

615.78-099:577.153.9.014:599.323.4:615.784.2

VLIV DÁVKY OXIMU HI-6 NA JEHO ÚČINNOST PŘI PROFYLAXI ČI TERAPII OTRAVY MYŠÍ SOMANEM

Jiří KASSA

Katedra toxikologie Vojenské lékařské akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové

Souhrn

Na myších byla sledována profylaktická a terapeutická účinnost reaktivátoru acetylcholinesterázy HI-6 vůči akutní otravě somanem v závislosti na jeho dávce.

Srovnání hodnot střední smrtné dávky (LD_{50}) somanu při intoxikaci ovlivněné oximem HI-6 v kombinaci s atropinem prokázalo, že dávka oximu HI-6 výrazně ovlivňuje jeho účinek bez ohledu na to, zda byl podán profylakticky nebo terapeuticky. Nejvyšší účinnosti bylo dosaženo při podání oximu HI-6 v maximální terapeutické dávce. Přitom nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl v účinnosti oximu při srovnání profylaktického a terapeutického podání s výjimkou maximální terapeutické dávky.

Dosažené výsledky potvrdily praktický význam skutečnosti, že oxim HI-6 může být díky relativně nízké toxicitě pro savce podáván v poměrně vysoké terapeutické dávce ve srovnání s jinými dosud používanými reaktivátory acetylcholinesterázy.

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

The Influence of the Oxime HI-6 Dose on Its Prophylactic or Therapeutic Efficacy in Soman Poisoning in Mice

Summary

The dose-dependent prophylactic and therapeutic efficacy of the acetylcholinesterase reactivator HI-6 against soman-induced acute toxicity was investigated.

A comparison of the LD_{50} values of soman in cases of acute poisoning treated with the oxime HI-6 in combination with atropine showed that the dose of the oxime HI-6 had a marked influence on its efficacy regardless of its prophylactic or therapeutic administration. The highest efficacy was achieved when the oxime HI-6 was administered at a maximum dose. A significant difference between prophylactic and therapeutic administration of HI-6 was only found in cases where there was a maximum dose of HI-6.

Our results confirm how important it is that the oxime HI-6 be administered at relatively high doses because of its low toxicity in comparison with other currently used acetylcholinesterase reactivators.

Key words: Soman; HI-6; Atropine; LD_{50} ; Safety ratio; Mouse.

Úvod

Vysoce toxický organofosfát (OF) soman (pinakolyl methylfluorofosfonát) se liší od ostatních vysoce toxických OF především vysokou rychlostí dealkylace komplexu enzym-inhibitor, která znemožňuje reaktivaci somanem inhibované acetylcholi-

nesterázy (AChE, EC 3.1.1.7) (1), a schopností uvolňovat se z depotních míst a způsobovat reinhibici již jednou reaktivované AChE (5). Z těchto důvodů je akutní intoxikace somanem vysoce rezistentní vůči standardní antidotní terapii, skládající se z anticholinergik a reaktivátorů AChE (3, 6, 10, 16, 17). Z anticholinergik se nejčastěji používá atropin sul-

fát s převahou periferního antimuskarinového účinku, z reaktivátorů AChE klasické monopyridiniové (pralidoxim) nebo bispyridiniové oximy (obidoxim), které jsou však v případě akutní intoxikace somanem prakticky neúčinné (7). Významný posun v efektu reaktivátorů AChE proti otravě somanem představují H-oximy, z nichž především oxim HI-6 ([[(4-aminocarbonyl)pyridinio]methoxy]methyl]-2-[(hydroxyimino) methyl] pyridinium dichlorid) se jeví jako velmi slibné antidotum pro terapii akutních otrav somanem (7, 8, 12, 15).

