

KBB/TOX – Toxikologie

(pro navazující studium)

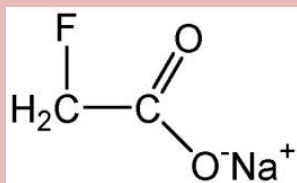
**Přednáška č.7 – Toxické působení látek
využívaných pro válečné účely 2
(vojenská toxikologie 2)**

Radim Vrzal

Katedra buněčné biologie a genetiky

Látky využívané k hromadné destrukci

Fluoroacetát (FA)



- Syntéza 1896, následný nález v rostlinách v Austrálii , Jižní Africe, Jižní Americe (**Akácie**)
- Pozření/inhalace → **rychlá absorpce** – toxicita nezávislá na cestě vstupu
- **Projevy otravy 0.5-3h**, smrt 24-48h
- Střední letální dávka **0.05 pro psy** až 150 mg/kg pro vačice
- **Toxicita závislá na intenzitě metabolismu** – ještěrka cca 10x-krát pomalejší metabolismus než potkan → cca 100x vyšší smrtelná dávka

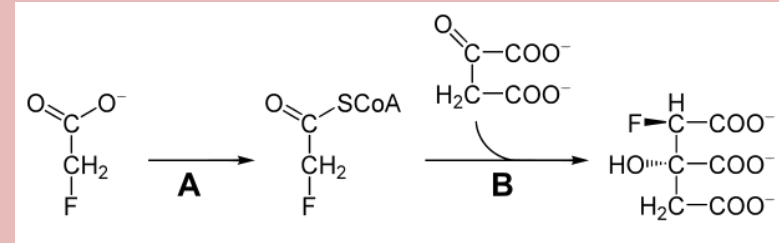
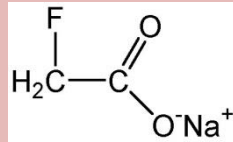


Scink uťatý

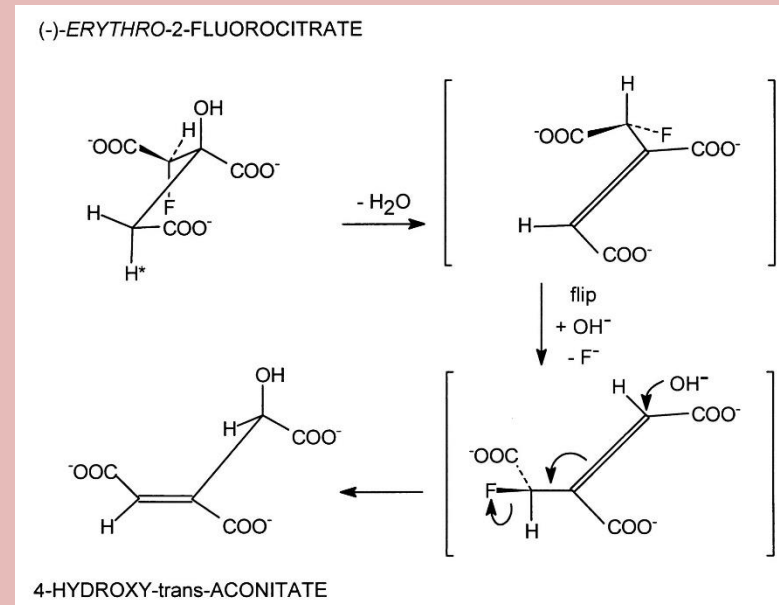


Látky využívané k hromadné destrukci

Fluoroacetát (FA)



- **Metabolismus** – defluorinace skrz GSH-závislé cesty (nejvyšší v játrech, ledvinách) – není GST !!! Ale FA-specifická defluorináza !!!!
- **Mechanismus působení** - **letální syntéza** = vznik **fluorocitrátu (FC)** tvořeného z fluoroacetyl-CoA a oxalacetátu → **HTA** = silná, nekovalentní vazba s akonitázou
- → Akumulace citrátu, nárůst osmotického tlaku a pokles produkce energie
- **Léčba:** - neexistuje specifický protijed
 - pozitivní účinky při kombinaci ethanolu a acetátu

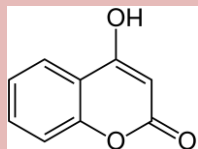


Látky využívané k hromadné destrukci

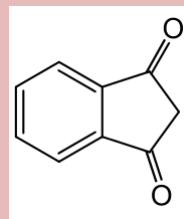
Superwarfariny

- Druhá generace antikoagulačních rodenticidů
- **Potentnější než warfarin**, problémy s krvácením mohou trvat 2-8 měsíců
- Antikoagulanty objeveny na začátku 20.st poté, co dobytek snědl zplesnivělou Komonici lékařskou kontaminovanou bis-hydroxykumarinem a umřel na krvácení
- **Warfarin** představen na trh krátce po 2.světové válce
- První generace měla nízkou toxicitu s LD50 od **1-50 mg/kg** dle druhu
- Vznik rezistence a syntéza nových sloučenin s LD50 **0.2-4 mg/kg** = superwarfariny = druhá generace antikoagulantních rodenticidů
- **Giant fennel** (*Ferula communis*) – roste ve Středozeří a má přirozeně antikoagulační účinky
- Přirozeně se vyskytující **kumarin** v Komonici je konvertován na dikumarol plísněmi
- Dle chemické struktury se dělí na:

4-hydroxykumariny



Indanediony



Ločidlo obecné
(Giant fennel)



Komonice lékařská
(Sweet Clover)

Látky využívané k hromadné destrukci

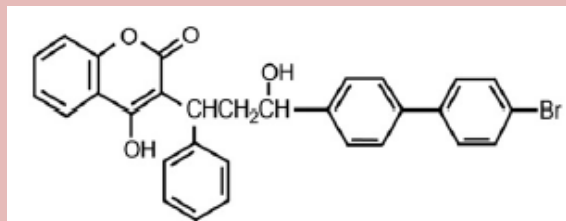
Superwarfariny

- 4-hydroxykumariny

- 4-hydroxykumarinový kruh s postranní substitucí na pozici 3

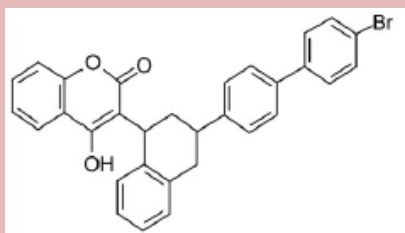
Bromadiolon

- Nažloutlý prášek, stabilní do 200°C
- Na hubení hlodavců na polích
- Málo rozpustný ve vodě
- Považován více za chutný pro hlodavce než ostatní antikoagulanty
- Byly hlášeny resistance pro potkany a myši v UK a Dánsku



