán pouze fyziologický roztok (skupina a), byla aktivita krevní AChE ve srovnání s experimentálními skupinami (b, c, d, e) signifikantně ($p < 0,0001$) nižší a blížila se přibližně 40 % normálních hodnot. Aktivita AChE ve skupině hepatektomovaných zvířat (skupina e) byla signifikantně nižší a blížila se asi 20 % kontrolních hodnot. Aktivita AChE v bránici a pontomedulární oblasti byla snížena u nehepa-

tektomovaných zvířat a byla statisticky signifikantně vyšší než aktivita pozorovaná v poslední skupině, tj. skupině zvířat s parciální hepatektomií. Aktivita AChE v bazálních gangliích se statisticky významně nelišila u všech skupin experimentálních zvířat, i když i zde určitá tendence k nižší hodnotě u hepatektomovaných zvířat (skupina e) naznačena byla.



Obr. 4 Změny aktivity AChE v krvi, částech mozku a bránici po i. m. intoxikaci GV látkou (6 µg/kg). Výsledky představují průměry se směrodatnými odchylkami. Šipky naznačují statisticky významné rozdíly mezi skupinami. Sloupce zleva doprava označují skupiny a) až d) tak, jak je uvedeno v metodické části.

U zvířat, kterým byl 24 hodin před intoxikací GV podán TOCP (skupina TG) se zbytková aktivita AChE prakticky nelišila ve srovnání se skupinou zvířat jen s podáním GV látky bez premedikace TOCP (skupina b). Pro celkovou orientaci jsou v tab. 4 uvedeny i absolutní hodnoty aktivity AChE v krvi a některých orgánech potkanů intoxikovaných GV látkou.

Tabulka 4

Aktivita AChE (% kontrolních hodnot)				
skupina	krev	pontomed.	b. ggla	diafrag.
kontrolní (a)	100 ± 14,6	100 ± 4,4	100 ± 22,1	100 ± 11,8
intoxikovaná jen GV (b)	36,8 ± 11,8	72,1 ± 5,9	92,6 ± 11,9	61,0 ± 10,3
premedikovaná TOCP a intoxikovaná GV (TG)	34,1 ± 12,3	69,1 ± 6,8	95,9 ± 12,8	55,3 ± 12,1

Absolutní hodnoty aktivity AChE byly 5,53 ± 0,81 (krev), 6,08 ± 0,27 (pontomedulární oblast), 45,3 ± 10,01 (bazální ganglia) a 2,54 ± 0,3 (bránice) µmol/min/g nebo ml.

Všechny výsledky jsou udávány jako průměry se směrodatnými odchylkami.

Léčba intoxikace GV látkou byla závislá na velikosti dávky GV a na způsobu terapie (podání léčiv i. m. nebo i. v.).

U intramuskulárního léčení intoxikace vyvolané dávkou 2x LD₅₀ i. m. se jako málo efektivní nebo neúčinné ukázaly tyto kombinace léčiv:

ATR 126, TMC 15, BNZ 18 mg.kg⁻¹ i. m. (zvířata hynula za 28 až 34 minut), ATR 126, TMC, BNZ 18,

diazepam (0,1) mg.kg⁻¹ i. m., zvířata hynula za 45 minut do 3 hodin 35 minut a ATR 126, TMC 30, diazepam (0,5) mg.kg⁻¹ i. m. - doba hynutí zvířat byla od intoxikace 34 minut až 3 hodiny 45 minut. Nejúčinnější kombinací byla BNZ 37 a HI-6 140 mg.kg⁻¹ i. m., ze 6 pokusných zvířat všech 6 přežilo 24 hodin.

U intramuskulárního léčení intoxikace vyvolané dávkou 4x LD₅₀ i. m. dokázala tato léčebná směs (BNZ 37 a HI-6 140 mg.kg⁻¹ i. m.) uchovat při životě 3 ze 12 pokusných zvířat po dobu delší než 24 hodin. Zbývající zvířata hynula za několik hodin.