Terapeutický efekt oximu HI-6 je zřejmě dán nejen vysokou reaktivací účinností vůči fosforylované AChE na periférii (2, 6), ale i přímými farmakologickými účinky, jako je přerušení blokady neuromuskulární transmise, přímý antimuskarinový či ganglion blokující účinek (13, 20). Oxim HI-6 má ještě jednu výhodu oproti klasickým oximům. Je totiž výrazně méně toxický pro savce než klasické reaktivátory AChE, takže by mohl být podáván ve srovnání s dosud používanými oximy ve vyšších dávkách, což by mohlo příznivě ovlivnit jeho profylaktický i terapeutický efekt. O použití oximu HI-6 se totiž uvažuje i v souvislosti s farmakologickou profylaxí osob ohrožených případnou otravou somanem (19).

Cílem této práce je posoudit, do jaké míry by mohla dávka oximu HI-6 ovlivnit jeho schopnost eliminovat toxické účinky somanu při profylaktickém či terapeutickém podání v kombinaci s konstantní dávkou atropinu.

Materiál a metody

Jako pokusná zvířata byli použiti samci bílých myší kmene NMRI chovu Konárovice o hmotnosti 19-23 g. Myši byly krmeny standardní Larssenovou dietou a vodou ad libitum.

Skupinám po 6 zvířatech byl soman podáván ve čtyřech až pěti postupně se zvyšujících dávkách pro každou zvolenou dávkovou úroveň oximu HI-6. Oxim byl podáván v předem stanovených množstvích (2, 5 a 20 % LD₅₀) v kombinaci s neměnnou dávkou atropinu (5 % LD₅₀) buď profylakticky 5 minut před intoxikací, nebo terapeuticky 0,5 minuty po intoxikaci somanem. Přitom byly sledovány změny hodnoty LD₅₀ somanu vlivem profylakticky, či

terapeuticky podaných antidot při 24hodinovém přežívání pokusných intoxikovaných zvířat.

Hodnoty LD₅₀ somanu s 95% intervalem spolehlivosti (95 % IS) při 24hodinovém přežívání myší byly počítány probitovou metodou (18) a srovnávány s hodnotami LD₅₀ somanu při neléčené intoxikaci či intoxikaci léčené pouze atropinem. Účinnost jednotlivých dávkových úrovní oximu HI-6 byla vyjadřována poměrem mezi hodnotami LD₅₀ léčené a neléčené intoxikace (index účinnosti /IU/ A), případně intoxikace léčené pouze atropinem (IU B). Statistická významnost rozdílu mezi jednotlivými hodnotami LD₅₀ byla vyjadřována na 95% hladině významnosti ($p < 0,05$).

Výsledky

Dávkové úrovně oximu HI-6 a použitá dávka atropinu byly stanoveny na základě námi zjištěných hodnot jejich střední smrtné dávky (LD₅₀) pro samce bílých myší při 24hodinovém přežívání pokusných zvířat, které jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1

Hodnoty střední smrtné dávky (LD₅₀) oximu HI-6 a atropinu při i. m. podání a 24hodinovém přežívání pokusných zvířat

Antidotum	LD ₅₀ (mg/kg) ± 95% IS
Atropin	421,0 (357,2-496,5)
HI-6	671,3 (627,4-718,3)

Hodnoty LD₅₀ somanu při profylaktickém podání antidot jsou uvedeny v tabulce 2. Již nejnižší použitá dávka oximu HI-6, odpovídající 2 % jeho hodnoty LD₅₀, snižuje spolu s atropinem toxicitu somanu více než dvakrát ve srovnání s neléčenou intoxikací a 1,4krát ve srovnání s intoxikací léčenou pouze atropinem. Zvyšující se dávka oximu HI-6 vždy znamenala statisticky významné zvýšení profylaktického efektu tohoto oximu vůči toxickým účinkům somanu ($p < 0,05$). Při profylaktickém podání maximální terapeutické dávky oximu HI-6 dochází k více než sedminásobnému zvýšení hodnoty LD₅₀ somanu ve srovnání s neléčenou intoxikací a téměř pětinasobnému zvýšení hodnoty LD₅₀ somanu ve srovnání s intoxikací léčenou pouze atropinem.