Brodifacoum (Brodifakum)

- Špinavě bílý až světle hnědý prášek s nízkou rozpustností ve vodě (< 10 mg/l)
- Dodáván v peletkách s obsahem 0.001-0.005%
- Účinný proti na warfarinu rezistentním hlodavcům



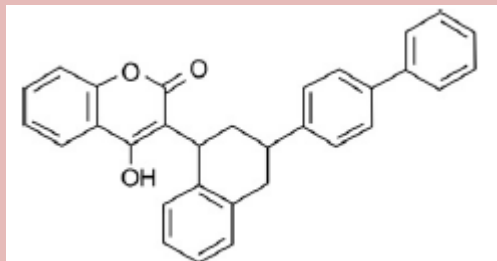
Látky využívané k hromadné destrukci

Superwarfariny

- 4-hydroxykumariny

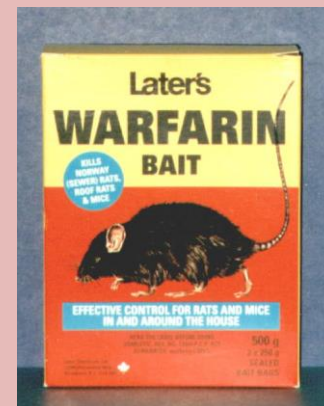
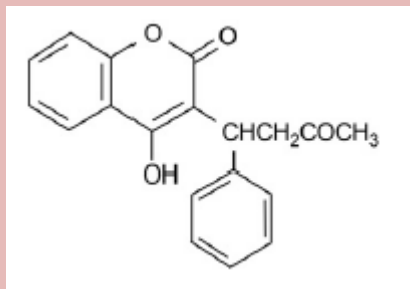
Difenacoum

- Komerčně jako Neosorexa, Ratak – granulované hnojivo s obsahem kolem 0.005%
- Našedlý prášek s nízkou rozpustností ve vodě



Warfarin

- Racemická směs, bezbarvý a krystalický nerozpustný ve vodě
- S-isomer má 10x vyšší toxicitu než R-
- Podává se jako návnada s obsahem 0.005-0.05%
- Akutní LD₅₀ = 10-12 mg/kg
- Chronická LD₅₀ = 0.75 mg/kg pro 5 následných dávek – potkan



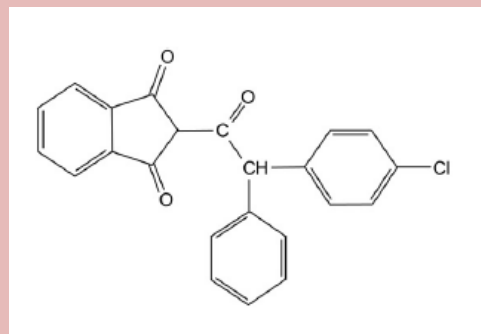
Látky využívané k hromadné destrukci

Superwarfariny

- Indanediony

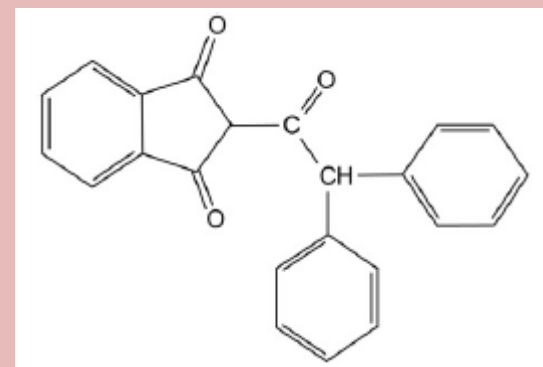
Chlorofacinon

- Žlutá krystalická látka takřka nerozpustná ve vodě
- LD50 = 20.5 mg/kg pro potkany



Difacinon

- Suchá či tekutá návnada s obsahem 0.005%
- Žlutý prášek s nízkou rozpustností ve vodě < 30mg/l
- Ve vodě se rozkládá slunečním světlem
- Akutní LD50 jsou 23 mg/kg a 43 mg/kg pro samice a samce potkana



Superwarfariny - toxikokinetika

- Dobrá absorpce z GIT – až 90%, Cmax do 12 h po pozření
- **Eliminace dvojfázová** – první fáze 3 dny a pomalejší s poločasem eliminace 120-130dní
- Játra- akumulace v takřka nezměněné formě
- Eliminace skrz fekálie

Látky využívané k hromadné destrukci

Superwarfariny - toxikodynamika

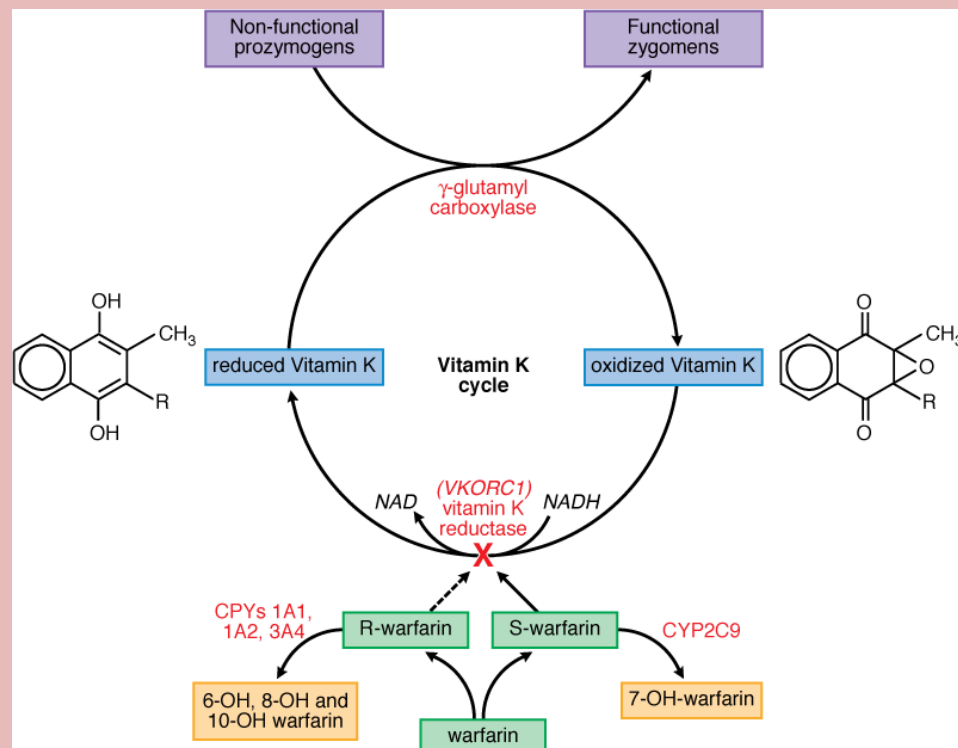
- **Inhibice vitamin K epoxidové reduktázy** (VKOR)
- Nedostatečná syntéza srážecích faktorů (II, VII, IX, X) s obsahem Gla domén → prodloužení protrombinového času

