

# VOJENSKÉ ZDRAVOTNICKÉ LISTY

ROČNÍK LXVIII

ZÁŘÍ 1999

ČÍSLO 4

615.9:623.459.46:615.529:616-08-092.9:599.323.4

## VLIV DOBY PODÁNÍ ANTIDOTNÍ TERAPIE NA JEJÍ ÚČINNOST VŮČI TOXICITĚ SOMANU U MYŠÍ

Pplk. doc. MUDr. Jiří KASSA, CSc.  
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové  
(rektor: plk. doc. MUDr. Svatopluk Býma, CSc.)

### Úvod

Přes dlouhodobou znalost mechanismu účinku vysoce toxické organofosforové (OF) sloučeniny somanu (pinakolyl methylfluorofosfonát) je efekt antidotní terapie akutní intoxikace touto noxou stále neuspokojivý (3, 6, 12). Antidotní terapie, skládající se z anticholinergik a reaktivátorů acetylcholinesterázy (AChE, EC 3.1.1.7), sice zasahuje přímo proti základnímu mechanismu účinku somanu - ireverzibilní inhibici AChE, ale důsledky toxického účinku somanu eliminuje nedostatečně (9, 10).

Z anticholinergik se nejčastěji pro antidotní terapii otrav OF sloučeninami používá atropin sulfát s převahou periferního antimuskarinového účinku, z reaktivátorů AChE se používají především monopyridiniové (pralidoxim) nebo bispyridiniové oximy (obidoxim, trimedoxim, metoxim), které svým nukleofilním atakem obnovují aktivitu fosforylované AChE. Bohužel v případě akutních intoxikací somanem není efekt výše uvedených antidot dostatečný (3, 10).

Významným posunem v efektu antidotní terapie akutních otrav somanem se stal objev asymetrických bispyridiniových oximů, které jsou známy pod názvem H-oximy (4). Nejvíce sledovaným H-oximem se z hlediska ovlivnění otrav somanem stal oxim HI-6 ([[(4-aminocarbonyl)pyridinio]methoxy]methyl]-2-[(hydroxyimino)methyl]pyridinium dichlorid) z důvodu relativně vyšší účinnosti při eliminaci toxických účinků somanu ve srovnání s jinými oximy (9, 10, 12, 17). Terapeutický efekt oximu HI-6 je

zřejmě dán nejen jeho vysokou reaktivací účinností vůči fosforylované AChE na periférii, ale také některými přímými farmakologickými účinky, jako je přerušení OF sloučeninou indukované blokády neuromuskulární transmise, přímý antimuskarinový efekt či ganglion blokující efekt (16, 20). Nevýhodou oximu HI-6 je jeho nižší centrální účinek ve srovnání s účinkem periferním z důvodu jeho obtížné penetrace přes hematoencefalickou bariéru (1, 2).

Obecně je známo, že efekt antidotní terapie může být ovlivněn vedle výběru antidot i jejich dávkou a dobou podání. Lze očekávat, že s rostoucí dávkou antidot a se zkrácením doby, která uplyne mezi intoxikací a léčbou, poroste i jejich terapeutická účinnost (7, 11).

Cílem této práce je posoudit vliv doby podání oximu HI-6 v kombinaci s atropinem na jeho schopnost eliminovat toxické účinky somanu v případě experimentální intoxikace myši.

### Materiál a metody

Jako pokusná zvířata byli použiti samci bílých myší kmene NMRI chovu Konárovice o hmotnosti 18-22 g. Myši byly krmeny standardní Larsenovou dietou a vodou ad libitum.

Skupinám po 6 zvířatech byl soman podáván intramuskulárně (i. m.) v dávce odpovídající dvojnásobku námi zjištěné hodnoty LD<sub>50</sub> (8). Oxim HI-6 v kombinaci s atropinem (21 mg/kg) byl podáván i. m. buď profylakticky (v různých časových inter-

valech před intoxikací somanem), nebo terapeuticky (v různých časových intervalech po intoxikaci somanem). Přitom byla zjišťována taková účinná dávka oximu HI-6, která by v kombinaci s danou dávkou atropinu (21 mg/kg) zajistila 24hodinové přežití alespoň poloviny somanem exponovaných myší (hodnota  $ED_{50}$ ).