Tabulka 2

Vliv dávky oximu HI-6 na profylaktickou účinnost kombinace antidot při intoxikaci myší somanem

Terapie	Dávka oximu	LD ₅₀ (μg/kg) ± 95% IS	Index účinnosti - IU A	Index účinnosti - IU B
-----	-----	109,6 (99,0-121,2)	-----	-----
atropin	-----	165,7 (153,5-178,7)	1,51	-----
HI-6 + atropin	2 % LD ₅₀	236,8 (204,2-274,6)	2,16	1,43
HI-6 + atropin	5 % LD ₅₀	378,2 (306,3-466,9)	3,45	2,28
HI-6 + atropin	20 % LD ₅₀	814,2 (720,6-919,9)	7,43	4,91

Tabulka 3

Vliv dávky oximu HI-6 na terapeutickou účinnost kombinace antidot při intoxikaci myší somanem

Terapie	Dávka oximu	LD ₅₀ (μg/kg) ± 95% IS	Index účinnosti - IU A	Index účinnosti - IU B
-----	-----	109,6 (99,0-121,2)	-----	-----
atropin	-----	112,6 (106,3-119,2)	1,03	-----
HI-6 + atropin	2 % LD ₅₀	212,2 (201,6-223,3)	1,94	1,88
HI-6 + atropin	5 % LD ₅₀	340,1 (306,7-377,3)	3,11	3,02
HI-6 + atropin	20 % LD ₅₀	589,6 (558,1-622,1)	5,38	5,24

Hodnoty LD₅₀ somanu při terapeutickém podání antidot jsou uvedeny v tabulce 3. Zatímco samotný atropin prakticky nezměnil hodnotu LD₅₀ somanu ve srovnání s neléčenou intoxikací, oxim HI-6 v nejnižší použité dávce zvýšil hodnotu LD₅₀ somanu na téměř dvojnásobek. Zvyšující se dávka oximu HI-6 vždy znamenala statisticky významné zvýšení terapeutického efektu oximu vůči letálním účinkům somanu ($p < 0,05$). Při podání maximální terapeutické dávky oximu HI-6 (20 % jeho hodnoty LD₅₀) dochází k více než pětinasobnému snížení toxicity somanu ve srovnání s neléčenou intoxikací i intoxikací léčenou pouze atropinem.

Diskuse

Přes existenci Úmluvy o zákazu výroby, skladování a použití chemických zbraní není nebezpečí zneužití vysoce toxických OF sloučenin pro vojenské či teroristické cíle vyloučeno, jak prokázaly události v Japonsku v polovině 90. let (14) nebo reálná hrozba použití chemických zbraní Irákem v 80. a 90. letech (4).

Přes více než padesátiletou existenci vysoce toxického OF somanu není antidotní terapie akutních intoxikací touto vysoce nebezpečnou noxou uspokojena.

jivě vyřešena, přestože obohacení antidotní terapie o novější a účinnější reaktivátory AChE, zvané H-oximy, znamenalo významný posun v úspěšnosti eliminace akutních toxických účinků OF sloučenin (1, 6, 7, 19).

Pro efekt antidotní terapie však není důležité jen její složení, ale i doba podání a dávka jejích jednotlivých komponent. Již dříve bylo prokázáno, jak významná je rychlost podání antidot pro jejich efekt při terapii akutních intoxikací OF sloučeninami, zvláště somanem (9). Výsledky uvedené v této práci jasně demonstrují, že nejen rychlost podání, ale i výše dávky antidot, v tomto případě oximu HI-6, může podstatně ovlivnit eliminaci letálních účinků somanu, a to bez ohledu na to, zda byla antidotní směs podána profylakticky, či terapeuticky. Zjištěnému vlivu dávky oximu HI-6 na efekt antidotní terapie otrav somanem odpovídají i publikované výsledky podobného experimentu na morčátech (11). Tyto poznatky potvrzují význam oximů s minimální toxicitou pro savce při terapii akutních otrav OF sloučeninami, neboť tento fakt umožňuje jejich vysoké dávkování. To je právě případ oximu HI-6, jehož dávka doporučená pro humánní medicínu je v absolutních jednotkách významně vyšší ve srovnání s dosud používanými klasickými oximy (3). Zajímavé je, že u nižších dávek se stírá rozdíl v efektu oximu HI-6 při profylaktickém a terapeutickém podání. Teprve při maximální terapeutické dávce HI-6 (20 % LD₅₀) je efekt oximu HI-6 při profylaktickém podání signifikantně vyšší než při terapeutickém podání.