Symptomy: krvácení (z nosu a dásní), krev ve stolici, moči, podlitiny

- Nástup až v řádu dnů po pozření

Léčba:

- Aktivované uhlí do cca 1 h po pozření (240 ml+30 g uhlí)
- Výplach žaludku 1-2 h po pozření
- **Protijed:** Vitamin K1 (dospělí 15-25mg p.o.) , krevní plazma



Látky využívané k hromadné destrukci

Thalium

- měkký, namodralý kov
- Objeven 1861
- „thallos“ = zelená větvička, zelená emise
- Hustota 11.83 g/cm³
- **Užití:** infra detektory, polovodiče
- Do prostředí skrz výrobu cementu
- Soli bezbarvé, bez chuti, bez zápachu
- **Soli použity jako pesticidy** – sulfát proti hlodavcům a mravencům – zákaz 1965 v USA/WHO zakázala jako rodenticid 1973
- Dva stavy – 1+ (podobné alkalickým kovům) a 3+
- Použit v medicíně 1912-1930 – **Tinea** (dermatofytóza) – úzký terapeutický index → zákaz

Symptomy: gastroenteritida (nauzea, zvracení, průjem), polyneuropatie (pocit „pálení chodidel“; delirium, záchvaty, koma), alopecie



Tl-201 = radioaktivní gamma zářič (poločas cca 3 dny)

Tl-204 = beta zářič (poločas cca 3.8 let)

Látky využívané k hromadné destrukci

Thalium

- Dobrá absorpce GIT a kůží
- Distribuce do celého těla, **nejvyšší v ledvinách**
- Přechází skrz BBB a placentální bariéru

Eliminace

- GIT (fekálie), ledviny, sliny, pot, vlasy, mateřské mléko
- Poločas cca 10 dní

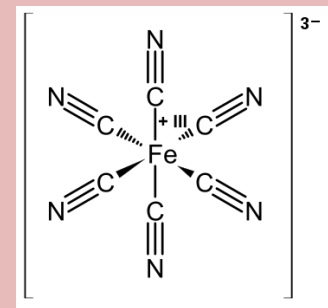
Mechanismus

- **10x vyšší afinita pro Na/K-ATPasu než K^+** → nižší aktivita enzymu
- Nárůst peroxidu vodíku a peroxidace lipidů
- Afinita pro organosírné sloučeniny

Nejnižší toxická dávka pro člověka = **0.31 g** – symptomy ale ne smrt
Dávky 6-40 mg/kg jsou orálně letální během 10-12 dnů

Léčba

- Pruská/Berlínská modř – vazba a nemožnost absorpce → zvýšení eliminace, snížení poločasu eliminace
- 3 g P.O. 3x denně pro dospělé



Látky využívané k hromadné destrukci

Kyanid



Historie:

- První izolace C.W.Scheele 1782 z Pruské/Berlínské modři
- Císař Nero užil na členy rodiny třešňově vavřínovou vodu s obsahem kyanidu
- WWI – použití kulek s 50% obsahem HCN → vysoká těkavost, neúčinné
- WWII – cyklon B (granulovaná křemelina/síran vápenatý napuštěný 40% HCN) – v táborech smrti

Vznik:

- Doutnání plastů (požáry v letadlech, na lodích, produkce plastů, získávání Au a Ag, fotografie)
- Léky – metabolit amygdalinu (Laetril) skrz střevní β -D-glukosidasu, sukcinonotril, **nitroprusid sodný** (Niprid) na krevní tlak
- Strava – Maniok jedlý (cassava) jako linamarin = kyanogenní glykosid; švestka, broskev, jablko, hořká mandle

Toxicita:

- 20-40 mg/m³ = 18-36 ppm – mírné symptomy po několika hodinách
- 300 mg/m³ = 270 ppm – okamžitá smrt
- Letální dávka = 150-250 mg KCN

- **rychlá absorpce** v řádu minut v žaludku (z KCN vzniká HCN), dobrá absorpce kůží, inhalací do celého těla
- Transport krví **a 60% se váže na proteiny, eliminační poločas 14 min**

