

623.459.49:615.525:616-092.9

VLIV OPAKOVANÉ ANTIDOTNÍ TERAPIE NA TOXICITU 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

Přestože soman patří mezi nejdéle známé vysoce toxické organofosforové (OF) sloučeniny, nebylo dosud dosaženo uspokojivého efektu antidotní terapie akutní intoxikace touto noxou (8, 17). Klasická antidotní terapie akutní intoxikace OF sloučeninami se skládá z anticholinergik, která zabraňují nadměrné stimulaci cholinergních receptorů acetylcholinem (ACh), a z oximů, které reaktivují OF sloučeninami inhibovanou acetylcholinesterázu (AChE, EC 3.1.1.7) (8). Mezi dosud nejpoužívanější formy antidotní terapie akutních intoxikací OF sloučeninami patří kombinace obidoximu (Toxogonin^R) nebo pralidoximu (2-PAM) s atropinem (8). Nicméně soman (pinacolyl methylfluorofosfonát) je ze všech dosud známých vysoce toxických OF sloučenin nejvíce rezistentní vůči této terapii (16, 22, 23).

Za účelem zvýšení efektu antidotní terapie akutních otrav vysoce toxickými OF sloučeninami byla vyvinuta nová série biskvarterních oximů, které byly označeny jako H-oximy (21). Z nich je dosud nejvíce studován oxim HI-6 (1-[[[(4-aminocarbonyl)pyridinio]methoxy]methyl]-2-[(hydroxy-imi-no)methyl]pyridinium dichlorid monohydrát), který je považován za dosud nejúčinnější oxim proti akutní otravě somanem (8, 16, 21, 22, 23). Ukázalo se totiž, že oxim HI-6 má vedle reaktive ireverzibilně inhibované AChE celou řadu jiných terapeutických účinků, jako je přímý efekt na cholinergní receptory, na uvolňování ACh, na obnovu neuromuskulární transmise a neurotransmise v CNS (18, 21). Nevýhodou oximu HI-6 je nižší reaktivační efekt v centrálním kompartmentu ve srovnání s periférií z důvodu obtížného přestupu přes hemato-encefalickou bariéru (HEB) (14). Přesto byl centrální účinek oximu HI-6 jednoznačně prokázán (3, 5, 6). Oxim HI-6 je obvykle kombinován při terapii akutních otrav OF sloučeninami s atropinem, i když podle některých autorů je účinnější v kombinaci s centrálně působícími anticholinergiky, jako je benaktyzin (BNZ) nebo biperiden (Akineton^R) (15, 25).

Přesto ani terapie somanové akutní intoxikace oximem HI-6 v kombinaci s anticholinergikem není uspokojivá, neboť zvyšuje hodnotu střední smrtné dávky somanu (LD_{50}) pouze na 2-3násobek (25). Jedním z důvodů relativně malé účinnosti antidotní terapie akutní otravy somanem jsou pozdní účinky somanu způsobující úmrtí otrávených pokusných zvířat ještě 24 až 48 hodin po otravě. Z tohoto dů-

vodu jsme se pokusili zvýšit efekt antidotní terapie prodloužením přetrvávání terapeutické hladiny antidot v plazmě cestou opakovaní dané antidotní léčby.

Materiál a metody

Jako pokusná zvířata byli použiti samci bílých myší kmene NMRI chovu Konárovice o hmotnosti 18-23 g. Myši byly krmeny standardní Larsenovou dietou a napájeny vodou ad libitum.

Skupinám po 6 zvířatech byl soman podáván intramuskulárně (i. m.) v postupně se zvyšujících dávkách a byla sledována úmrtnost pokusných zvířat do 24 a 48 hodin po intoxikaci. Zvířata, která přežila intoxikaci, byla ponechána do 7. dne na pozorování za účelem vyloučení pozdního úmrtí. Některým skupinám myší byl podáván i. m. oxim HI-6 (33,6 mg/kg) v kombinaci s jedním ze tří anticholinergik v ekvivalentní dávce (atropin 21 mg/kg, BNZ 8,5 mg/kg, biperiden 9,4 mg/kg), a to buď jednorázově za 1 minutu po intoxikaci, nebo opakovaně za 1, 60 a 240 minut po otravě.

Příslušné hodnoty LD_{50} s intervaly spolehlivosti na 95% hladině významnosti (95% IS) byly počítány probitovou metodou (20). Efekt jednotlivých kombinací antidot při jednorázovém i opakovaném podání byl posuzován pomocí indexu účinnosti (IU) (vzájemný poměr zjištěných hodnot LD_{50}).

