

OCHRANA MOZKOVÉ ACETYLCHOLINESTERÁZY PROTI INHIBICI LÁTKOU VX U LABORATORNÍCH POTKANŮ

Jiří BAJGAR

Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví, katedra toxikologie, Hradec Králové

Souhrn

Byl studován ochranný účinek reverzibilních inhibitorů cholinesteráz tacrinu a pyridostigminu samotných nebo jejich kombinací s různými látkami proti inhibici acetylcholinesterázy v pontomedulární oblasti nebo mozečku potkanů způsobenou látkou VX in vivo, stejně jako přežívání zvířat premedikovaných různými kombinacemi použitých látek. Nejlepší profylaktický efekt byl pozorován pro kombinaci pyridostigminu (nebo tacrinu) s benactyzinem, trihexyfenidylem a HI-6. Samotný tacrin nebo i jeho různé kombinace nebyly lepší než pyridostigmin.

Klíčová slova: Benactyzin; Trihexyfenidyl; HI-6; Tacrin; VX; Potkan; Profylaxe; Acetylcholinesteráza; Mozeček; pontomedulární oblast.

Protection of Brain Acetylcholinesterase against Inhibition with VX Agent in Laboratory Rats

Summary

Protective effect of cholinesterase reversible inhibitors tacrin, and pyridostigmine alone or in combination with different drugs against acetylcholinesterase inhibition in the pontomedullar area and cerebellum of rats caused by VX agent in vivo was studied as well as survival of animals pretreated with different combinations of the drugs used. The best prophylactic effect was observed for combination of pyridostigmine (or tacrin) with benactyzine, trihexyphenidyle and HI-6. However, tacrine alone or in other combinations had not better prophylactic effect in comparison with these combinations containing pyridostigmine.

Key words: Benactyzine; Trihexyphenidyle; HI-6; Tacrin; VX; Rat; Prophylaxis; Acetylcholinesterase; Cerebellum; pontomedullar area.

Úvod

Nervově paralytické látky (NPL) patří mezi nejnebezpečnější a nejaktuálnější bojové chemické látky současné doby (2, 3, 26, 29, 30, 34). Současné mohou být (a byly) zneužity teroristy (3, 27). Navíc celé spektrum látek stejné základní struktury patří k organofosforovým insekticidům, které jsou běžně komerčně dostupné a mohou být příčinou náhodných, suicidalních nebo profesionálních intoxikací (3). Všechna tato fakta jen zdůrazňují oprávněnost zájmu, který jim je ve světě věnován, a to ve všech oblastech – mechanismu účinku, diagnózy, profylaxe i terapie. Hrozba použití celé skupiny látek přes existenci Úmluvy o zákazu a likvidaci CHZ (12) tedy nezmizela a je stále aktuální.

Mezi nejdůležitější reprezentanty NPL se řadí sarin, soman, tabun, VX-látka a další (2, 3, 26, 30, 34). Z hlediska profylaxe je v současné době nejvíce používáno podávání reverzibilních inhibitorů cholinesteráz (především pyridostigmin), kdy rever-

zibilně inhibovaná (karbamylovaná) acetylcholinesteráza (AChE, EC 3.1.1.7), rezistentní vůči NPL, je spontánně dekarbamylovaná a dekarbamylovaný enzym slouží jako zdroj normální AChE (2, 6, 15, 16, 20–23, 25, 29, 33). Profylaktická účinnost je limitována dávkou reverzibilního inhibitoru – při vyšších dávkách je sice dosaženo vyšší profylaktické účinnosti, ovšem za cenu výraznějších vedlejších účinků. V mnoha armádách je pyridostigmin zaveden jako profylaktické antidotum proti NPL. U přípravku zavedeného v AČR (PANPAL, s vyšší dávkou pyridostigminu) je tento problém částečně řešen přidáním dvou anticholinergik, která eliminují účinek vyšší dávky pyridostigminu (2, 15, 20–22), avšak i jeho účinnost není úplně ideální. Druhý přístup je podávání běžně používaných antidot, jakási „léčba v předstihu“, vyžadující ale dostatečně vysokou a časově delší hladinu těchto léčiv v krvi (2, 6). Tento problém byl v AČR řešen zavedením nového profylaktického antidota TRANSANT, obsahujícího reaktivátor HI-6 pro transdermální podání (2, 6, 14).