Příslušné hodnoty  $ED_{50}$  oximu HI-6 s intervaly spolehlivosti na 95% hladině významnosti (95% IS) byly počítány probitovou metodou (18). Bezpečnost zjištěných efektivních dávek oximu HI-6 byla poté ověřována pomocí poměru mezi hodnotou  $LD_{50}$  oximu HI-6 u myší (9) a zjištěnou hodnotou  $ED_{50}$  (SR).

### Výsledky

Hodnoty střední účinné dávky ( $ED_{50}$ ) oximu HI-6 schopné při profylaktickém podání v kombinaci s atropinem eliminovat toxické účinky supraletální dávky somanu v závislosti na čase podání jsou uvedeny v tabulce 1. Z nich vyplývá, že oxim HI-6 působí nejúčinněji, je-li podán do 30 minut před intoxikací somanem. Když je interval mezi profylaktickým podáním antidotu a intoxikací somanem delší, je potřeba k eliminaci toxických účinků somanu mnohem větší dávky oximu HI-6. Při jednohodinové profylaxi je potřeba k přežití poloviny exponovaných zvířat již dávka oximu HI-6 odpovídající 20 % hodnoty její střední smrtné dávky ( $LD_{50}$ ), při dvouhodinové profylaxi je oxim HI-6 v terapeutických dávkách neúčinný.

Tabulka 1

**Vliv doby podání na profylaktickou účinnost oximu HI-6 v kombinaci s atropinem při supraletální intoxikaci myší somanem**

| Doba podání HI-6 s atropinem | $ED_{50}$ (mg/kg) 95% IS | SR ( $LD_{50}/ED_{50}$ ) |
|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| dvouhodinová profylaxe       | > 140,0                  | < 4,8                    |
| jednohodinová profylaxe      | 132,5 (122,0-144,0)      | 5,1                      |
| třicetiminutová profylaxe    | 4,9 (3,0-8,0)            | 136,5                    |
| pětiminutová profylaxe       | 3,5 (2,4-5,0)            | 192,9                    |

Hodnoty  $ED_{50}$  oximu HI-6 schopné při terapeutickém podání v kombinaci s atropinem eliminovat toxické účinky stejné supraletální dávky somanu v závislosti na čase podání jsou uvedeny v tabulce 2. Z nich vyplývá, že oxim HI-6 musí být podán bezprostředně po intoxikaci somanem, má-li být dostatečně účinný v terapeutických dávkách. Je-li oxim HI-6 s atropinem podán za více než 2 minuty

po supraletální intoxikaci somanem, je v terapeutických dávkách prakticky neúčinný.

Tabulka 2

**Vliv doby podání na terapeutickou účinnost oximu HI-6 v kombinaci s atropinem při supraletální intoxikaci myší somanem**

| Doba podání HI-6 s atropinem | $ED_{50}$ (mg/kg) 95% IS | SR ( $LD_{50}/ED_{50}$ ) |
|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| třicetisekundová terapie     | 6,7 (4,2-10,7)           | 100,4                    |
| jednominutová terapie        | 11,4 (8,1-16,2)          | 58,7                     |
| dvominutová terapie          | 36,2 (32,1-40,8)         | 18,5                     |
| třiminutová terapie          | > 140,0                  | < 4,8                    |

### Diskuse

Přes ratifikaci Úmluvy o zákazu chemických zbraní více než 65 států světa (včetně České republiky) není nebezpečí zneužití vysoce toxických OF sloučenin pro vojenské, ale i teroristické cíle zažehnáno (15). Proto je tak důležité najít nejen optimální složení antidotní kombinace určené k eliminaci toxických účinků těchto tox, ale umožnit také její podání v optimálním čase z hlediska jejího účinku, zvláště když některé OF sloučeniny způsobují obtížně léčitelné akutní intoxikace. Mezi nejobtížněji léčitelné akutní otravy patří především otrava somanem (6, 12, 19). Příčinou obtížnosti terapie somanových intoxikací je především velmi rychlá dealkylace kovalentně vázaného somanu na AChE, která znemožňuje nukleofilní účinek reaktivátorů AChE, a dále postupné uvolňování somanu z depotních míst, které vede k inhibici již jednou reaktivované AChE v místech jeho toxického účinku (5, 14).