Látky využívané k hromadné destrukci

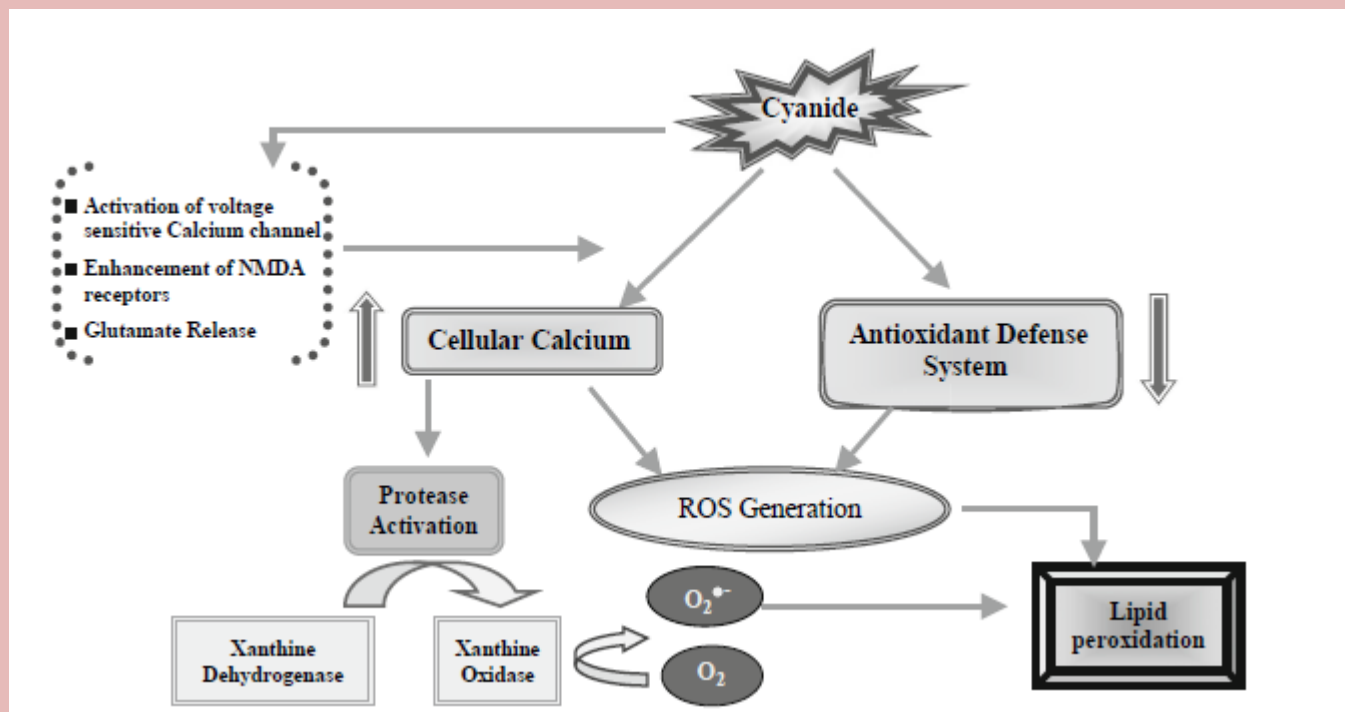
Kyanid

- **Eliminace přeměnou na SCN- (rhodanid)** za katalýzy rhodanasou a vyloučením močí
- Závisí na exogenní zásobě thiosulfátu

Mechanismus:

- **anoxie** – inhibice cytochrom oxidázy a3 a s jinými kovy obsahujícími enzymy, reakce se sulfhydrylovými skupinami,
- **neurotoxin** – zvyšuje Ca^{2+} skrz napětově řízené vápenaté kanály a nárůst funkce NMDA receptorů

Interakce s cystinem →
ztráta paměti, křeče,
ztráta vědomí



Látky využívané k hromadné destrukci

Kyanid

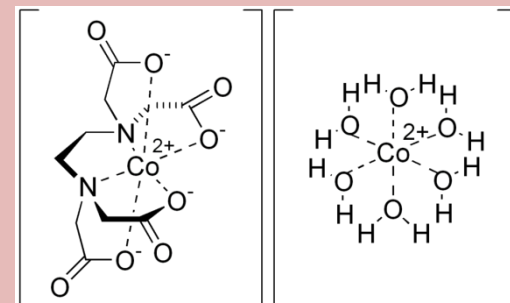
Nízké koncentrace – nespecifické symptomy jako bolest hlavy, závratě, zvracení, nauzea

Vysoké koncentrace – dyspnoe (dušnost), nekoordinované pohyby, záchvaty, koma, respirační či srdeční selhání

Histopatologie zvířat: – nekróza v CNS (bílá hmota)

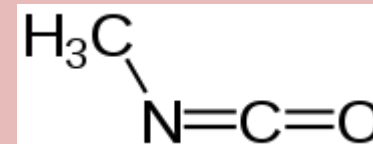
Kontakt s kůží – svědění a vyrážka na kůži (kyanidová vyrážka)

Léčba – nástup rychlý → omezení expozice, nasazení masky, odstranění oblečení, omytí kůže vodou či výplach žaludku a použití aktivovaného uhlí
- podpůrná léčba – 100 % O₂, NaHCO₃ a diazepam (IV)
-protijedy: amyl nitrit (dusitan amylnatý), NaNO₂ – indukce MetHb, Na₂S₂O₃, hydroxocobalamin (Cyanokit), **dicobalt edetate**



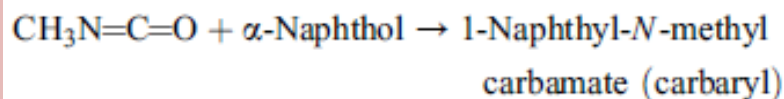
Látky využívané k hromadné destrukci

Methylisokyanát (MIC; Bhopálský plyn)



- 1984, během 60 minut uniklo 30 tun → „Město mrtvých“

- Bezbarvá kapalina, var = 39°C
- Na výrobu **karbamátů** (pesticidů)

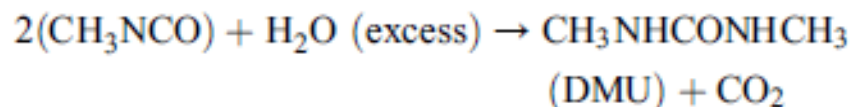


- Nad 400°C se rozkládá na HCN
- **Toxicita** – symptomy:
 - iritace dýchacích cest
 - reprodukční toxicita
 - oční toxicita
 - neurotoxicita – nebyly identifikovány specifické biochemické mechanismy

Látky využívané k hromadné destrukci

Methylisokyanát (MIC; Bhopálský plyn)

- **Reaguje s vodou** - malé množství = tvorba tepla → vypařování
- velké množství = neutralizace MIC
- Je schopen polymerace, trimerizace, reakce s OH skupinami, aminy, dusitany, dusičnany (nitrosaminy)



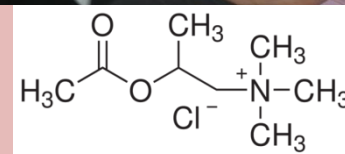
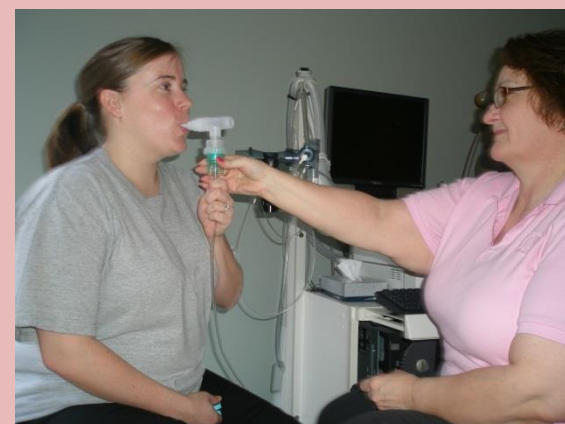
Okamžitý účinek – slzení, pocit dušení, obtíže s dýcháním

- Opožděná smrt s odstupem 4-6h po expozici
- Pravděpodobně v důsledku interakce s makromolekulami se dostavuje disorganizace v buňkách a tkáních
- **Léčba** neexistuje – podpůrná pouze