Podávání jiných farmak jako profylaktik je ve stadiu výzkumu, v současné době bez perspektivy zavedení do praxe vzhledem k nepřesvědčivým výsledkům (2, 6, 29).

Poslední možností je „vychytání“ NPL v krvi ještě před dosažením místa zásahu realizované podáním látek s vysokou afinitou k NPL, tj. preparátů cholinesteráz (scavengery). Tento přístup začal být intenzivně zkoumán v USA (10, 11, 26, 28) i ve spolupráci s ČR (6, 8, 31) a výsledky jsou velmi perspektivní. Cena takového preparátu je však relativně velmi vysoká. Z hlediska efektivnosti se proto intenzivně hledají nové reverzibilní inhibitory, např. z řady akridinů nebo přirozeně se vyskytujících látek (4, 16, 23, 24, 29, 34).

V této práci byl srovnán profylaktický efekt reverzibilního inhibitoru akridinového typu tacrinu (1,2,3,4-tetrahydroaminoakridin) v kombinaci s dalšími látkami a srovnán se současně užívanými profylaktiky proti otravám látkou VX u laboratorních potkanů.

Materiál a metodika

Zvířata

Byly použity samice laboratorních potkanů kmeny Wistar (BioTest, Konárovice, ČR) o hmotnosti 180–250 g. Zvířata byla před pokusem 1 týden aklimatizována ve viváriu katedry toxikologie (klimatizováno, světelný režim 7.00–19.00 h) a krmena standardní laboratorní peletovou dietou s přísunem vody ad libitum. Experimenty byly schváleny Etickou komisí FVZ UO a LF UK v Hradci Králové v souladu s vyhláškou 207/2004 Sb., o ochraně, chovu a využití pokusných zvířat. Personál manipulující se zvířaty byl předem proškolen a získal osvědčení o způsobilosti pracovat s laboratorními zvířaty podle § 17 odst. 1 zákona 207/2004.

Chemikálie

VX-látka (O-etyl S-2-diisopropylaminoetyl metyl fosfonothiolát) čistoty 98 % byl získán od VOZ 072 Zemianské Kostolany (SR). Benactyzin a trihexyfenidyl byly výrobky firmy Léčiva Praha (ČR), HI-6 a tacrin byly syntetizovány na katedře toxikologie FVZ UO v Hradci Králové.

Koňskou butyrylcholinesterázu (BuChE, EC 3.1.1.8) s původní aktivitou 20 000 mU/ml daroval dr. Bhupendr Doctor z Walter Reed Army Institute of Research, Washington, USA v rámci spolupráce s katedrou toxikologie FVZ UO.

Ostatní chemikálie analytické čistoty byly dodány firmami Lachema Brno, ČR a Sigma Aldrich, Německo.

Pokusné skupiny

Pro kontrolu byly použity následující skupiny po 10 zvířatech (CONT):

- CONT FYS: podán i. m. fyziologický roztok (0,1 ml/kg) a o 20 min později podán opět fyziologický roztok i. m. v témže objemu.
- CONT Ta: podán i. m. tacrin (10 mg/kg) a o 20 min později podán fyziologický roztok (0,1 ml/kg).
- CONT VX: podán i. m. fyziologický roztok (0,1 ml/kg) a o 20 min. později podána i. m. látka VX v dávce $2 \times LD_{50}$, tj. 42 μ g/kg.
- CONT H: podán i. m. HI-6 (15 mg/kg) a o 20 min později podán fyziologický roztok i. m. v objemu 0,1 ml/kg).
- CONT Tr: podán i. m. trihexyfenidyl (6 mg/kg) a o 20 min později podán fyziologický roztok i. m. v objemu 0,1 ml/kg.
- CONT B: podán i. m. benactyzin (9 mg/kg a o 20 min později podán fyziologický roztok i. m. v objemu 0,1 ml/kg).
- CONT Py: podán i. m. pyridostigmin (1 mg/kg) a o 20 min později podán fyziologický roztok i. m. v objemu 0,1 ml/kg.
- Odběry byly provedeny za 60 min po druhém podání.