U intravenózního léčení intoxikace vyvolané látkou GV i. m. byla na dalších skupinách zvířat ověřována terapeutická účinnost látek, které se ukázaly jako účinná léčiva při intoxikacích vyvolaných jinými NPL, zejména sarinem a somanem. Léčiva byla podávána i. v. způsobem následně po předchozí intoxikaci dávkami 2x a 4x LD₅₀ látky GV i. m. Z řady zkoušených kombinací byly málo účinné ATR 5,0, BNZ 5,0, TMC 6,5 a ANCA 30 mg.kg⁻¹ i. v. při intoxikaci dávkou 2x LD₅₀ GV (zvířata pokusné skupiny uhynula do 7 hodin).

U léčení intoxikace dávkou 4x LD₅₀ GV i. m. v kombinaci léčiv i. v. podáním bezprostředně po intoxikaci vykazovaly velmi nízký terapeutický efekt kombinace ATR 23 + ANCA 30 mg.kg⁻¹, MMC 35 + ANCA 30 mg.kg⁻¹, ATR 11,7, BNZ 30, MMC 35, ANCA 30 mg.kg⁻¹ a ATR 11,7, BNZ 30, obidoxim 180, ANCA 30 mg.kg⁻¹, kdy ani jedna z nich nedokázala navodit stav, aby zvířata přežila dobu 24 hodin a déle po intoxikaci. Relativně nejlepší byla kombinace ATR 11,7, BNZ 30, HI-6 140 mg.kg⁻¹ anebo ATR 11,7, BNZ 30, HI-6 140, ANCA 30 mg.kg⁻¹, kdy se doba přežití pokusných zvířat po intoxikaci GV látkou pohybovala od 5-24 hodin (obr. 2b).

Diskuse

Z výsledků pokusů na zvířatech intoxikovaných GV látkou je zřejmá vysoká toxicita této látky po i. m. podání, rychle nastupující symptomy otravy zahrnující typické muskarinové (salivace, dýchací potíže, změny na očích, defekace, mikce) a nikotinové příznaky (třes, záškuby, křeče kosterního svalstva, změny srdeční frekvence a hemodynamiky). Bezprostřední příčinou uhynutí pokusných zvířat je zástava dechu a srdeční činnosti. Postupné zhoršování oxygenace tkání má nejmarkantnější dopad na srdeční sval (bradykardie, poruchy vedení vzruchu, blokáda převodu, síňové, komorové extrasystoly, mihání síní a komor, asystolie, selhávání srdce jako pumpy). Bez terapie zvířata rychle hynou v závislosti na koncentraci podané noxy.

Tyto symptomy otravy GV látkou jsou velmi podobné příznakům, které jsou pozorovány pro otravy látkami jak G-, tak V-skupiny. Časový průběh otravy GV je však ve srovnání se sarinem a somanem prodloužen, ale je kratší než průběh otravy látkou VX (6, 34). Ztížené dýchání a poruchy cirkulace po účinku

NPL obecně byly pozorovány dříve (37, 40, 43, 54). Kardiovaskulární selhávání je závislé na dávce a je způsobeno zřejmě stimulací muskarinových receptorů, sníženým minutovým srdečním volumem a hypotenzí (40). Hypotenze a oběhové selhání bylo popsáno jako příčina smrti u intoxikace somanem (54). V případě VX jsou více vyjádřeny také periferní známky otravy (5).

Z tohoto srovnání je jasné, že účinek GV látky je dvojího druhu, jak centrální (ve větší míře), tak periferní (v menší míře), takže mechanismus jejího účinku se více blíží látkám skupiny G. V této souvislosti není bez zajímavosti, že větší podobnost látky GV se skupinou G látek byla pozorována i pro detoxikační schopnost jater. Enzymatická detoxikace OF byla poprvé popsána Mazurem (41). Existuje celá řada enzymů schopných hydrolyzovat různé typy OF, jako je např. sarin, paraoxon, DFP atd. Enzymy katalyzující tuto reakci jsou především lokalizovány v játrech, odkud mohou být uvolňovány do krevního oběhu, a jsou ovlivňovány různými faktory, jako jsou pH, teplota, koncentrace iontů apod. (15, 20, 28).

