

1 Shrnutí v českém jazyce

Otrava organofosforovými (OF) sloučeninami je v současné době hrozbou zejména ve válečných konfliktech, ve spojení s terorismem či jako otravy způsobené v zemědělství OF pesticidy. Otrava je způsobena inhibicí enzymu acetylcholinesterázy (AChE), který za fyziologických podmínek štěpí acetylcholin (ACh) a reguluje tak přenos nervového signálu. V případě inhibice AChE dochází k nadměrné stimulaci cholinergních receptorů a klinicky se manifestuje jako tzv. cholinerní syndrom. Dle zasažených struktur se příznaky dělí na nikotinové, muskarinové či centrální. Jedná se o, dle dávky a doby expozice, letální látky, kdy smrt nastává udušením. Současná léčba sestává z aplikace anticholinergik (atropin), které blokují nadměrný nervový přenos inhibicí zejména muskarinových receptorů a/nebo z aplikace reaktivátorů AChE (HI-6, obidoxim, pralidoxim etc.), které jsou schopny vyvázat OF látku z vazby na AChE a tím obnovit její štěpící funkci. Tato léčba je však limitována tím, že neexistuje univerzální reaktivátor, který je schopný vyvázat libovolnou nervově paralytickou látku (soman, sarin, paraoxon etc.), a tím, že reaktivace AChE je možná pouze do určité doby po expozici („aging“). Na základě těchto limitujících faktorů jsou vyvíjeny další universálnější reaktivátory či jsou vyhledávány jiné terapeutické přístupy. Tím spíše, že léčba atropinem je pouze léčba symptomatická nikoliv kauzální.

Jedním z takových přístupů je hlubší prozkoumání mechanismu účinku reaktivátorů, protože se jedná o látky s velmi komplexním účinkem na celý cholinerní systém. Zejména jejich schopnost ovlivňovat přímo přenos signálu na receptorové úrovni (mechanismus podobný receptorové blokádě atropinem).

Cílem této dizertační práce je prostudovat cholinerní účinky oximových reaktivátorů (zejména jejich účinek na muskarinové a nikotinové receptory) a posoudit přínos v terapii otrav organofosfáty u vlastností, které nemají nic společného s reaktivací AChE.

K tomuto účelu byly vybrány 2 běžně používané reaktivátory (HI-6 a obidoxim) a 2 nově syntetizované reaktivátory (K027 a K203). Tyto 4 látky byly studovány za využití různých technik v *in-vitro* i *in-vivo* experimentech. Konkrétně se jednalo o afinitu reaktivátorů k muskarinovým receptorům, jejich ovlivnění transdukce signálu, funkční experimenty jak na úrovni orgánů (izolované srdeční síně, močový mechýř v orgánové lázni) tak i na úrovni celého organismu (ovlivnění srdeční frekvence potkana). Nikotinické účinky byly studovány taktéž *in-vitro* (patch-clamp) i *in-vivo* (ovlivnění nervosvalového přenosu potkana). Další experimenty zabývající se přímým ovlivněním AChE reaktivátory či jejich vliv na re-uptake cholinu byly provedeny za cílem obsáhnout i další cholinerní struktury, které mohou být reaktivátory ovlivněny.

Výsledky experimentů ukázaly, že reaktivátory AChE vykazují velice komplexní mechanismus účinku. Byl prokázán inhibiční účinek na AChE v řádech minimálně 1000x menších než běžně používané inhibitory AChE při léčbě Alzheimerovy demence. Dále pak byl prokázán inhibiční účinek na vysokoafinitní transport cholinu (HACU), který je rozhodující pro syntézu ACh *de novo*. Účinek na nikotinové receptory, byl z *in-vitro* i *in-vivo* experimentů shledán jako inhibiční. Ačkoliv se hodnoty IC_{50} pohybovaly v řádech stovek mikromolů, může tato slabá inhibice hovořit ve prospěch léčby reaktivátory tím spíše, že

atropin nemá na nikotinové receptory prakticky žádný vliv. Muskarinový antagonismus byl taktéž ověřen *in-vitro* i *in-vivo* pokusy. Ačkoliv mechanismus vazby nebyl uspokojivě vysvětlen, jedná se opět o slabé inhibitory (atropin ve všech experimentech byl minimálně 1000x více účinný), avšak i tato slabá inhibice může hrát v léčbě otrav OF důležitou roli. Zejména v případě uplynutí doby, po kterou je AChE reaktivovatelná (po „agingu“).

Pokud se jedná o jednotlivé reaktivátory, většinou HI-6, obidoxime a K203 vykazovaly větší inhibiční efektivitu; K027 většinou menší. Překvapivě, látka HI-6 s nejnižší afinitou k muskarinovým receptorům vykazovala v komplexnějších systémech (orgán, organismus) vysokou účinnost, což nasvědčuje tomu, že i další než studované mechanismy mohou být zastoupeny (např. ovlivnění presynaptických receptorů, syntézy či uvolňování ACh). Zároveň dosažené výsledky vysvětlují to, proč se HI-6 v současné době jeví jako nejúčinnější reaktivátor s nejširším spektrem účinku.

Rešerše a výsledky obsažené v této dizertační práci byly publikovány v českých i zahraničních odborných časopisech (8 prvoautorových prací, 7x s IF) a na českých i zahraničních konferencích v rámci přednášek či formou posterových sdělení.