Experimentální skupiny po 10 zvířatech byly následující:

Zvířatům ve skupině bylo i. m. podáno léčivo nebo jeho kombinace a za 20 minut byla zvířata intoxikována i. m. látkou VX v dávce $2 \times LD_{50}$, tj. 42 μ g/kg. Za 60 minut po intoxikaci, resp. v čase uhynutí, byly provedeny odběry mozků.

Jednalo se o tyto skupiny:

- H-VX: i. m. podáno HI-6
- B-VX: i. m. podán benactyzin
- Tr-VX: i. m. podán trihexyfenidyl
- B+Tr-VX: i. m. podán benactyzin a trihexyfenidyl
- H+ Tr-VX: i. m. podáno HI-6 a trihexyfenidyl
- H+B-VX: i. m. podáno HI-6 a benactyzin
- H+B+Tr-VX: i. m. podáno HI-6, benactyzin a trihexyfenidyl
- Ta-VX: i. m. podán tacrin
- Ta+B-VX: i. m. podán tacrin a benactyzin
- Ta+H-VX: i. m. podán tacrin a HI-6

- Ta+B+H-VX: i. m. podán tacrin, benactyzin a HI-6
- Py-VX: i. m. podán pyridostigmin
- Py+B-VX: i. m. podán pyridostigmin a benactyzin
- Py+Tr-VX: i. m. podán pyridostigmin a trihexyfenidyl
- Py+B+Tr-VX: i. m. podán pyridostigmin, benactyzin a trihexyfenidyl
- Py+H-VX: i. m. podán pyridostigmin a HI-6
- Py+B+Tr+H-VX: i. m. podán pyridostigmin, benactyzin, trihexyfenidyl a HI-6
- BuChE-VX: i. p. podána BuChE

Dávky léčiv:

Tacrin	10 mg/kg	i. m.	(0,25×LD ₅₀)
HI-6	15 mg/kg	i. m.	(0,02×LD ₅₀)
Benactyzin	9 mg/kg	i. m.	(0,1×LD ₅₀)
Trihexyfenidyl	6 mg/kg	i. m.	(0,1×LD ₅₀)
Pyridostigmin	1 mg/kg	i. m.	(0,1×LD ₅₀)
BuChE	250 mU/kg	i. p.	není toxická

Odběry a příprava vzorku

Odběry mozku byly provedeny po podstřižení a. carotis v lehké éterové narkóze za 1 h po druhé injekci, resp. okamžitě po uhynutí.

Mozek byl po odběru opláchnut fyziologickým roztokem a zmrazen (-40 °C). Před stanovením AChE byly mozky rozmrazeny při pokojové teplotě a byly z nich vypreparovány pontomedulární oblast s obsahem retikulárních jader a cerebellum. Tyto části byly homogenizovány (Ultra-Turrax homogenizer, Janke a Kunkel, SRN) 1:10 destilovanou vodou a v homogenátech stanovena aktivita AChE.

Stanovení aktivity AChE

Aktivita AChE byla stanovena Ellmanovou metodou (13) se substrátem acetylthiocholin jodid. Jako chromogen byla použita 5,5' bis-2-nitrobenzoová kyselina. Principem metody je spektrofotometrické (Vitatron, Eefde, Holandsko, později UVICON 752) stanovení SH-skupiny thiocholinu uvolněného enzymatickou hydrolýzou ze substrátu při odečtení slepého vzorku (spontánní hydrolýza substrátu). Aktivita byla vyjadřována jako $\mu\text{kat/kg}$ vlhké tkáně nebo jako % kontrolních hodnot.

Statistické hodnocení

Výsledky byly hodnoceny běžnými metodami (průměr, směrodatná odchylka, Studentův t-test) podle příslušných programů na PC.

Výsledky

Mortalita pokusných zvířat kolísala podle toho, co bylo podáno – u kontrolních skupin přežívala všechna zvířata po dvou podáních fyziologického roztoku (CONT FYS) a po podání tacrinu a fyziologického roztoku (CONT Ta). Také po podání HI-6, obou parasimpatikolytik (benactyzin a trihexyfenidyl) i pyridostigminu žádné zvíře ve skupině neuhynulo (skupiny CONT H, CONT B, CONT Tr, CONT Py). Po podání fyziologického roztoku a následné intoxikaci VX-látkou (CONT VX) naopak všechna zvířata uhynula v rozmezí 20–55 min (tab. 1).

