

A hidroxokobalamin szerepe a ciánmérgezés gyógykezelésében és profilaxisában

Írta: **Dávid Gábor** dr. orvosalezredes, az orvostudományok kandidátusa

A heveny ciánmérgezés lehetősége mind béke-, mind háborús körülmények között fennáll. Békében a különböző vegyipari üzemek nagy mennyiségben használnak olyan ciánvegyületeket, melyek heveny mérgezések kútforrásai lehetnek. Ismeretes továbbá, hogy egyes műanyagok, mozifilmanyagok égésekor nagymennyiségben kerülhet a levegőbe ciánhidrogén (9). Háborús viszonyok között pedig számolni lehet toxikus ciánvegyületek mérgező harcanyagként való alkalmazásával (10, 20). A heveny ciánmérgezés rendkívül gyors lefolyású, és hatásos gyógykezelésének egyik legnagyobb nehézsége éppen az a körülmény, hogy a mérég behatolása után a súlyos klinikai kép oly hamar fejlődik ki, illetve áll be a halál, hogy eredményes terápiás beavatkozásra nincs is elegendő idő.

Néhány évvel ezelőtt a francia és angolszász irodalomban közlések jelentek meg, miszerint a ciánmérgezés gyógykezelésében eredményesen lehet használni a B_{12a}-vitamint, a hidroxokobalamint (11, 12, 13, 15, 16). Tekintettel arra, hogy a magyar gyógyszeripar is gyártja már a hidroxokobalamint (Hydroxokobalamin inj., 100 µg/ml, Kőbányai Gyógyszerárugyár, Budapest), úgy gondoltuk, szükséges megvizsgálni a készítmény hatásosságát ciánmérgezés esetében.

Módszer

Vizsgálati módszereinkkel arra a kérdésre akartunk feleletet kapni, hogy a hidroxokobalamin *előkezelés* hatására mily mértékben emelkedik a káliumcianid (KCN) 50⁰/₀-os halálos adagja (DL₅₀).

a) Először tájékozódó jelleggel meghatároztuk a káliumcianid DL₅₀-ét. 50 db 170—200 g súlyú Wistar-eredetű patkányt öt, 10—10 állatot magában foglaló csoportra osztottunk. Frissen készített vizes káliumcianid-oldatot szubkután injekció alakjában adagoltunk: 4—6—8—10—12 mg/kg testsúly dózisban (0,5 ml oldatban 100 g testsúlyra eső adag).

b) Tekintve, hogy a hidroxokobalamin főleg mint profilaktikum fejtheti ki a hatását, megvizsgáltuk, mennyi idővel a mérgezés előtt célszerű adni a B_{12a}-vitamint, hogy optimális védőhatását kifejthesse.

Négy csoportnak — csoportonként 20—20 db 170—210 g súlyú patkány — 1000 µg/kg dózisban hidroxokobalamint adtunk intramuszkulárisan és 15—30—

120 perc, illetve 24 óra múlva mérgeztük őket szubkután 11 mg/kg dózisu káliumcianiddal.

c) Ezeknek az előkísérleteknek tekinthető vizsgálatok után végeztük a tulajdonképpeni, kérdésünket eldöntendő módszeres kísérletünket. Nyolc csoport állatainak, csoportonként 20—20 patkány (160—190 g testsúlyú), 1000 µg/kg hidroxokobalamin intramuszkuláris injekciót adtunk, majd 2 óra múlva 5—6—7—8—9—10—11—12 mg/kg dózisu káliumcianiddal, szubkután injekció (0,5 ml-ben a 100 g testsúlyra jutó dózis) formájában mérgeztük őket. Ezzel egyidejűleg ugyancsak másik nyolc csoport — ugyancsak csoportonként 20—20 hasonló súlyú patkány — állatait 5—6—7—8—9—10—11—12 mg/kg dózisu káliumcianiddal mérgeztük — hasonló módon.