Detoxikace je závislá na chemické struktuře OF: fosfonofluoridáty detoxikovány jsou, fosfonthioláty jsou k detoxikaci rezistentní (2, 9). Dalším enzymem, který se účastní na detoxikaci, jsou karboxylesterázy. OF se totiž na tyto enzymy váže a navázaná část je pro další toxický efekt bezvýznamná. Koncentrace volného OF in vivo tedy může být snížena v zásadě dvěma procesy:

- hydrolyza, buď spontánní (neenzymatická), nebo enzymatická, katalyzovaná A-esterázami a fosforylfosfatázami, nebo
- ireverzibilní vazbou na karboxylesterázy nebo jiné proteiny (20).

Jak bylo ukázáno dříve u somanu, jeho akutní toxicita je velmi závislá na jeho schopnosti být detoxikován (14, 32, 38, 44). Určitá role karboxylesteráz jater v ovlivnění toxicity nejen somanu, ale i sarinu a tabunu byla demonstrována dříve za použití indukce aktivity karboxylesteráz fenobarbitálem (16) nebo dodáním přečištěného enzymu (23). Shapira a spol. (45) navíc došli k závěru, že nejen játra, ale i plíce jsou hlavním cílovým orgánem pro detoxikaci somanu. O GV látce podobné studie známy nejsou.

Jestliže srovnáme časový průběh intoxikace GV látkou (tato práce) a somanem (47), je jasné, že u intoxikace GV je průběh prodloužen. Srovnání některých toxikologických konstant somanu a GV látky uvádí následující tabulka.

Tabulka 5

Konstanta (rozměr)		soman	GV
LD ₅₀	(μg/kg)	73,1	17,0
CT	(min)	2,68	14,2
LT	(min)	10,06	24,3

Hodnoty jsou vyjádřeny pouze jako průměry.

Tento fakt podporuje myšlenku o podobnosti látek skupiny GV ke skupině V látek, u kterých je průběh intoxikace prodloužen také. Letální efekt zkoumané látky byl charakterizován prudkým průběhem závislosti letalita versus dávka. Tento prudký průběh svědčí o selektivním účinku na jeden nebo jen velmi málo systémů. Současně však tento prudký průběh může vysvětlovat i rozdíly v letalitě vysoce toxických NPL, které byly popsány různými laboratoři.

Toto srovnání mohlo být provedeno pouze pro soman, protože pro GV látku podobná data neexistují: jestliže srovnáme údaje Shiha a spol. (46) na potkaních samcích různého stáří, toxicita somanu při i. m. podání vzrůstala s věkem: od 122 μg/kg zvířata 30 dní stará k 70 μg/kg zvířata stará 240 dní. Jimmerson a spol. (31) stanovili toxicitu somanu při s. c. podání v průběhu 24 hodin na 110 μg/kg. Na druhé straně Gupta a spol. (25) demonstrovali, že s. c. dávka somanu 100 μg/kg nebyla letální. Tyto údaje podporují naše pozorování s tím, že srovnání LD₅₀ pro GV bylo možné pouze pro poslední výsledky (5-7).

Srovnání toxicit pro soman a GV látku jasně prokazují vyšší letální efekt látky GV. V podobných experimentech se somanem při podání dávky 0,5x LD₅₀ (tj. neletální dávka) byl pozorován pouze výskyt příznaků bez smrtelného efektu. Na druhé straně u hepatektomovaných zvířat asi 1/3 uhynula. Tento fakt může být vysvětlen sníženou schopností jater (v důsledku hepatektomie) metabolizovat zmíněné NPL, protože po takto provedené operaci zůstává pouze 35 % jater zachováno pro normální funkci (30).