U experimentálních skupin byla mortalita rozdílná podle způsobu profylaxe. Samotné podání oximu HI-6, benactyzinu nebo trihexyfenidylu (H-VX; B-VX; Tr-VX) nemělo větší profylaktický efekt, uhynulo 40–50 % zvířat ve skupině (tab. 1). Také u kombinace těchto látek (B+Tr-VX) se nepodařilo dosáhnout úplného přežití pokusných zvířat. Pokud byl aplikován s oběma parasimpatikolytiky (benactyzinem nebo trihexyfenidylem) i oxim HI-6 (H+Tr-VX; H+B-VX), mortalita se snížila a přežívala polovina pokusných zvířat. Podání samotného tacrinu (Ta-VX) nebo pyridostigminu (Py-VX) mělo určitý profylaktický efekt vyjádřený více u pyridostigminu. Nejlepší profylaktickou účinnost vykazovaly kombinace tacrin, benactyzin a HI-6 (Tr+B+H-VX), u pyridostigminu pak pyridostigmin, benactyzin a trihexyfenidyl (Py+B+Tr-VX), resp. tyto tři látky s HI-6 (Py+B+Tr+H-VX): mortalita byla nulová. Stejný efekt (přežití všech zvířat ve skupině) byl pozorován také u profylaktického podání BuChE (BuChE-VX).

Aktivita AChE v pontomedulární oblasti a mozečku byla u kontrolní skupiny rozdílná: vyšší aktivita AChE byla detegována pro pontomedulární oblast. Po podání VX-látky se aktivita AChE snížila více v pontomedulární oblasti (asi na 20 %) a méně v mozečku (asi na 50 %) (tab. 1). Tato „relativní“ rezistence aktivity AChE v mozečku se projevila i u experimentálních skupin. Jestliže byly srovnány relativní hodnoty (tj. procenta aktivity po podání léčiv a VX), byly tyto prakticky u všech skupin signifikantně ($p < 0,05$) odlišné, což indikuje vyšší citlivost AChE v pontomedulární oblasti než v mozečku (tab. 1). Podání parasimpatolytik (benactyzin, trihexyfenidyl) před intoxikací VX neovlivnilo aktivitu AChE ani v PM, ani v mozečku, zatímco po profylaktickém podání reaktivátoru HI-6 byla aktivita AChE proti „čisté“ intoxikaci (skupina CONT VX) zvýšena v obou částech, avšak statisticky významně pouze v PM, ale ne v mozečku.

Tabulka 1

Aktivita AChE a mortalita u laboratorních potkanů po různých profylaktických zásazích

Skupina	Pontomedulární oblast	Cerebellum	Mortalita	Poznámka
CONT FYS	100	100	0 /10	
CONT Ta	75,7 x	88,6 n	0 /10	srovnej (1)
CONT VX	18,2 x	49,4	10 /10	srovnej (5,7)
CONT H	101,1 n	103,7 n	0 /10	
CONT Tr	98,5 n	102,6 n	0 /10	
CONT B	97,8 n	104,2 n	0 /10	
CONT Py	102,3 n	97,4 n	0 /10	
H-VX	33,5 x	52,5	4 /10	
B-VX	20,9 x	51,7	5 /10	
Tr-VX	21,0 x	50,3	5 /10	
H+Tr-VX	32,8 x	55,0	5 /10	
H+B-VX	34,1 x	54,2	5 /10	
B+Tr-VX	19,8 x	50,1	4 / 10	
Ta-VX	43,6 x +	58,5	4 /10	
Ta+B-VX	42,7	56,7	4 /10	
Ta+H-VX	44,3 x +	58,3	2 /10	
Ta+B+H-VX	45,2 x +	61,2	0 /10	
Py-VX	42,8 +	55,9	3 /10	pyridostigmin je profylaktikum zavedené ve většině armád
Py+B-VX	44,5 +	58,7	2 /10	
Py+Tr-VX	45,4 +	57,9	3 /10	
Py+B+Tr-VX	46,3 x +	58,9	0 /10	tato kombinace je zavedena v AČR jako PANPAL
Py+H-VX	48,3 x +	60,4	4 /10	
Py+B+Tr+H-VX	46,9 x +	65,2	0 /10	reprezentuje současné podání PANPALu a TRANSANTu
BuChE-VX	90,1 n	93,3 n	0 /10	

x označuje statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) aktivity AChE v pontomedulární oblasti proti aktivitě v cerebellu.