Eredmények és megbeszélés

a) Tájékoztató jellegű kísérletsorozatunkban Behrens (2) módszerével megállapítottuk a káliumcianid 50%-os halálos adagját, a

$$DL_{50} = x_s - \frac{\sum p_m \cdot d}{n}$$

képletet alkalmazva, ahol x_s = a legkisebb 100%-os hatást kiváltó adag, p_m = a két szomszédos állatscsoportban bekövetkező hatás közeparányosa, d = az egyenletesen emelkedő dózisok különbsége, n = egy csoportban levő állatok száma. Eredményeinket az 1. számú táblázat mutatja. Megállapítottuk,

KCN mg/kg	MÉRGEZETT ÁLLATOK SZÁMA	ELPUSZTULT ÁLLATOK SZÁMA	p_m
4	10	0	1,0
6	10	2	3,5
8	10	5	7,0
10	10	9	9,5
12	10	10	
			$\Sigma p_m = 21,0$

$$DL_{50} = 12 - \frac{21,2}{10} = 12 - 2,12 = 9,88$$

1. sz. táblázat: A káliumcianid DL_{50} -ének megközelítő meghatározása

hogy DL₅₀ ebben a megközelítésben 7,8 mg/kg. Bár a „d” értéke 2 volt, a DL₅₀ értéke igen pontosan megegyezik a c) kísérletsorozat DL₅₀ értékével.

b) Amennyiben a hidroxokobalamint profilaktikumként használjuk, nem lehet elhanyagolni annak a körülménynek tisztázását, hogy a mérgezés előtt mennyi idővel lenne legcélszerűbb alkalmazni a farmakont. A metodikai rész b) pontjában leírt feltételek szerint elvégzett kísérletek alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy mérgezés előtt kb. 2 órával a legcélszerűbb a gyógyszer alkalmazása, de 24 óra múlva is még hatásosnak minősíthető. Eredményeinket a 2. számú táblázaton tüntettük fel.

AZ ELŐKEZELÉSTŐL A MÉRGEZÉSIG ELTELT IDŐ	15'	30'	120'	24 ^h	KONTROLL
AZ ÁLLATOK SZÁMA	20	20	20	20	20
AZ ÉLETBEN MARADT ÁLLATOK SZÁMA	0	1	3	2	0

MEGJEGYZÉS:

1, B_{12a} DÓZISA: 1000 µg/kg I. M.

2, KCN DÓZISA: 11 mg/kg S. C.

3, A KONTROLL CSOPORT CSAK KCN-T KAPOTT

2. sz. táblázat: A hidroxokobalamín előkezelés optimális idejének meghatározása

Természetesen tisztában kell lenni azzal a körülménnyel, hogy az elvégzett vizsgálatok száma nem nagy, messzemenő következtetéseket nem szabad levonni belőlük, csupán a következő, c) pontban leírt, kísérletek optimális feltételeit akartuk megteremteni.

c) Ebben a kísérletsorozatunkban most már elsősorban statisztikai matematikai módszerrel értékelhetően kívántuk eldönteni, hogy a hidroxokobalamín mennyire használható gyógyszer a cianmérgezés profilaxisában. Az alkalmazott biometriai módszer — a metodikai fejezet c) pontjában leírt feltételek mellett — tulajdonképpen arra ad feleletet, hogy az előkezelésként alkalmazott B_{12a}-vitamin mennyire növeli meg a káliumcianid DL₅₀-ét. Kísérleti farmakotoxikológiai szempontból két dózishatásgörbe felvételét kell elvégezni. Kísérleteink eredményeit a 3. számú táblázat mutatja.

A táblázat adatai azt mutatják, hogy a hidroxokobalamín-előkezelés határára a káliumcianid DL₅₀-e 7,85 mg/kg-ról 8,95 mg/kg-ra emelkedik. Ezt a tényt a táblázat adatainál jobban szemlélteti az 1. számú ábra, mely nem más mint két szigmoid alakú dózishatásgörbe, egymáshoz viszonyítva párhuzamosan eltolva az abszcisszán. A két görbe egymástól való távolsága mutatja a dózis-tolerancia növekedését.