Inhibice AChE způsobená somanem in vivo (47) ukázala, že v krvi, kde je inhibice nejvyšší (což by svědčilo o relativně vysoké koncentraci somanu), je současně i odpovídající inhibice AChE způsobená GV látkou (tj. její koncentrací) (tato práce) a inhibice po podání jak somanu, tak GV v ostatních cílových orgánech je o něco nižší. V této souvislosti je nutno se zmínit o pozorováních Purshottama a Srinivastavy (44), kteří došli k závěru, že indukce plazmové karboxylesterázy je pro ovlivnění toxicity somanu daleko důležitější než aktivita tohoto enzymu v játrech. Tito autoři současně demonstrovali při podání somanu v dávce 0,5x LD₅₀, že aktivita jaterní mikrosomální karboxylesterázy je inhibována prakticky nevýznamně (snížení o 7 %) a tedy že tato aktivita není pro toxikodynamiku somanu rozhodující.

Také Maxwell a spol. (39) popsali za použití mnohočetné regresní analýzy model intoxikace somanem, ze kterého vyplývá, že detoxikační schopnost jater je nejdůležitějším parametrem ovlivňujícím toxicitu somanu. Vazba na karboxylesterázy by se tohoto děje podle matematické extrapolace modelu měla účastnit asi 15-20 %, větší část by měla být způsobena hydrolyzou somanu (asi 70 %).

Naše práce svědčí pro to, že játra hrají významnou roli při toxikodynamice otravy somanem (47) a podobné závěry učinil i Jokanovic (32). Na základě těchto výsledků je možné předpokládat, že koncentrace

volného somanu se může zvyšovat jako důsledek buď snížení vazebných míst serinu esteráz jater (malý podíl - asi 1/10), nebo jako důsledek hydrolýzy somanu (většina) demonstrováné v izolovaných játrech (51) a po částečné hepatektomii (32, 47). V případě látky GV je prakticky nemožné získané výsledky porovnávat, protože podobné údaje se v literatuře nevyskytují. Pro tuto látku je pouze známo - vyjma základních toxikologických údajů - že je silným inhibitorem cholinesteráz a AChE inhibovaná GV je prakticky nereaktivovatelná (5). Z našich současných výsledků vyplývá, že tato sloučenina je v játrech detoxikována. Svědčí o tom naše poslední výsledky s podáním TOCP a následnou intoxikací GV látkou.

Jokanovic (32) prokázal, že použitá dávka TOCP do 17 až 18 hodin ireverzibilně zablokuje aktivitu karboxylesteráz v plazmě a kůži prakticky úplně a v játrech nejméně na 85-90 %. Tyto výsledky jen upřesňují výsledky Boškoviče a spol. (13), kteří došli k podobným závěrům. Oba citovaní autoři současně uvádějí, že aktivita fosforylfosfatáz nebyla ovlivněna. Nepřímo o posledně uvedeném faktu svědčí i naše výsledky o prakticky stejném inhibičním efektu GV látky u intaktních a TOCP premedikovaných (tj. s velmi nízkou aktivitou karboxylesteráz) zvířat. Pokud by se totiž významně uplatňovala vazba GV na karboxylesterázy, musel by být efekt u TOCP premedikovaných zvířat podstatně vyšší.

Z tohoto hlediska je možné usuzovat, že funkční skupina, která je u tohoto typu látek společná s V látkami (2-dialkylaminoalkyl) by mohla mít menší význam než fluor, který je charakteristický pro látku skupiny G. Jestliže srovnáme naše výsledky s látkou GV s publikovanými údaji pro soman, může být uzavřeno, že normální funkční kapacita jater hraje velmi důležitou roli ovlivňující toxicitu obou zkoumaných sloučenin. Větší podíl na snížení koncentrace somanu má přitom jeho hydrolýza a ne vazba na karboxylesterázy.

Z výsledků pokusů o terapeutické ovlivnění průběhu intoxikace látkou GV symptomatickou a kauzální terapií je možné konstatovat, že o účinku atropinu není pochyb, jak uvádí řada literárních prací (4, 33, 35, 37, 54). Benaktyzin jako centrálně účinnější anticholinergikum (33, 52) je však vhodný u intoxikace GV látky také a kombinace obou se jeví jako optimální. Samotné podání anticholinergika je však neúčinné stejně tak jako izolované podání reaktivátoru. Při srovnání účinku reaktivátorů je možné vyčlenit jako nejúčinnější HI-6.