Látky využívané k hromadné destrukci

Chlor

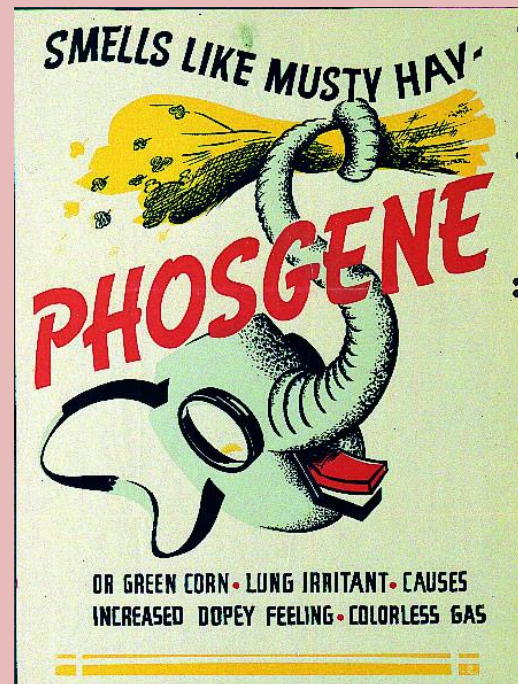
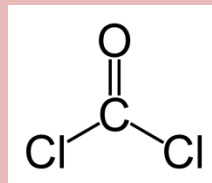
- **Zelenožlutý plyn** s pronikavým, štiplavým zápachem
- **2.5x těžší než vzduch**, reaktivní
- S vodou reaguje na HCl a HClO
- Na výrobu 1,2-dichlorethanu → vinyl chlorid → PVC
- **Bělící prostředek v papírnictví**, k čištění vod
- Zneužit v 1.světové válce
- **Symptomy:** dráždění očí, dýchacího traktu
- takřka se **nevstřebává**, reaguje na místě kontaktu
- V těle se stává součástí zásob Cl^-
- **Vyvolává bronchokonstrikci** → nebezpečí pro astmatiky (1-17let) při použití methacholinu (diagnostika astmatu)
- HOCl – reaguje s thiolovými skupinami enzymů
- **Léčba:** vyšetření plic rentgenem, použití bronchodilatačních látek (salbutamol), kortikosteroidy na zánět v těžkých případech



Látky využívané k hromadné destrukci

Fosgen

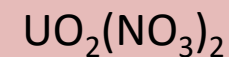
- Bezbarvý plyn se zápachem podobným **posekanému senu**
 - Vzniká reakcí CO a Cl₂ v přítomnosti aktivovaného uhlí
 - **Využití:** výroba isothiokyanátů, polyuretanů, polykarbonátů
 - Expozice zejména inhalací – **slzení, kašel**
 - Vznik edému plic s opožděnou periodou 1-24h
 - Zneužit v 1.světové válce
 - **Po inhalaci dochází k hydrolýze na CO₂ a HCl**
 - **Reaguje snadno s funkčními skupinami** – OH, NH₂, SH → narušení membránových lipidů a proteinů
 - **Akutní expozice** - 20 min = iritace očí a hrdla, kašel, nauzea, zvracení
 - 24 h- zjevný dobrý zdravotní stav
 - následně – kašel, tíseň na hrudi, zkrácení dechu, pocit dušení
 - po dobu několika měsíců – mělké dýchání, zkrácení dechu při cvičení
- Léčba**
- prevence vzniku pulmonárního edému - steroidy, ibuprofen, N-acetyl cystein
 - neexistuje protijed !!!



Látky využívané k hromadné destrukci

Ochuzený uran (Depleted uranium, DU)

- **Vedlejší produkt obohacujícího procesu** uranu o radioaktivnější izotopy
- **Vysoká hustota:** zbraně, střelivo, štíty v radioterapii, vyrovnávací závaží, kontejnery pro přepravu radioaktivního materiálu, barvivo
- Zachovává si 60% přirozené radioaktivity
- **Výskyt:** malá množství uranu – půda, hornina, voda –
odhad cca 460 µg požitím za rok
- Přírodní uran = ^{234}U , ^{235}U , ^{238}U

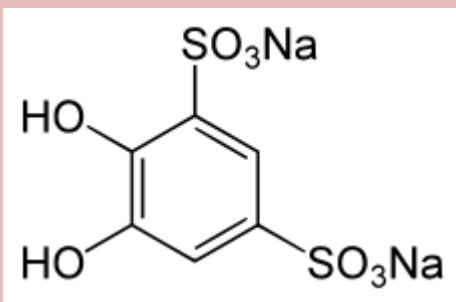


Isotope	Form of uranium		
	Natural	Depleted	Enriched
^{238}U	99.275%	99.8%	<10% to 97%
^{235}U	0.720%	0.2%	3% to >90%
^{234}U	0.0055%	0.001%	0.03%

Látky využívané k hromadné destrukci

Ochuzený uran (Depleted uranium, DU)

- **Vstup** – plíce, GIT, kůží – internalizace po zasažení šrapnely po explozích
- **Absorpce:**
 - GIT 0.5-5% pro dusičnan uranylu
 - Inhalací pro $< 10 \mu\text{m}$ částice / 25% zůstává v plicích
 - kůží pozorována pro hlodavce, nikoliv člověka
- Ukládá se v **kostech a ledvinách**
- Transportován ve **vazbě na uhličitán** (47%), 32% na plazmatické proteiny a 20% vázáno na erytrocyty
- **Není specifický mechanismus účinku**
- Indukce oxidačního stresu
- Snadno tvoří komplexy s proteiny a nukleotidy (afinita pro fosfát, hydroxyl, karboxyl)
- Karcinogenní (osteosarkom)
- **Léčba:** chelatace (Tiron, DTPA), odstranění šrapnelů