Az 1. számú ábrán látható görbéket, illetve a 3. számú ábra adatait Miller és Tainter (14) grafikus probit transzformációs módszerével is analizáltuk (2. sz. ábra) és meghatároztuk a DL₅₀ SE (négyzetes hibá)-ját mind a mérgezett, mind az előkezelt mérgezett csoportokban. (Az SE értékeket a 3. sz. táblázat alsó részén tüntettük fel.)

A táblázat és az elvégzett biometriai vizsgálatok kétségtávol bizonyítják a B_{12a}-vitaminnak, a hidroxokobalaminnak, a cianid-ionnal szembeni dózistole-

KCN DÓZIS	MÉRGEZETT		ELŐKEZELT	
	ÖSSZES ELPUSZTULT	%	ÖSSZES ELPUSZTULT	%
5 mg/kg	20/0	0	20/0	
6 mg/kg	20/1	5	20/0	0
7 mg/kg	20/5	25	20/1	5
8 mg/kg	20/12	60	20/5	25
9 mg/kg	20/16	80	20/11	55
10 mg/kg	20/19	95	20/16	80
11 mg/kg	20/20	100	20/18	90
12 mg/kg	20/20		20/20	100
		$DL_{50} = 11 - \frac{63}{20}$ = 11 - 3,15 = 7,85 SE = ± 0,22	$DL_{50} = 12 - \frac{61}{20}$ = 12 - 3,05 = 8,95 SE = ± 0,32	

3. sz. táblázat. A hidroxokobalamin előkezelés hatásának táblázatos összefoglalása

rancia-növelő hatását. Természetesen nem szabad túlzott jelentőséget tulajdonítani ennek a hatásnak, de itt kell felhívni a figyelmet egy, de véleményünk szerint igen jelentős körülményre: az előkezelte állatok elpusztulási ideje többszöröse a kontrollok, csak mérgezetek, elpusztulási idejének. Míg a kontroll csoport elhulló állatai a 7—11 mg/kg dózistartományban a mérgezés után 5—15 percen belül elpusztultak, addig az előkezeltek elpusztulása 1—2 óra múlva következett be. Ez pedig igen jelentős körülmény, ha tekintetbe vesszük, hogy a cianmérgezés gyógykezelésének éppen egyik legnagyobb problémája — mint ezt már a bevezetőben is kiemeltük — az, hogy az akut mérgezés oly hirtelen zajlik le és pusztul el a mérgezett egyén, hogy hathatós terápiás eljárásra nincs is idő. *A hidroxokobalamin-előkezelés jelentőségét éppen abban látjuk, hogy lehetőséget és időbeni hozzáférhetőséget ad a klasszikus terápiás eljárások véghezvitelére.*

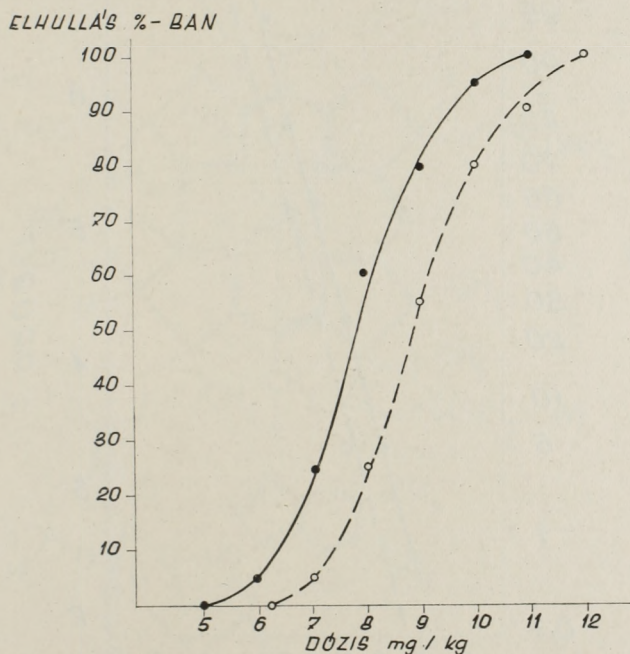
Itt a teljesség kedvéért utalunk, illetve összefoglaljuk az ún. „klasszikus” és újabb terápiás eljárások kórélettani alapjait. Legelfogadottabb a Chen és Rose (3, 4, 5, 6, 7, 8) által bevezetett és közismertté vált *nitrit-tioszulfát* kombinált terápia. A cian-gyök a citokromoxidáz ferri-vasához kötődik. Ez a komplexképződés azonban reverzibilis, ezt a kötést megbonthatjuk úgy, hogy a hemoglobinnal levő kétértékű vasat (ferro-) háromértékű (ferri-) vassá oxidáljuk — methemoglobint (hemiglobin) képzünk nátriumnitrit adásával, vagy amilnitrit belélegeztetésével, és ez a hemiglobin magához veszi a citokromoxidázhoz kötött ciant, felszabadul a citokromoxidáz — ez most már cianmentes — és cianmethemoglobint képez. A cianmethemoglobint már aránylag könnyen detoxikálja