Jeho perspektivnost potvrzená i při intoxikaci GV látkou v našich pokusech byla popsána pro intoxikaci somanem (37, 54), sarinem i VX látkou (4, 5, 43). Podpůrně účinkující látky (např. benzodiazepiny a centrální stimulancia dechových center) u intoxikace GV látkou nejsou účinné, což je zajímavý fakt, protože tyto látky vykazovaly dobré terapeutické výsledky při intoxikacích VX a sarinem (4, 12, 35, 37, 52). Z těchto výsledků je zřejmé, že zaměření výzkumu na studium a vývoj reaktivátoru HI-6 je plně oprávněné a význač-

ným způsobem by zlepšilo možnosti terapie intoxikací NPL.

Závěry

1. Pro toxický efekt GV látky je velmi důležitá neporušená funkce jater.
2. Látka GV je v játrech detoxikována zřejmě mechanismem její hydrolýzy.
3. Vazba GV látky na karboxylesterázy jater a dalších tkání bude mít na ovlivnění inhibičního efektu na AChE zřejmě minimální podíl.
4. Pro toxický účinek GV látky bude mít zřejmě důležitější roli substituce fluorem (charakteristická pro látku G) než skupina charakteristická pro látku V.
5. Stupeň inhibice cholinesteráz v krvi odpovídá typu příznaků, a to i v rozmezí dávek od 0,5-4x LD₅₀.
6. Při léčbě intoxikace GV látkou jsou z anticholinergik nejúčinnější benaktyzin a atropin. Nejlepšího účinku bylo dosaženo kombinací obou látek při dostatečně vysokém dávkování.
7. Z kauzálních antidotních prostředků byl ze zkoušených reaktivátorů cholinesteráz terapeuticky nejúčinnější HI-6.
8. Samotné podání anticholinergika nebo reaktivátoru bylo terapeuticky velmi málo účinné.
9. Podpůrně účinkující látky, jako je centrální stimulans dechových center - 9-antracen karboxylová kyselina a diazepam se sedativním, antikonvulzivním a myorelaxačním působením, nebyly v případě intoxikací GV látkou účinné.
10. Léčebně se zkoušenými kombinacemi a koncentracemi použitých látek podařilo zvládnout akutní intoxikace vyvolané dávkou 2x LD₅₀ GV látky na velmi dobré úrovni a dávkou 4x LD₅₀ GV látky na uspokojivé úrovni.
11. Z praktického hlediska potřeby unifikace terapeutických prostředků použitelných v rámci terapie intoxikací vyvolaných NPL (první pomoc, předlékařská, lékařská, odborná, specializovaná pomoc) se jeví i z výsledků těchto pokusů jako nanejvýš potřebné realizovat zavedení reaktivátoru typu HI-6 do zdravotnické výbavy AČR.

Souhrn

Byla sledována aktivita acetylcholinesterázy v krvi, pontomedulární oblasti a bazálních ganglií mozku a bránici po intoxikaci subletální dávkou (i. m., 6 µg/kg) 2-dimethylaminoethyl-(dimethylamido)-fluorofosfátem (GV) ve skupinách potkanů (n=6), které byly 12 hodin před intoxikací podrobeny následujícím vlivům: intaktní, hepatektomované, slepě operované a narkotizované. Aktivita acetylcholinesterázy byla snížena ve všech sledovaných materiálech kromě bazálních ganglií u všech skupin, přičemž u hepatektomovaných

zvířat byl pokles aktivity enzymu statisticky významně nižší než u skupin bez hepatektomie. Podání tri-o-kresylfosfátu (s. c., 250 mg/kg), které působí výrazně selektivní snížení aktivity karboxylesteráz, a následně intoxikaci GV látkou v téže dávce ukázalo prakticky totožný pokles aktivity acetylcholinesterázy jako u skupin bez hepatektomie. Výsledky svědčí pro významnou roli jater v detoxikaci GV látky.