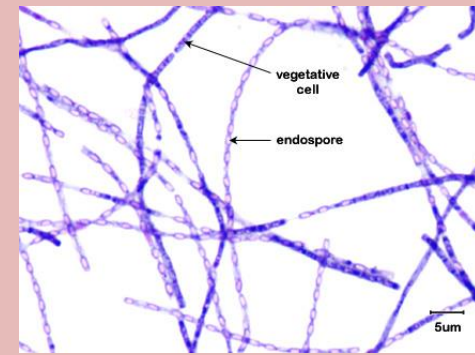


Tiron

Látky využívané k hromadné destrukci

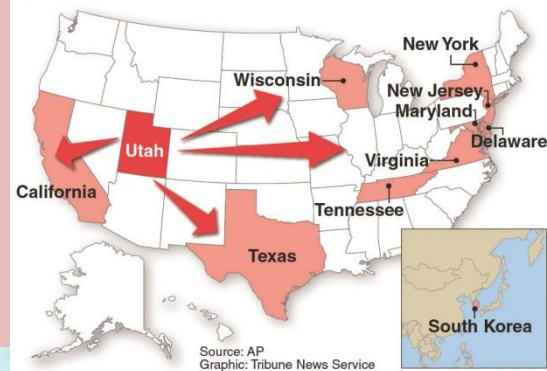
Antrax

- *Bacillus anthracis* – nákaza přes pasoucí se býložravce či krmivem kontaminovaným spóry → krvácení z úst, nosu, střeva
- šíření spor se děje mouchami či supy
- U člověka spojen se zemědělstvím, průmyslovou expozicí
- **3 formy u člověka**
 - **kožní** (kosti, mršiny, vlna) – není smrtící pokud je léčená
 - **gastrointestinální** - smrtící (50-75% i u léčených)
 - **inhalační** (aerosol se spóry) – smrtící (90% u neléčených)
- **Postup** - příjem **spor** makrofágy
 - rašení v místě nakažení do **vegetativní formy**
 - přesun do cílového orgánu
 - sepse
 - vypuštění faktorů virulence

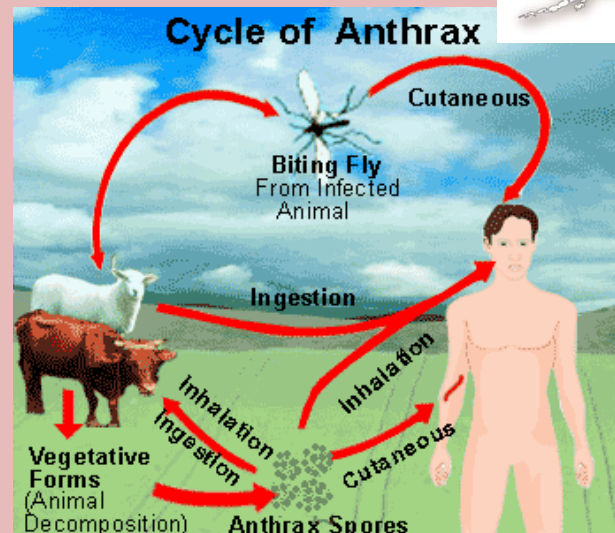


Pentagon ships live anthrax

The Army mistakenly sent live anthrax samples from a testing facility in Utah to commercial laboratories in nine states and to Osan Air Base in South Korea