a szervezet, ha kellő mennyiségben van jelen tioszulfát-ion. Ugyanis a szervezetben jelenlevő rodanáz-enzim hatására a cianid-ionból tiocianát (rodanát) keletkezik, ami már aránylag alig toxikus, gyorsan kiürül a vizelettel.

Kisegítő terápiának számít a dextróz adása, a cukrok ugyanis a vérben keringő ciánt cianhidrinné alakítják.

Metilénkék injekciója is használatos volt, de bizonyos elméleti megfontolások és gyakorlati tapasztalatok alapján ma már nem tekinthető korszerűnek (11).

Legújabban a hidroxokobalamin-terápia mellett javasolják különböző kobaltsók (glukonát, glutamát) és kobalt-kelát (EDTA) adását (17).



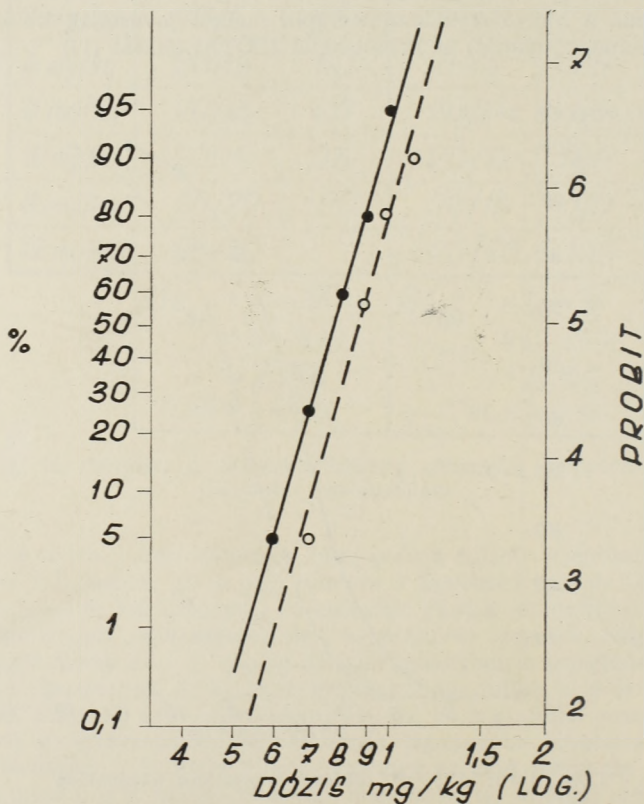
1. sz. ábra: A 3. sz. táblázat adatainak ábrázolása

— KCN-el mérgeezett,
 - - - - B_{12a}-vitaminnal előkezelt és KCN-el mérgezett állatok
 elhullása a dózis függőségében.

Ciánmérgezésben kétségtelenül a legmegfelelőbb és legkorszerűbb terápiás eljárás a nitrit-tioszulfát adagolása mellett hidroxokobalamin-injekció adása. A hidroxokobalamin a B₁₂-vitamin egy változata, B_{12a}-vitamin, Aquo-cobalamin, H₂O—B₁₂, névvel szoktuk illetni (1, 21). A B₁₂-vitamin a cianokobalamin. Ha a kobalt-atomhoz gyengén kötődő ciángyököt lehasítjuk, nyerjük a kobalamint. Aszerint, hogy az eredeti cián-csoportot milyen csoporttal helyettesítjük, nyerhetünk hidrox-, (hidroxo-), nitro-, szulfito-, klorokobalamint (l. 3. sz. ábra L-jelzésű helyét). A hidroxokobalamin szerepe a ciánmérgezésben az lenne, hogy a keringésbe került ciánt megköti cianokobalamin, B₁₂-vitamin alakjában. Így a

szervezetre nézve — azt lehet mondani — hasznos alakban kötöttük meg a mérgező ágenst.