Snížení aktivity krevní cholinesterázy proporcionálně odpovídá výskytu příznaků, a to pro vyšší i nižší použitou dávku. Výsledky pokusů s terapií intoxikace GV látkou u potkanů ukázaly, že nejúčinnější terapeutický efekt je možné dosáhnout kombinací benactyzinu, atropinu a HI-6 u intoxikací u dávky $2 \times LD_{50}$ GV, zcela limitní z hlediska přežití doby 24 hodin jsou dávky $4 \times LD_{50}$ GV látky.

Reaktivátor HI-6 je tedy možno považovat za látku, která nejvíce splňuje předpoklad univerzálně použitelného reaktivátoru a výsledky terapie intoxikací NPL, včetně GV, jednoznačně podporují jeho zavedení do zdravotnické výbavy AČR jako prostředku první pomoci a lékařské pomoci.

Literatura

- AMOS, J. et al.: The reactions of N, N-dimethylphosphoramidic difluoride with diols, alkanolamines, diamines and alcohols. *Phosphorus*, 6, 1975, s. 35-42.
- AQUILONIUS, S. M. - FREDRIKSSON, T. - SUNDWALL, A.: Studies on phosphorylated thiocholine and choline derivatives. I. General toxicology and pharmacology. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 6, 1964, s. 269-279.
- BAJGAR, J.: Stanovení aktivity acetylcholinesterázy v lidské krvi - možná modifikace pro polní použití. *Voj. zdrav. Listy*, 41, 1972, č. 2,3?, s. 78-80.
- BAJGAR, J.: Intoxikace organofosforovými inhibitory cholinesteráz: účinek, diagnóza a terapie. *Novinky v medicíně* č. 34, Praha, Avicenum 1985, s. 1-40.
- BAJGAR, J.: Biological monitoring of exposure to nerve agents. *Brit. J. Ind. Med.*, 49, 1992, s. 648-653.
- BAJGAR, J. - FUSEK, J. - HRDINA, V.: *Vojenská toxikologie*. Uč. texty, sv. 260. Hradec Králové, VLA JEP 1991. 266 s.
- BAJGAR, J. et al.: Acute toxicities of 2-dialkylaminoalkyl-(dialkylamido)-fluorophosphates. *Physiol. Res.*, 41, 1992, s. 399-402.
- BAJGAR, J.: Necholinergní účinky organofosfátů. *Čas. Lék. čes.*, 132, 1993, s. 513-517.
- BAJGAR, J. et al.: Detoxication of phosphonothioates and phosphonofluoridates in the rat. *Acta biol. med. Germ.*, 37, 1978, s. 1261-1265.
- BAJGAR, J. et al.: Biochemická syndromologie akutní otravy organofosfáty. *Biochem. clin. bohemoslov.*, 6, 1977, s. 87-97.
- BAJGAR, J. - FUSEK, J. - SKOPEC, J.: Anticholinesterase action of highly toxic organophosphate in hepatectomized rats. *Pharmac. Pharmacol. Lett.* 1994, in press.
- BINENFELD, Z.: New possibilities in first aid and treatment of nerve agents poisoning. International Conference Combatting the Use of CBW. ICHP Geneva 1989, s. 137-138.
- BOŠKOVIČ, B. et al.: Soman and sarin detoxicating enzymes in different animal species. In: International Meeting on Esterases Hydrolysing Organophosphorus Compounds. Dubrovnik, Yugoslavia, 24-27 April 1988. Book of Abstracts, p. 10.
- BROOMFIELD, C. A. et al.: Organophosphorus acid anhydride hydrolases that lack chiral specificity. In: *Enzymes hydrolysing organophosphorus compounds* (E. Reiner, W. N. Aldridge, F. C. G. Hoskin, Eds.) Ellis Horwood Ltd., J. Wiley and Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto 1989, s. 79-89.
- CHEMNITIUS, J. M. et al.: Organophosphate detoxication in perfused rat liver. *Comp. Biochem. Physiol.*, 76C, 1983, s. 85-93.
- CLEMENT, J. G.: Effect of pretreatment with sodium pentobarbital on the toxicity of soman in mice. *Biochem. Pharmacol.*, 32, 1983, s. 1411-1415.