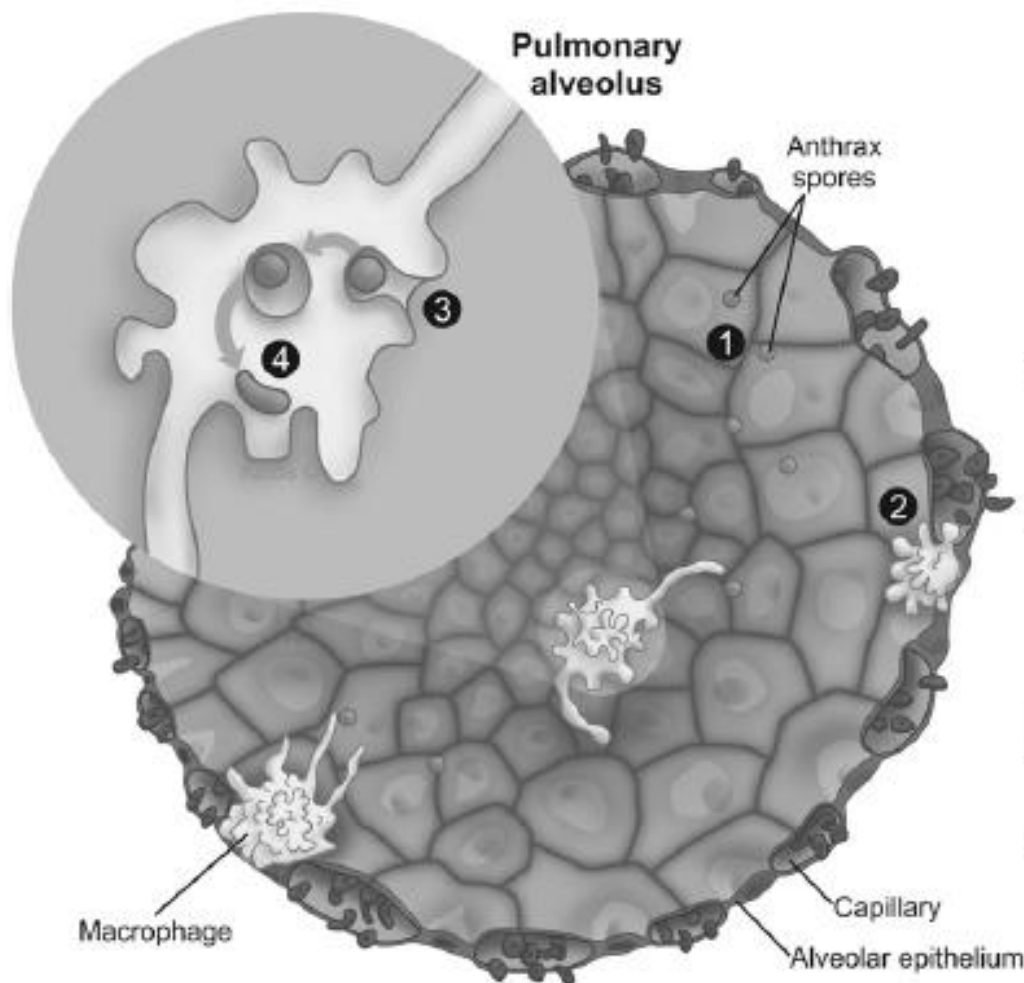


29.5.2015



Látky využívané k hromadné destrukci

Antrax



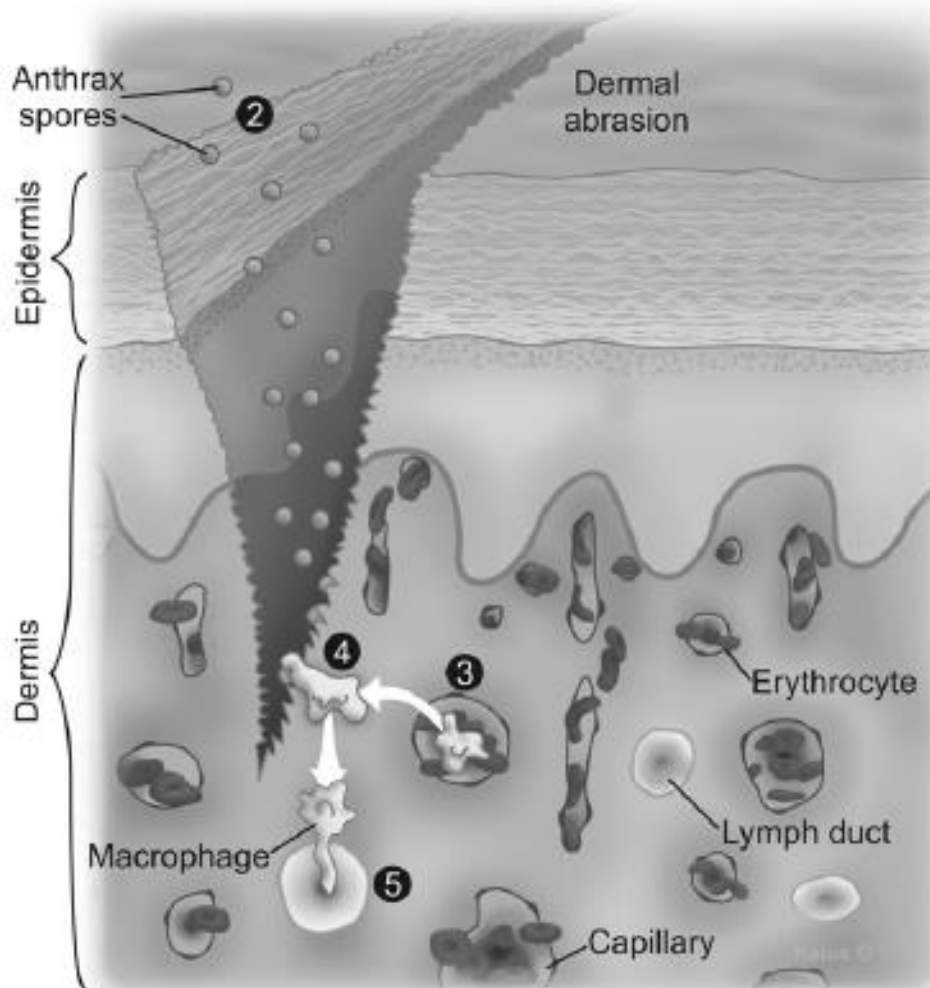
Inhalational Infection



- 1 Inhaled spores enter the respiratory tract and alveolar sacs, where spores encounter resident alveolar macrophages.
- 2 Alveolar macrophages marginate from lymphatics and capillaries to engulf spores. Spores are not typically found in the alveolar walls of the lungs and inhalational anthrax does not produce lung lesions.
- 3 Alveolar macrophages migrate along the alveolar wall to engulf spores by phagocytosis in phagolysosomes.
- 4 The process of germination does not typically occur in the alveoli with inhalational anthrax. Instead, germination takes place after the macrophage transits to mediastinal and tracheobronchial lymph nodes.

Látky využívané k hromadné destrukci

Anthrax



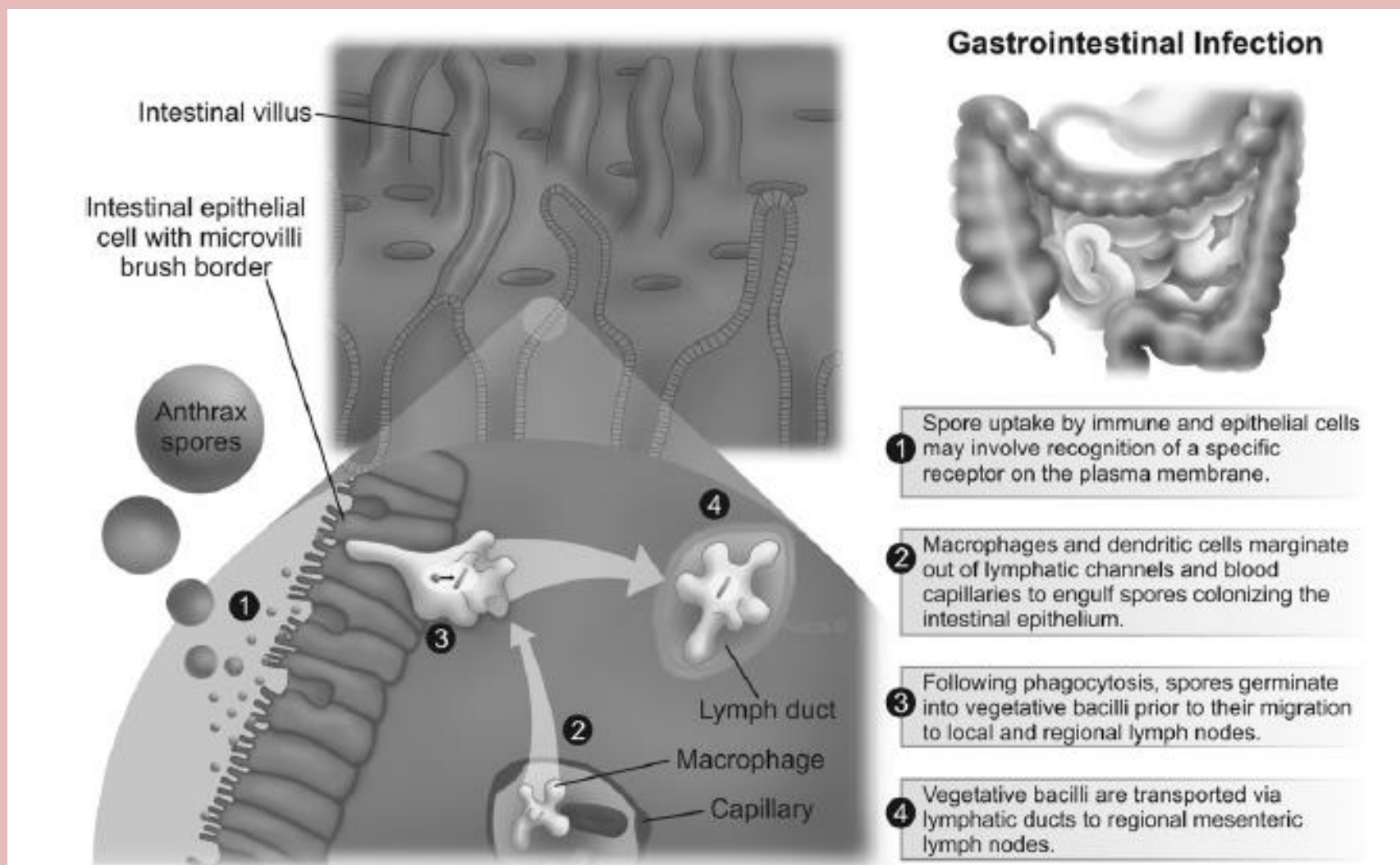
Cutaneous Infection



- 1 Signs of cutaneous infection include tissue edema, papule formation, and ulceration to form an eschar.
- 2 Dermal abrasion and contact with contaminated food and products allows anthrax spore entry and local skin infection.
- 3 Macrophages marginate out of dermal capillaries and lymphatic ducts to the active site of infection.
- 4 Tissue macrophages engulf anthrax spores by phagocytosis. While many spores will die in the lysosome, others will escape detection inside and germinate into vegetative bacilli.
- 5 Host macrophages containing germinated bacilli migrate back into blood capillaries and lymphatic ducts draining to local and regional lymph nodes.