Vyšší efekt oximu HI-6 ve srovnání s dosud používanými oximy je tedy založen nejen na vyšší reaktivacní účinnosti oximu na periférii (6, 7, 10, 17) a na širším spektru přímých farmaceutických účinků (13, 20), ale i na vyšší dávce pro humánní medicínu, danou nižší toxicitou oximu HI-6 vůči savcům ve srovnání s dosud používanými oximy, která zřejmě umožní rychlejší dosažení místa terapeutického účinku pro daný oxim (3). To však nic nemění na nutnosti co nejrychlejšího podání oximu HI-6 v případě otravy somanem, neboť jen v takovém případě se může i při těžkých otravách plně uplatnit terapeutický efekt tohoto reaktivátoru AChE.

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. BAJGAR, J.: Present views on toxodynamics of soman poisoning. *Acta Med. (Hradec Králové)*, 1996, vol. 39, p. 101-105.
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. GEE, J.: Iraqi declaration of chemical weapons: how much did they have, and what was it? Fourth International Symposium on Protection against Chemical Warfare Agents, June 8-12, 1992, Stockholm, Sweden.
5. KADAR, T., et al.: Distribution of ³H-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., et al.: The choice: HI-6, Pralidoxime or Obidoxime against Nerve Agents? *The ASA Newslett.*, 1997, vol. 97-4, p. 16-18.
8. KASSA, J.: A comparison of the therapeutic efficacy of conventional and modern oximes against supra-lethal doses of highly toxic organophosphates in mice. *Acta Med. (Hradec Králové)*, vol. 41, p. 19-21.
9. KASSA, J.: Vliv podání antidotní terapie na její účinnost vůči toxicitě somanu u myši. *Voj. zdrav. Listy*, 1999, roč. 68, s. 93-95.
10. KOPLOVITZ, I. - STEWART, J.: A comparison of the efficacy of HI-6 and 2-PAM against soman, tabun and VX in the rabbit. *Toxicol. Lett.*, 1994, vol. 70, p. 169-179.
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. LALLEMENT, G., et al.: Efficacy of atropine/pralidoxime/diazepam or atropine/HI-6/prodiazepam in primates intoxicated by soman. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1997, vol. 56, p. 325-332.
13. MELCHERS, BPC., et al.: Non-reactivating effects of HI-6 on hippocampal neurotransmission. *Arch. Toxicol.*, 1994, vol. 69, p. 189-126.
14. 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.
15. ROUSSEAU, CG. - DUA, AK.: Pharmacology of HI-6, an H-series oxime. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1989, vol. 67, p. 1183-1189.
16. SHIH, T-M. - WHALLEY, ChE. - VALDES, JJ.: A comparison of cholinergic effects of HI-6 and pralidoxime-2-chloride (2-PAM) in soman poisoning. *Toxicol. Lett.*, 1991, vol. 55, p. 131-147.

17. SHIH, T-M.: 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*. Springer-Verlag, New York, 1987. 145 p.
19. VACHEK, J., et al.: Novější způsoby léčby intoxikace organofosfáty. In *Sbor. věd. Prací VLA JEP Hradec Králové*, 1993, sv. 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.

Korespondence: Plk. doc. MUDr. Jiří Kassa, CSc.

Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně

Třebešská 1575

500 01 Hradec Králové

e-mail: kassa@pmfhk.cz

Do redakce došlo 3. 9. 2001