Za dosud nejúčinnější antidotní kombinaci určenou k terapii akutních somanových intoxikací je považována kombinace oximu HI-6 s anticholinergikem atropinem nebo benaktyzinem (6, 12, 19). Nicméně ani tato antidotní terapie není vždy uspokojivě účinná a velmi záleží na tom, kdy je podána a v jakých dávkách. Uvedené výsledky jasně prokázaly, jak mnoho závisí efekt léčby na době podání antidotu. Oxim HI-6 v kombinaci s atropinem má, jak se ukázalo, poměrně vysokou účinnost i jako profylaktikum, ale musel by být při i. m. způsobu podání aplikován poměrně krátce před případnou intoxikací (do 30 min), neboť jeho účinnost s dobou mezi profylaxí a intoxikací rychle klesá, zřejmě z důvodu rychlého poklesu hladiny HI-6 v krvi (19).

V případě terapeutického podání antidotu je závislost účinku na čase ještě výraznější, zřejmě z důvodu prudce se snižující schopnosti oximu HI-6

reaktivovat somanem inhibovanou AChE v čase vzhledem k velmi rychlé dealkylaci komplexu enzym-inhibitor (3, 13). V nízkých dávkách, které jsou doporučeny pro člověka (do 2 % LD<sub>50</sub>), je oxim HI-6 v kombinaci s atropinem účinný pouze do 1 minuty po intoxikaci. V případě dvouminutového intervalu mezi intoxikací a terapií roste účinná dávka oximu HI-6 již na 5 % LD<sub>50</sub> a v případě třeminutového intervalu mezi intoxikací a léčbou není oxim HI-6 dostatečně účinný ani v maximálních experimentálních terapeutických dávkách (do 20 % LD<sub>50</sub>).

Tato práce potvrdila nezbytnost aplikace první dávky antidot samotným zasaženým jedincem pomocí autoinjektoru, neboť faktor času se zdá být rozhodujícím pro efekt antidotní léčby a možnost přežití po supraletální intoxikaci somanem. Získané údaje také ukázaly na možnost profylaktického využití oximu HI-6 v případě somanových intoxikací, ale pouze v případě zvolení jiné cesty podání oximu, neboť při i. m. podání je oxim HI-6 v terapeutických dávkách účinný pouze do 30 minut před intoxikací.

### Souhrn

Na myších samcích byla sledována terapeutická účinnost kombinace reaktivátoru acetylcholinesterázy HI-6 s atropinem vůči akutní intoxikaci somanem v závislosti na době podání dané kombinace antidot.

Při posuzování vlivu doby podání oximu HI-6 v kombinaci s atropinem na toxicitu somanu se ukázalo, že v případě profylaktického podání antidot je jejich účinnost nejvyšší, jsou-li podána méně než 30 minut před vlastní intoxikací somanem. V případě terapeutického podání antidot je jejich účinnost nejvyšší, jsou-li podána prakticky okamžitě po intoxikaci, nejlépe do 1 minuty po podání somanu. Z těchto výsledků vyplývá, že časový faktor podání antidot hraje z hlediska účinnosti dané kombinace antidot vůči toxicitě somanu velmi významnou roli.

### Poděkování

Autor děkuje paní J. Petrové za technickou spolupráci a za pomoc při statistickém zpracování výsledků a Ing. J. Bielskému za syntézu oximu HI-6.

### Literatura

1. CASSEL, GE. - FOSBRAEY, P.: Measurement of the oxime HI-6 after peripheral administration in tandem with neurotransmitter level in striatal dialysates: effects of soman intoxication. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 1996, vol. 35, p. 159-166.