+ označuje statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) pro aktivitu AChE v pontomedulární oblasti proti skupině kontrolní intoxikované VX (CONT VX).

n označuje nevýznamný rozdíl v aktivitě AChE v pontomedulární oblasti proti skupině kontrolní bez intoxikace (CONT FYS); není-li n uvedeno, jedná se o statisticky významný ($p < 0,05$) rozdíl. Totéž platí pro aktivitu AChE v cerebellu.

AChE aktivita u kontrolní skupiny (CONT FYS) byla pro pontomedulární oblast 283,1 μ kat/kg, u mozečku 61,5 μ kat/kg. Směrodatné odchylky nepřesáhly hodnoty $\pm 15 \%$ u všech skupin, proto nejsou pro přehlednost uváděny.

Diskuse

V práci se prokázalo, že testovaná léčiva v použitých dávkách neovlivňují aktivitu AChE, ať již v pontomedulární oblasti, nebo v mozečku. Tato zjištění jsou v souladu s literárními údaji (1, 14) a s daty uváděnými pro atropin (1). V naší práci se

také potvrdil dobrý profylaktický efekt kombinace reverzibilního inhibitoru cholinesterázy, pyridostigminu, s benactyzinem a trihexyfenidylem. Tato kombinace vlastně imituje přípravek PANPAL (2,15). Pokud byla použita tato kombinace s oximem HI-6, jednalo by se o podání PANPALu a TRANSANTu (2, 14). Při výměně inhibitoru pyridostigminu za

akridinový inhibitor tacrin byl profylaktický efekt podobný, ale ne tak vysoký a účinnosti bylo dosaženo spíše přidáním parasympatolytik a reaktivátoru. Všechny tyto skutečnosti svědčí pro to, že použití tacrinu jako profylaktika nemá lepší efekt než pyridostigmin. Tyto rozdíly se projevily ještě markantněji ve výsledcích aktivity AChE. Jednalo se o stanovení aktivity v pontomedulární oblasti jako části, kde aktivita AChE nejvíce odpovídá přežívání/uhynutí pokusných zvířat, jak bylo demonstrováno i pro jiné NPL bez léčení či profylaxe (4, 5, 7).

Pontomedulární oblast je velmi důležitou částí mozku odpovídající za dechové funkce (9, 17, 32). Je-li stanovována aktivita AChE v celém mozku, nejsou změny proti stanovení v pontomedulární oblasti tak markantní. Aktivita AChE v mozečku pak v hrubých rysech odráží aktivitu AChE v této části, avšak jemné rozdíly (zejména při terapeutickém či profylaktickém působení léčiv) se stírají a nejsou statisticky významné. Aktivitu AChE v mozečku tedy není možné považovat za úplně reprezentativní, stejně tak jako aktivitu AChE v celém mozku. Navíc aktivita AChE u kontrolních zvířat je v mozečku nižší než v pontomedulární oblasti, což je v souladu s výsledky Gupty (18), který uvádí v pontomedulární oblasti (brainstem) aktivitu AChE asi 4,5krát vyšší než v mozečku (naše výsledky 4,6krát). Kassa a spol. (19) uvádějí normální aktivitu v homogenátu celého mozku cca 54 μ kat/kg, což je o něco nižší než námi detegovaná aktivita v mozečku (61,5 μ kat/kg). Při srovnání centrálního účinku pyridostigminu a tacrinu (vyjádřeného jako citlivost mozkové AChE) byla potvrzena vyšší centrální účinnost tacrinu – pyridostigmin prakticky v použitých dávkách v mozku nepůsobí inhibici AChE, tzn. že jeho penetrace přes hemato-encefalickou bariéru je minimální.