- Dokument OSN. Report of the Conference on Disarmament. General Assembly, Official Records. Forty-seventh Session. Suppl. No. 27 (A/47/27). United Nations, New York 1992, pp.107-289. (Draft Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on their Destruction).
- Dokument OSN. Information on the presentation at the Shikany military facility of standard chemical munitions and of technology for the destruction of chemical weapons at a mobile unit. CD/789, SSSR, 1987a, pp. 1-54.
- Dokument OSN. Chemical Stockpile Disposal Program. CD/711, USA, 1987b, pp. 1-53.
- DONGEN, C. J. van et al.: In vitro degradation of the stereoisomers of soman in guinea-pig, mouse and human skin. *Biochem. Pharmacol.*, 38, 1989, s. 2263-2268.
- DUNN, P.: Chemical defence and chemical disarmament - the need for both activities. Proceedings, Fourth International Symposium on Protection Against Chemical Warfare Agents, Stockholm, Sweden, June 8-12, 1992, National Defence Research Establishment, Umea 1992, s. 9-23.
- ELLMAN, G. L. et al.: A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7, 1961, s. 88-95.
- FONNUM, F. - STERRI, P. A. - JOHNSEN, H.: Carboxylesterases: importance for detoxification of organophosphorus anticholinesterases and trichothecenes. *Fund. Appl. Toxicol.*, 5, 1985, S29-S38.
- GORDON, J. J. et al.: The delayed neuropathic effects of nerve agents and some organophosphorus compounds. *Arch. Toxicol.*, 52, 1983, s. 71-82.
- GUPTA, R. C. - PATTERSON, G. T. - DETTBARN, W. D.: Biochemical and histochemical alterations following acute soman intoxication in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 87, 1987, s. 393-402.
- HALÁMEK, E. - KOBLIHA, Z.: The ion associates of methyl-, ethyl-, and isopropyl derivatives of dialkylaminoethyl dialkylamidofluorophosphate with bromophenol blue. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 57, 1992, s. 56-63.
- HALÁMEK, E. et al.: Identification of the product of spontaneous decomposition of model compound with intermediate volatility (in Czech). In: *Sborník VVŠ PV Vyškov*. 13. Vyškov 1988, s. 2. 28.
- HAN, G. Y. et al.: Specific detection and properties of enzyme hydrolyzing phosphonate ester in serum. *Clin. Chem.*, 38, 1992, s. 377-380.
- HERINK, J. - BAJGAR, J.: Základní toxikologická charakteristika některých neurotoxinů odvozených od struktury aziridinu. In: *Sborník věd. prací VLA Hradec Králové*. 116. Hradec Králové 1993, s. 97.
- HOLEČEK, M. et al.: Effect of branched chain amino acids on liver regeneration after partial hepatectomy. *Physiol. Bohemoslov.*, 34, 1985, s. 359-366.
- JIMMERSON, V. R. - SHIH, T. M. - MAILMAN, R. B.: Variability in soman toxicity in the rat: correlation with biochemical and behavioral measures. *Toxicology*, 57, 1989, s. 241-254.
- JOKANOVIC, M.: Liver esterases and soman toxicity in the rat following partial hepatectomy. *Biochem. Pharmacol.*, 39, 1990, s. 797-799.
- KASSA, J. - BAJGAR, J.: Srovnání efektu vybraných anticholinergik na cholinergní a necholinergní účinky GV látky během akutní intoxikace potkana. *Čs. Farm.*, 1994, v tisku.
- KOPLWITZ, I. - STEWART, J. R.: A comparison of the efficacy of HI6 and 2-PAM against soman, tabun, sarin, and VX in the rabbit. *Toxicol. Lett.*, 70, 1994, s. 269-279.
- LOTTI, M.: Treatment of acute organophosphate poisoning. *J. Med. Austral.*, 154, 1991, s. 51-55.
- MACKNESS, M. I.: "A-esterases." *Enzymes looking for a role?* *Biochem. Pharmacol.*, 38, 1989, s. 385-390.
- MARRS, T. C.: Organophosphate poisoning. *Pharmac. Therap.*, 58, 1993, s. 51-66.