Beszámolónk nem lenne teljes, ha nem térnénk ki arra a körülményre is, hogy a hidroxokobalamin protektív hatását más állatfajon is kiprobáltuk. Macskákön is az előbbiekhöz hasonló kedvező eredményeket kaptuk. Káliumcianid szubkután adagolása esetén macskák DL₅₀-e 3 mg/kg volt. A hidroxokobalamin-



2. sz. ábra: Az 1. sz. ábra probit transzformációja Miller és Tainter módszere szerint. (Jelmagyarázat mint az 1. sz. ábrán)

ból pedig 400 μ g/kg-ot adtunk izomba a mérgezés előtt 2 órával. A káliumcianid dózisztitrálását 20 állaton végeztük. Az értékelt kísérleteket 18 állaton végeztük (10 kontroll, 8 előkezelt és mérgezett 2,5—3,5 kg súlyú macska). A B_{12a}-vitamin az 50%-os elhullást 37,5%-ra csökkentette.

Elvégzett kísérletes vizsgálataink eredményét több szempontból is kritika alá kell vonni. Első észrevétel az lehet, hogy miért mint profilaktikumot alkalmaztuk a hidrokobolamint, ennek milyen gyakorlati jelentősége lehet. Erre azt lehet ellenérvnek felhozni, hogy adott esetben már előre is számolni lehet cian-

кét órával intramuszkulárisan adagolt 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ B_{12a}-vitamin (hidroxokobalamin) a KCN dózistoleranciáját mintegy 1 mg/kg-mal növeli a DL₅₀ tartományban. A dózistolerancia-növelő hatáson kívül figyelemre méltónak találtuk, hogy az előkezelt állatok elpusztulása egy-két óra alatt következik be, az előkezelésben nem részesült állatok pedig már 5—15 perc múlva elhullanak. Így — előkezelés esetén — lehetőség nyílik a klasszikus terápiás beavatkozások elvégzésére.

Összefoglaljuk a cianmérgezés kezelésének kórelletani alapjait és javasoljuk, hogy speciális toxikológiai betegellátás és megelőzés céljára a jelenleg forgalomban levő (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) készítménynél töményebb, több hatóanyagot tartalmazó B_{12a}-vitamin-preparátumot is hozzanak forgalomba.

A kísérletekhez szükséges hidroxokobalamin a Kőbányai Gyógyszerárugyár bocsátotta rendelkezésünkre, amiért ez úton is hálás köszönetünket fejezzük ki.