Výsledky

Hodnoty LD_{50} neléčené i léčené intoxikace somanem jsou uvedeny v tabulce 1 (24hodinové přežívání pokusných zvířat) a v tabulce 2 (48hodinové přežívání pokusných zvířat). Z nich vyplývá, že bez léčby se hodnota LD_{50} somanu při i. m. podání u myší pohybuje kolem 100 μ g/kg. Jednorázové podání oximu HI-6 v kombinaci s anticholinergikem 1 minutu po intoxikaci signifikantně zvýšilo hodnotu LD_{50} somanu na 2,5 až 3násobek ($p < 0,05$). Přitom nejvyššího vzestupu hodnoty LD_{50} bylo dosaženo v případě kombinace oximu HI-6 s BNZ (IU = 3,12 pro 24hodinové přežití). Rozdíly v efektu jednorázové léčby kombinací antidot však nebyly výběrem anticholinergika statisticky významně ovlivněny.

Tabulka 1

Vliv jednorázové a opakované antidotní terapie na hodnotu střední smrtné dávky (LD₅₀) somanu při 24hodinovém přežívání myši

| Intoxikace | Terapie | | LD ₅₀ (µg/kg) ± 95% IS | Index účinnosti |
|------------|----------------------|-------------|-----------------------------------|-----------------|
| neléčená | ---- | ---- | 99,4 (92,4 - 106,9) | ---- |
| léčená | HI - 6 atropin | jednorázová | 264,8 (246,5 - 283,4) * | 2,66 |
| | | opakovaná | 268,8 (248,1 - 291,3) * | 2,70 |
| | HI - 6 benaktyzin | jednorázová | 309,9 (274,7 - 349,6) * | 3,12 |
| | | opakovaná | 335,0 (305,6 - 367,3) * | 3,37 |
| | HI - 6 biperiden | jednorázová | 299,2 (281,2 - 318,4) * | 3,01 |
| | | opakovaná | 299,9 (283,1 - 317,3) * | 3,02 |

Vysvětlivky: Údaje označené * mají statistickou významnost (p < 0,05)

Tabulka 2

Vliv jednorázové a opakované antidotní terapie na hodnotu střední smrtné dávky (LD₅₀) somanu při 48hodinovém přežívání myši

| Intoxikace | Terapie | | LD ₅₀ (µg/kg) ± 95% IS | Index účinnosti |
|------------|----------------------|-------------|-----------------------------------|-----------------|
| neléčená | ---- | ---- | 99,4 (92,4 - 106,9) | ---- |
| léčená | HI - 6 atropin | jednorázová | 257,8 (235,8 - 282,0) * | 2,59 |
| | | opakovaná | 264,8 (246,5 - 283,4) * | 2,66 |
| | HI - 6 benaktyzin | jednorázová | 287,7 (253,9 - 326,0) * | 2,89 |
| | | opakovaná | 335,0 (305,6 - 367,3) * | 3,37 |
| | HI - 6 biperiden | jednorázová | 287,2 (265,5 - 310,7) * | 2,89 |
| | | opakovaná | 293,7 (274,3 - 314,3) * | 2,96 |

Vysvětlivky: Údaje označené * mají statistickou významnost (p < 0,05)

Pokud byla antidotní terapie podávána opakovaně (1, 60 a 240 minut po intoxikaci), došlo u všech tří antidotních kombinací (HI-6 + atropin, HI-6 + BNZ, HI-6 + biperiden) k mírnému vzestupu efektu léčby oproti jednorázovému podání stejných kombinací antidot. Index účinnosti se pohyboval v rozmezí 2,7 až 3,4. Tento vzestup efektu léčby však nebyl statisticky významný. Ani rozdíly v účinnosti opakované antidotní terapie v závislosti na výběru anticholinergika nebyly signifikantní s výjimkou rozdílu mezi kombinací oximu HI-6 s atropinem a BNZ. Opakované podávání oximu HI-6 v kombinaci s BNZ signifikantně zvýšilo hodnotu LD₅₀ somanu ve srovnání s opakovaným podáváním oximu HI-6 s atropinem (p < 0,05) bez ohledu na čas přežití pokusných zvířat (tab. 1, 2).