2. CLEMENT, JG.: HI-6: reactivation of central and peripheral acetylcholinesterase following inhibition of soman, sarin and tabun in vivo in the rat. *Biochem. Pharmacol.*, 1982, vol. 31, p. 183-187.
3. DAWSON, RM.: Review of oximes available for treatment of nerve agent poisoning. *J. Appl. Toxicol.*, 1994, vol. 14, no. 5, p. 317-331.
4. HAGEDORN, I., et al.: Reaktivierung Phosphorylierter Acetyl-Esterase. Isomer bisquartere salze von pyridin-aldoximen. *Arzneim-Forsch*, 1978, vol. 28, p. 2055-2057.
5. KADAR, T., et al.: Distribution of <sup>3</sup>H-soman in mice. *Arch. Toxicol.*, 1985, vol. 58, p. 45-49.
6. KASSA, J.: Comparison of efficacy of two oximes (HI-6 and obidoxime) in soman poisoning in rats. *Toxicology*, 1995, vol. 101, p. 167-174.
7. KASSA, J.: Vliv dávky oximu HI-6 na reaktivaci somanem inhibované acetylcholinesterázy v bránici a vybraných částech mozku potkana. *Acta Medica (Hradec Králové) Suppl.*, 1997, roč. 40, č. 1. s. 17-21.
8. KASSA, J.: Vliv opakované antidotní terapie na toxicitu somanu u myši. *Voj. zdrav. Listy*, 1997, roč. 64, č. 2, s. 44-46.
9. KASSA, J.: A comparison of the therapeutic efficacy of conventional and modern oximes against supralethal doses of highly toxic organophosphates in mice. *Acta Medica (Hradec Králové)*, 1998, vol. 41, no. 1, p. 19-21.
10. KASSA, J. - CABAL, J. - BAJGAR, J. - SZINICZ, L.: The choice: HI-6, Pralidoxime or Obidoxime against Nerve Agents? *The ASA Newslett.*, 1997, vol. 97-4, p. 16-18.
11. KOPLOVITZ, I., et al.: Dose-response effects of atropine and HI-6 treatment of organophosphorus poisoning in guinea pigs. *Drug Chem. Toxicol.*, 1995, vol. 18, p. 119-136.
12. KOPLOVITZ, I. - STEWART, JR.: A comparison of the efficacy of HI-6 and 2-PAM against soman, tabun, sarin and VX in the rabbit. *Toxicol. Lett.*, 1994, vol. 70, p. 169-179.
13. LINGENSTEIN, DA. - KOSSEN, SP.: Kinetic profile in blood and brain of the cholinesterase reactivating oxime HI-6 after intravenous administration to the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1983, vol. 71, p. 177-183.
14. MARRS, TC.: Organophosphate poisoning. *Pharmacol. Ther.*, 1993, vol. 58, p. 51-66.
15. OHTOMI, S. - TAKASE, M. - KUMAGAI, F.: Sarin poisoning in Japan. A clinical experience in Japan Self Defense Force (JSDF) Central Hospital. *Int. Rev. Arm. Med. Ser.*, 1996, vol. 69, p. 97-102.
16. ROUSSEAU, CG. - DUA, AK.: Pharmacology of HI-6, an H series oxime. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1989, vol. 67, p. 1183-1189.
17. SHIH, TM.: Comparison of several oximes on reactivation of soman-inhibited blood, brain and tissue cholinesterase activity in rats. *Arch. Toxicol.*, 1993, vol. 67, p. 637-646.
18. TALLARIDA, R. - MURRAY, R.: Manual of pharmacological calculation with computer programs. New York, Springer-Verlag, 1987. 145 p.
19. VACHEK, J. - KASSA, J. - FUSEK, J. - BAJGAR, J.: Novější způsoby léčby intoxikace organofosfáty. *Sbor. věd. Prací VLA JEP Hradec Králové*, 1993, roč. 116, s. 67-95.
20. VAN HELDEN, HPM., et al.: Pharmacological effects of oximes: how relevant are they? *Arch. Toxicol.*, 1996, vol. 70, p. 779-786.

Klíčová slova: Soman; HI-6; Atropin; ED<sub>50</sub>; SR; Myš.

Do redakce došlo 14. 5. 1999