IRODALOM

1. *Almásy, M.*: Gyógyszerészet, 1966. 10, 269.
2. *Behrens*: Arch. exp. Path. 1932, 167, 365.
3. *Chen, K. K. — Rose, L. C. — Clowes, G. H. A.*: J. A. M. A. 1933, 100, 1920.
4. *Chen, K. K. — Rose, L. C. — Clowes, G. H. A.*: Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 1933, 31, 250.
5. *Chen, K. K. — Rose, L. C. — Clowes, G. H. A.*: Am. J. M. Sc. 1934, 188, 767.
6. *Chen, K. K. — Rose, L. C. — Clowes, G. H. A.*: J. Indiana M. A. 1944, 37, 344.
7. *Chen, K. K. — Rose, L. C.*: J. A. M. A. 1952, 149, 113.
8. *Chen, K. K. — Rose, L. C.*: J. A. M. A. 1956, 162, 1154.
9. *Dávid, G. — Kenéz, I. — Gyarmati, L.*: Honvéder orvos, 1958. 10, 180.
10. *Dávid, G. — Szigyártó, G. — Gyarmati, L.*: Katonai Toxikológia és Egészségügyi Vegyvédelem. (Összeállította: *Kenéz I.*) 1960. M. N. Eü. Szolg. 11. *Done, A. K.*: Clinical Pharmacology and Therapeutics, 1961, 2, 750.
12. *Fabre, R. — Truhaut, R.*: Précis de Toxicologie. I—II, Société d'Édition d'Enseignement Supérieur, 1960, 1961, Paris.
13. *Friedberg, K. D. — Grützmaier, J. — Lendle, L.*: Arch. int. Pharmacodyn. 1965, 154, 327.
14. *Miller, L. C. — Tainter, M. L.*: Proc. Soc. exp. Biol. Med. -944. 57, 261.
15. *Mushette, C. W. — Kelly, K. L. — Boxer, G. E.*: Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 1952, 81, 234.
16. *Paulet, G.*: Presse méd. 1957. 65, 573.
17. *Paulet, G.*: Presse méd. 1958, 66, 1435.
18. *Paulet, G. — Charry, R. — Bocquet, P. — Fouilhoux, M.*: Arch. int. Pharmacodyn. 1960, 127, 104.
19. *Paulet, G. — Rannand, J. — Bocquet, P.*: Presse méd. 1961, 69, 1137.
20. *Stade, K.*: Pharmacologie and Klinik synthetischer Gifte, Deutscher Militärverlag, 1964, Berlin.
21. *Wagner, F.*: Annual Review of Biochemistry, 1966. 35, 405.

Д-р Давид Г. п/п м/сл., кандидат мед. наук:

РОЛЬ ГИДРОКСОКОБАЛАМИНА В ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ОТРАВЛЕНИЙ ЦИАНОМ

Исследовал профилактическое действие гидроксокобаламина (Завод Г. Рихер) в экспериментальном отравлении цианом. Он установил, что если за 2 часа до отравления крыс цианидом калия (подкожно) введём внутримышечно им 1000 гамм/кг витамина B₁₂ (гидроксокобаламин), тогда переносимость яда повышается на 1 мг/кг в диапазоне DL₅₀. Кроме повышения переносимости отмечается удлинение времени до падения, что в таких случаях составляет 1—2 часа вместо 5—15 минут. Таким образом появляется возможность терапии отравления.

Суммируют патфизиологические основы лечения отравлений цианом и рекомендуют для спец. токсикологических лечений и профилактики выпустить более концентрированный препарат витамина B₁₂ (вместо 100 гамм/мл).

ROLLE DES HYDROXOKOBALAMINS BEI DER THERAPIE UND PROPHYLAXE DER ZYANVERGIFTUNGEN

Verfasser hat eine prophylaktische Rolle des Hydroxokobalamins bei der experimentellen Zyanvergiftung untersucht. Erzeugt man an Ratten mit subkutaner Zyankali-Injektion eine Vergiftung, gibt man aber 2 Stunden bevor intramuskulär eine Dosis von 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Vitamin B_{12a} (d. h. Hydroxokobalamin), so erhöht sich die Dositoleranz dem KCN gegenüber im Bereich der DL_{50} mit etwa 1 mg/kg . Ausser der dosistoleranz erhöhende Wirkung wurde als bemerkbar gefunden, dass es sich ein Unterschied im Hinblick auf die Verendung der vorbehandelten, bzw. unbehaltenden Tiere gibt. Während die vorbehandelte Gruppe nur binnen 1-2 Stunden zugrunde geht, verenden diejenigen, die unbehandelt blieben, bereits innerhalb 5-15 Minuten. So ergibt sich im Falle einer Vorbehandlung die Möglichkeit für die Durchführung klassischer therapeutischer Eingriffe. Zum Schluss gibt Verfasser eine Zusammenfassung der pathophysiologischen Grundlagen der Behandlung einer Zyanvergiftung und macht den Vorschlag, dass es zu speziellen Zwecke der toxikologischen Krankenbehandlung und Prophylaxe, ausser des zur Zeit im Handelsverkehr befindlichen Vitamin B_{12a} -Präparats (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$), braucht auch ein Präparat mit höherer Wirkstoffkonzentration auf den Markt gebracht zu sein.