Diskuse

Hlavními příčinami obtížné terapie otravy somanem je jednak rychlá dealkylace komplexu enzym-inhibitor znemožňující reaktivační účinek oximů (2),

jednak pozdní účinky somanu. Soman totiž na rozdíl od ostatních vysoce toxických OF sloučenin způsobuje úmrtí intoxikovaných pokusných zvířat ještě dlouho po odeznění příznaků akutní cholinergní krize. Příčinou těchto pozdních účinků somanu je zřejmě schopnost somanu uchovat se částečně v organismu v intaktní podobě ve formě depot, postupně se z depotních míst uvolňovat a způsobovat reinhibici již jednou reaktivované AChE (11, 13, 26).

Při i. m. podání oximu HI-6 dochází během 10 minut k absorpci poloviny podané dávky (poločas absorpce činí 0,17 ± 0,05 h) a během 70-80 minut dochází k eliminaci poloviny podané dávky (poločas eliminace činí 1,15 ± 0,19 h) (1, 7, 12). Problémem zůstává omezená doba účinnosti oximu v organismu. Terapeutická hladina v plazmě je dosažena při i. m. podání během 5 minut (4 µg/ml) a udrží se přibližně 50-120 minut (9, 10, 12). Podobně atropin je po i. m. podání z poloviny absorbován během 7 minut a eliminován během 52 minut (24). Pro udržení terapeutické hladiny oximu i anticholinergika v plazmě za účelem zabránění

pozdním účinkům somanu je nutno podávat antidota buď v permanentní intravenózní infuzi, nebo opakovaně v i. m. injekcích (12). V našich experimentech byl oxim HI-6 v kombinaci s anticholinergikem za účelem prodloužení terapeutické hladiny v plazmě podáván opakovaně v i. m. injekcích, ale efekt této opakované léčby byl pouze nesignifikantně vyšší než efekt jednorázově podaných antidot. To znamená, že prodloužení terapeutické hladiny oximu HI-6 a anticholinergika samo o sobě k dostatečnému efektu terapie nestačí.

Srovnání efektu kombinací oximu HI-6 s různými anticholinergiky vůči somanu potvrdilo, že výhodnější je kombinovat oxim HI-6 s centrálně působícími anticholinergiky z důvodu méně vyjádřeného efektu HI-6 v centrálním kompartmentu ve srovnání s periférií (3, 5, 14, 25). V případě otravy somanem je centrální účinek antidot zvláště významný, protože soman působí hlavně v mozku otrávených pokusných zvířat (4, 19).

Souhrn

V pokusech na myších samcích byl testován vliv opakované antidotní terapie oximem HI-6 v kombinaci s anticholinergikem (atropin, benaktyzin, biperiden) na toxicitu organofosforové sloučeniny somanu cestou ovlivnění hodnoty střední smrtné dávky (LD_{50}) při 24 a 48hodinovém přežívání pokusných zvířat.

Pokud je oxim HI-6 v kombinaci s anticholinergikem podáván opakovaně v průběhu akutní intoxikace somanem, dochází k mírnému vzestupu hodnoty LD_{50} oproti jednorázovému podání téže antidotní léčby, ale toto zvýšení není signifikantní. To znamená, že opakované podání sledovaných kombinací antidot nevede ke statisticky významnému zlepšení efektu léčby u akutní intoxikace tímto vysoce toxickým organofosfátem.