Látky využívané k hromadné destrukci

Anthrax



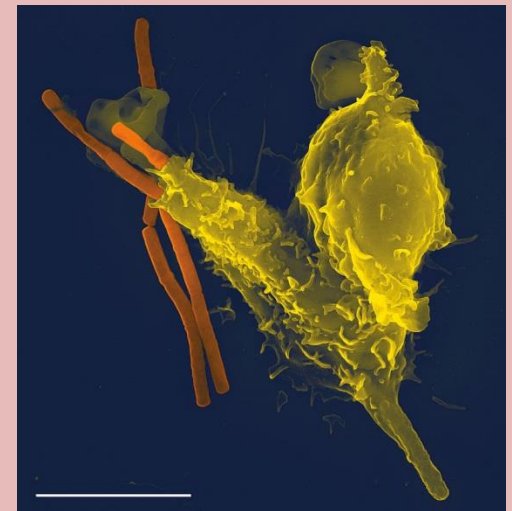
Látky využívané k hromadné destrukci

Antrax

Faktory virulence

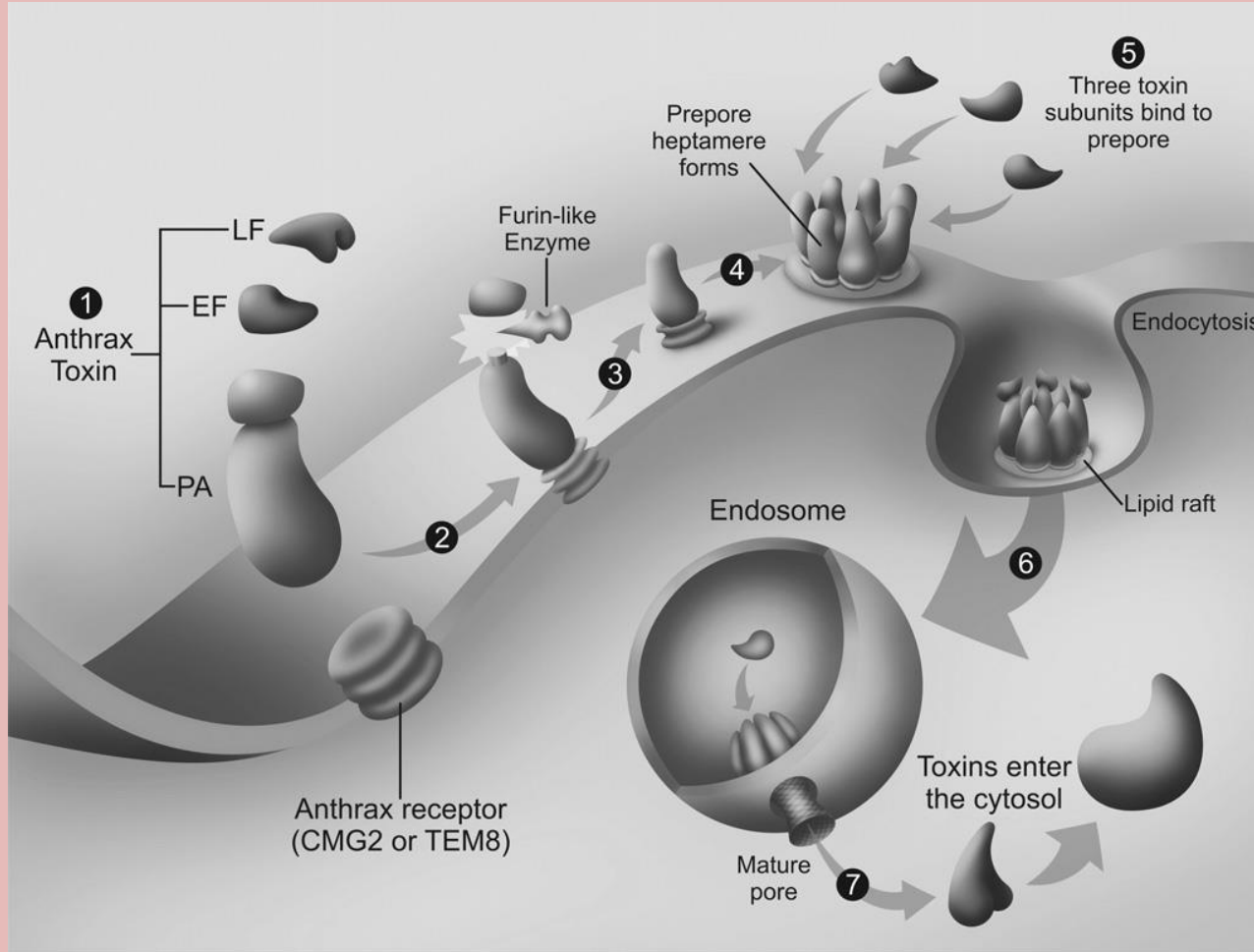
- **antifagocytická kapsle** – nutná komponenta !!! – polymer z **D-glutamové kyseliny**
→ resistance pro makrofágy
- **smrtící faktor**/toxin (LF, 90kDa) – proteolytický enzym inaktivující MAPKK
- **edémový faktor**/toxin (EF, 89kDa)- Ca^{2+} /calmodulin-dependentní adenylát cykláza
- **ochranný antigen** (PA, 83kDa) – vstup ostatních komponent do buňky

PA vytvoří póry a vniknutí LF+EF endosomálně !!!



Látky využívané k hromadné destrukci

Anthrax



- Agresivní antibiotika (ciprofloxacin, doxycyclin)
- Podpurná léčba
- Použití specifických protilátek proti PA
- Doba trvání cca 60 dní

Slovo závěrem....

Ve válce není vítězů...

....jen obětí !!!!



Použitá literatura

Gupta Ramesh C.: Handbook of toxicology of Chemical Warfare agents, 1st ed, 2009