Závěry

1. Intramuskulárně podaná léčiva trihexyfenidyl a benactyzin v použitých dávkách neovlivňují aktivitu AChE v mozku.
2. Mozeček není tak citlivý na změny AChE jako pontomedulární oblast.
3. Tacrin je silnější centrální inhibitor AChE *in vivo* než pyridostigmin.
4. Profylaktický účinek proti VX-látce je u pyridostigminu větší než u tacrinu.
5. BuChE podaná profylakticky je velmi dobré profylaktikum.
6. Kombinace tacrinu s benactyzinem a trihexyfenidylem a HI-6 má stejný efekt proti VX jako PANPAL či kombinace PANPAL a TRANSANT nebo podání BuChE.

Poděkování

Autor práce děkuje paní Marii Zechovské a paní Janě Uhlířové za technickou spolupráci a MO ČR za finanční podporu (projekt FVZ 0000501).

Literatura

1. BAJGAR, J. – FUSEK, J. – SKOPEC, F. Changes of cholinesterases in the blood and some tissues following administration of tacrin and its two derivatives to rats. *Neurochem. Int.*, 1994, vol. 24, p. 555–558.
2. BAJGAR, J. Organophosphates/nerve agent poisoning: mechanism of action, diagnosis, prophylaxis and treatment. *Adv. Clin. Chem.*, 2004, vol. 38, p. 151–216.
3. BAJGAR, J. *Používání chemických zbraní a jednání o jejich zákazu: od historie k současnosti*. NUCLEUS HK, Hradec Králové, 2006. 180 s.
4. BAJGAR, J. – HÁJEK, P. – KARASOVÁ, J., et al. Inhibition of acetylcholinesterase in different structures of the rat brain following soman intoxication pretreated with Huperzine A. *Int. J. Mol. Sci.*, 2007, vol. 8, p. 1165–1176.
5. BAJGAR, J. – KUČA, K. – FUSEK J., et al. Inhibition of blood cholinesterases following intoxication with VX and its derivatives. *J. Appl. Toxicol.*, 2007, vol. 27, p. 458–463.
6. BAJGAR, J. – FUSEK, J. – JUN, D., et al. Possibility of pharmacological prophylaxis against highly toxic organophosphates. *Chem. Listy*, 2007, roč. 101, s. s81–s83.
7. BAJGAR, J. – HÁJEK, P. – SLIZOVA, D., et al. Changes of acetylcholinesterase activity in different brain areas following intoxication with nerve agents: biochemical and histochemical study. *Chem-Biol. Interact.*, 2007, vol. 165, p. 14–21.
8. BARTOŠOVÁ, L. – BAJGAR, J. Charakterizace preparátu koňské plazmové butyrylcholinesterázy *in vitro* a jeho hladiny v krvi u laboratorních potkanů. *Voj. zdrav. Listy*, 2007, roč. 76, s. 236–241.
9. BIRD, SB. – GASPARI, RJ. – DICKSON, EW. Early death due to severe organophosphate poisoning is a centrally mediated process. *Acad. Emerg. Med.*, 2003, vol. 10, p. 295–298.
10. DOCTOR, BP., et al. Enzymes as pretreatment drugs for organophosphate toxicity. *Neurosci. Behav. Rev.*, 1991, vol. 15, p. 123–128.
11. DOCTOR BP., et al. Preparation and characterization of bioscavengers for possible use against organophosphate toxicity. m-CB Medical Treatment Symposium, 26–30 May 1997, Hradec Kralove. Abstracts p. 17–18.
12. Dokument OSN. Report of the Conference on Disarmament. *General Assembly Official Records*. Forty-seventh Session Supplement No. 27 (A/47/27). United Nations. New York, 1992, p. 105–289.
13. ELLMAN, GL., et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 1961, vol. 7, p. 88–95.