38. MAXWELL, D. M. et al.: The effects of blood flow and detoxification on in vivo cholinesterase inhibition by soman in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 88, 1987, s. 66-76.
39. MAXWELL, D. M. - VLAHACOS, C. P. - LENZ, D. E.: A pharmacodynamic model for soman in the rat. *Toxicol. Lett.*, 43, 1988, s. 175-188.
40. MAYNARD, R. L. - BESWICK, W.: Organophosphorus compounds as chemical warfare agents. In: Ballantyne, B., Marrs, T. C. (Eds.), *Clinical and Experimental Toxicology of Organophosphates and Carbamates*. Butterworth and Heinemann, Oxford, 1992, s. 373-384.
41. MAZUR, A.: An enzyme in the animal organism capable for hydrolysis diisopropyl fluorophosphate. *Fed. Proc.*, 5, 1946, s. 147.
42. Pomůcka: Chemické zbraně a protichemická ochrana kapitalistických armád. Zprav-51-7/1, Praha 1984, s. 34-35.
43. PRESTON, E. - HEATH, C.: Atropine-insensitive vasodilatation and hypotension in the organophosphate-poisoned rabbit. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 200, 1972, s. 231-244.
44. PURSHOTTAM, T. - SRINIVASTAVA, R.: Role of carboxylesterase in protection against soman toxicity. *Pharmacology*, 38, 1989, s. 319-326.
45. SHAPIRA, S. et al.: Effects of CBDP and MEPQ on the toxicity and distribution of /3H/-soman in mice. *Arch. Toxicol.*, 64, 1990, s. 663-668.
46. SHIH, T. M. et al.: Age-related differences in soman toxicity and in blood and brain regional cholinesterase activity. *Brain Res. Bull.*, 24, 1990, s. 429-436.
47. SKOPEC, F. - BAJGAR, J.: Changes of acetylcholinesterase activity in hepatectomized rats following soman poisoning. In: Sborník věd. Prací LF UK Hradec Králové. 35. Hradec Králové 1992, s. 247.
48. SMOLEN, A. et al.: Characteristics of the genetically determined allozymic forms of human serum paraoxonase/arylesterase. *Drug. Metab. Dispos.*, 19, 1991, s. 107-112.
49. SOGORB, M. A. et al.: Effect of some metallic cations and organic compounds on the O-hexyl O-2,5-dichlorophenyl phosphoramidate hydrolysing activity in hen plasma. *Arch. Toxicol.*, 67, 1993, s. 416-421.
50. STANĚK, J.: Chemická válka: od řeckého ohně až po žlutý déšť. *Chem. Listy*, 85, 1991, s. 827-839.
51. STERRI, S. H. et al.: The mechanism of soman detoxification in perfused rat liver. *Biochem. Pharmacol.*, 32, 1983, s. 1941-1943.
52. VACHEK, J. et al.: Novější způsoby léčby intoxikace organofosfáty. In: Sborník věd. Prací VLA Hradec Králové. 116. Hradec Králové 1993, s. 67.
53. WAHLANDER, A. - SZINICZ, L.: Detoxification of soman in the perfused rat liver: quantitative uptake and stereoisomer metabolism. *Arch. Toxicol.*, 64, 1990, s. 586-589.
54. WOREK, F. - SZINICZ, L.: Analysis of cardiovascular and respiratory affects of various doses of soman in guinea-pigs: efficacy of atropine treatment. *Arch. Pharmacodyn. Therap.*, 325, 1993, s. 96-112.

Klíčová slova: Acetylcholinesteráza; Detoxikace; Srdeční a dechové funkce; NPL; Laboratorní potkan.

Poděkování

Autoři děkují paní R. Věříšové, M. Zechovské a L. Kriesfalusyové za technickou spolupráci, T. Voříškové a mjr. ing. J. Cabalovi, CSc. za pomoc při počítačovém zpracování některých grafů a paní H. Roobové za přípravu rukopisu. Práce vznikla v rámci řešení vnitřního grantu VLA JEP č. 9303/10.

Do redakce došlo 23. 6. 1994