Poděkování

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

Literatura

- BAGGOT, J. D.: Application of interspecies scaling to the bispyridinium oxime HI-6. *Am. J. Vet. Res.*, 55, 1994, č. 5, s. 689-691.
- BAJGAR, J. - FUSEK, J. - VACHEK, J.: Treatment and prophylaxis against nerve agent poisoning. *The ASA Newsl.*, 94-4, 1994, č. 43, s. 10-11.
- BAJGAR, J. - MICHALEK, H. - BISSO, G. M.: Differential reactivation by HI-6 in vivo of paraoxon-inhibited rat brain acetylcholinesterase molecular forms. *Neurochem. Int.*, 26, 1995, č. 4, s. 347-350.
- BRANDEIS, R. et al.: Prevention of soman-induced cognitive deficits by pretreatment with human butyrylcholinesterase in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 46, 1993, č. 4, s. 889-896.
- CASSEL, G. R. - FOSBRAEY, P.: Measurement of the oxime HI-6 after peripheral administration in tandem with neurotransmitter levels in striatal dialysates: effect of soman intoxication. *J. Pharmacol. Toxicol. Met.*, 35, 1996, č. 3, s. 159-166.
- CLEMENT, J. G.: Central activity of acetylcholinesterase oxime reactivators. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 112, 1992, s. 104-109.
- CLEMENT, J. G. et al.: The acetylcholinesterase oxime reactivator HI-6 in man: pharmacokinetics and tolerability in combination with atropine. *Biopharm. Drug Disp.*, 16, 1995, s. 415-425.
- DAWSON, R. M.: Review of oximes available for treatment of nerve agent poisoning. *J. Appl. Toxicol.*, 14, 1994, č. 5, s. 317-331.
- GÖRANSSON-NYBERG, A. et al.: Treatment of organophosphate poisoning in pigs: antidote administration by a new binary autoinjector. *Arch. Toxicol.*, 70, 1995, s. 20-27.
- GÖRANSSON-NYBERG, A. et al.: Pharmacokinetics of HI-6 and atropine in anaesthetized pigs after administration by a new autoinjector. *Biopharm. Drug Disp.*, 16, 1995, s. 635-651.
- GRUBIČ, Z. - TOMAŽIČ, A.: Mechanism of action of HI-6 on soman inhibition of acetylcholinesterase in preparations of rat and human muscle; comparison to SAD-128 and PAM-2. *Arch. Toxicol.*, 63, 1989, s. 68-71.
- JOVANOVIČ, D. - RANDĚLOVIČ, S. - JOKSOVIČ, D. - TODOROVIČ, V.: Pharmacokinetics of HI-6 oxime in patients with acute organophosphorus insecticide poisonings. *Vojnosanit. Pregl.*, 50, 1993, č. 1, s. 27-31.
- KADAR, T. et al.: Distribution of 3H -soman in mice. *Arch. Toxicol.*, 58, 1985, s. 45-49.
- KASSA, J.: Comparison of efficacy of two oximes (HI-6 and obidoxime) in soman poisoning in rats. *Toxicology*, 101, 1995, s. 167-174.
- KASSA, J. et al.: A comparison of the efficacy of cholinolytics atropine and biperiden (Akineton[®]) in combination with HI-6 on cholinergic and stressogenic effects of soman in rats. *Homeostasis*, 37, 1996, č. 3, s. 135-136.
- KOPLOVITZ, I. - STEWART, J. R.: A comparison of the efficacy of HI-6 and 2-PAM against soman, tabun, sarin and VX in the rabbit. *Toxicol. Lett.*, 70, 1994, s. 269-279.
- MARRS, T. C.: Organophosphate poisoning. *Pharmac. Ther.* 58, 1993, s. 51-66.
- MELCHERS, B. P. C. et al.: Non-activating effects of HI-6 on hippocampal neurotransmission. *Arch. Toxicol.*, 69, 1994, s. 118-126.
- NIEMINEN, S. A. et al.: P.: Acute behavioural effects of the organophosphates sarin and soman in rats. *Pharmacol. Toxicol.*, 67, 1990, s. 36-40.
- ROTH, Z. et al.: Statistické metody v experimentální medicíně. 1. vyd. Praha, Avicenum 1962. 589 s.
- ROUSSEAU, C. G. - DUA, A. K.: Pharmacology of HI-6, an H - series oxime. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 67, 1989, s. 1183-1189.
- SHIH, T. M. - WHALLEY, Ch. E. - VALDES, J. J.: A comparison of cholinergic effects of HI-6 and pralidoxime-2-chloride (2-PAM) in soman poisoning. *Toxicol. Lett.*, 55, 1991, s. 131-147.
- SHIH, T. M.: Comparison of several oximes on reactivation of soman-inhibited blood, brain and tissue cholinesterase activity in rats. *Arch. Toxicol.*, 67, 1993, s. 637-646.
- THIERMANN, H. et al.: Pharmacokinetics of atropine after i. m. injection with newly developed dry/wet combination autoinjectors containing HI6 or HL67. *Arch. Toxicol.*, 70, 1996, s. 293-299.
- VACHEK, J. - KASSA, J. - FUSEK, J. - BAJGAR, J.: Novější způsoby léčby intoxikace organofosfáty. *Sbor. věd. Prací VLA JEP Hradec Králové*, 116, 1993, s. 67-95.
- WOLTHUIS, O. - BERENDS, F. - MEETER, E.: Problems in the therapy of soman poisoning. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1, 1981, s. 183-189.

Klíčová slova: Soman; HI-6; Atropin; Benaktyzin; Biperiden; LD_{50} ; Index účinnosti; Myš.

Do redakce došlo 12. 11. 1996