14. FUSEK, J. – BAJGAR, J. – MĚRKA, V. Medikamntose Prophylaxe bei Vergiftungen mit Nervenkampfstoffen. *Koord. Sanitätsdienst*, 2007, Jg. 25, S. 41–47.
 15. FUSEK, J. – BAJGAR, J. – MĚRKA, V. Prophylaxe von Vergiftungen mit Nervenkampfstoffen (Ergebnisse einer klinischen Studie. *Koord. Sanitätsdienst*, 2006, Jg. 24, S. 48–53.
 16. GORDON, RK., et al. Oral administration of pyridostigmine bromide and huperzine A protects human whole blood cholinesterases from ex in vivo exposure to soman. *Chem-Biol. Interact.*, 2005, vol. 157, p. 239–246.
 17. GOSWANY, R. – CHAUDHURI, A. – MAHASHUR, AA. Study of respiratory failure in organophosphate and carbamate poisoning. *Heart Lung*, 1994, vol. 23, p. 466–472.
 18. GUPTA, RC. Brain regional heterogeneity and toxicological mechanisms of organophosphates and carbamates. *Toxicol. Mech. Meth.*, 2004, vol. 14, p. 103–143.
 19. KASSA, J. – KARASOVÁ, J. – MUSÍLEK K., et al. A comparison of reactivating and therapeutic efficacy of newly developed oximes (K156, K203) and commonly used oximes (obidoxime, HI-6) in cyclosarin-poisoned rats and mice. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2008, vol. 51, p. 215–221.
 20. KASSA, J. The effect of Panpal prophylaxis on acetylcholinesterase activity in the blood, diaphragm and various parts of the brain in rats during treated and untreated poisoning with the organophosphorus insecticide Phosdrine (in Czech). *Ces. slov. Farm.*, 2000, roč. 49, s. 37–40.
 21. KASSA, J. – VACHEK, J. – BAJGAR, J., et al. A combination of pyridostigmine with anticholinergic drugs: effective pharmacological pretreatment of soman-poisoned mice. *ASA Newslett.*, 2001, vol. 84, p. 16–19.
 22. KASSA, J. – VACHEK, J. – BAJGAR, J., et al. A comparison of the efficacy of pharmacological pretreatments against soman in mice. *Voj. zdrav. Listy*, 2001, roč. 70, (Supl.), s. 22–25.
 23. LALLEMENT, G., et al. Subchronic administration of pyridostigmine or huperzine to primates: compared efficacy against soman toxicity. *Drug Chem. Toxicol.*, vol. 25, p. 309–320.
 24. LALLEMENT, G., et al. Review of the value of huperzine as pretreatment of organophosphate poisoning. *Neurotoxicology*, 2002, vol. 23, p. 1–5.
 25. MARINO, MT., et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of pyridostigmine bromide for prophylaxis against nerve agents in humans. *J. Clin. Pharmacol.*, 1998, vol. 38, p. 227–235.
 26. MARRS, TC., et al. *Chemical Warfare Agents. Toxicology and Treatment*. Chicester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, J. Wiley and Sons, 1996.
 27. OHBU, S., et al. Sarin poisoning in Tokyo subway. *South Med. J.*, 1997, vol. 90, p. 587–593.
 28. SAXENA, A., et al. HuBChE: A bioscavanger for protection against organophosphate chemical warfare agents. *U. S. Army Med. Dep. J.*, 2004, vol. 7, p. 22–29.
 29. PATOČKA, J. – JUN, D. – BAJGAR, J., et al. Prophylaxis against nerve agent intoxication. *Def. Sci. J.*, 2006, vol. 56, p. 775–784.
 30. ROTENBERG, JS. – NEWMARK, J. Nerve attacks on children: diagnosis and management. *Pediatrics*, 2003, vol. 112, p. 648–658.
 31. ŠEVELOVÁ, L. – BAJGAR, J. – SAXENA, A., et al. Protective effect of equine butyrylcholinesterase in inhalation intoxication of rats with sarin: determination of blood and brain cholinesterase activities. *Inhal. Toxicol.*, 2004, vol. 16, p. 531–536.
 32. SUNGUR, M. – GUVEN, M. Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning. *Crit. Care*, 2001, vol. 5, p. 211–215.
 33. TUOVINEN, K. – KALISTE-KORHONEN, E. – RAUSHEL, FM., et al. Success of pyridostigmine, physostigmine, eptastigmine and phosphotriesterase treatments in acute sarin intoxication. *Toxicology*, 1999, vol. 15, p. 169–178.
 34. WIENER, SW. – HOFFMAN, RS. Nerve agents: a comprehensive review. *J. Int. Care Med.*, 2004, vol. 19, p. 22–37.
- Korespondence: Doc. MUDr. Jiří Bajgar, DrSc.
Univerzita obrany
Fakulta vojenského zdravotnictví
Katedra toxikologie
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové
e-mail: bajgar@pmfhk.cz
- Do redakce došlo 14. 2. 2008