

*MH Egészségvédelmi Intézet*

## A kénmustár sorsa a szervezetben

Karvaly Gellért gyógyszerészfőhadnagy,  
Dr. Gachályi András ny. mérnökezetredes,  
Boldis Ottó,

Dr. Mátyus Mária orvosőrnagy,  
Kocsis György mérnökőrnagy,  
Némethné K. Natália százados,

Dr. Fűrész József orvoszetredes, Ph.D., egyetemi magántanár

*Kulcsszavak: kénmustár, mérgező harcanyag, bioanalitika, toxikokinetika*

A kénmustár lipofil karakterű mérgező harcanyag, amely rendkívül hatékonyan károsít minden szövetet, amellyel kontaktusba kerül. A barrier funkciójú, valamint a szisztémásan érintett szervek (vérképző szervek, központi idegrendszer) szöveteire gyakorolt hatásai és azok időbeni lefolyása a specifikus terápiás lehetőségek kifejlesztése szempontjából nagy jelentőséggel bírnak. A mérgezés különböző szövetekből és exkrétumokból történő kimutatása szintén fontos feladat, hiszen a kénmustár katonai műveletek vagy szabotázsakciók során történő bevetésének igazolása egészségügyi és biztonsági szempontból is alapvető jelentőségű. Jelen tanulmányban áttekintésre kerülnek a vegyület toxikológiai jellemzői, valamint a biológiai mintákból történő kimutatása céljából kidolgozott eljárások.

### Bevezetés

A mustár típusú vegyületek (NATO kód: H) a hólyaghúzó mérgező harcanyagok egyik legfontosabb, alkiláló szereket nevezett csoportját alkotják. A kémiailag rendkívül aktív, ugyanakkor olcsón és egyszerű eszközökkel előállítható vegyületek bevetésére az 1925-ben keletkezett, a vegyi fegyverek alkalmazását tiltó Genfi Egyezményben foglaltak ellenére a huszadik század során többször igazoltan sor került [1]. Emberi szervezetre gyakorolt hatásaik megismeréséhez így számos sérült vizs-

gálata alapján jutottak közelebb [2]. Mindennek ellenére biokémiai hatásmechanizmusuk, toxikodinámiai és -kinetikai tulajdonságaik még ma is intenzív kutatások tárgyát képezik. Ebben nagy szerepet játszik az, hogy kémiai karakterük révén kulcsfontosságú intracelluláris, illetve a sejtmembránban lévő makromolekulák egész sorához kötődnek, emiatt az általuk kiváltott tünetek sokrétű folyamat eredményeként lépnek fel [3]. Jelen tanulmány célja a csoport modellvegyületének tekinthető kénmustár toxikológiai jellemzése, valamint azoknak az analitikai módszereknek

az áttekintése, amelyek segítségével a vegyülettel szembeni expozíció igazolható.

### A kénmustár toxicitása és az általa okozott tünetek ellátása

A kénmustár (2,2'-diklór-dietil-szulfid; NATO kód: HD) tiszta szubsztanciaként színtelen, szagtalan, könnyen mozgó folyadék, a technikai minőségű vegyületet azonban szennyezései barnára színezik és jellegzetes szagot kölcsönöznek neki. Fizikai tulajdonságai alkalmassá teszik aeroszolizált formában történő bevetésre, azonban a talajra kerülő részecskék csak napok, vagy akár hetek alatt inaktiválódnak, és további veszélyt jelentenek a területen áthaladók számára [4]. Toxicitását az eddig kutatások eredményei alapján három tulajdonsága határozza meg. Egyrészt lipofil karaktere a biológiai gáton (bőr, légutak, gasztrointesztinális traktus, szem) és a sejtmembránokon keresztül gyors és nagyfokú penetrációt tesz lehetővé. Másik fontos tulajdonsága poláris oldószerben történő ciklizációja (1. ábra). A képződő episzulfónium ion rendkívül agresszív elektrofil, ezért az  $-NH_2$ ,  $-NHMe$ ,  $-N(Me)_2$ ,  $-OH$ ,  $-SH$  és egyéb, nukleofil centrumot tartalmazó funkciós csoporthoz gyorsan és irreverzibilisen köt. A harmadik fontos tényező az, hogy e reakció révén a makromolekulák két pontja között kereszt-kötések létrehozására képes. Ez például a DNS-hez történő kötődése után lánctöréseket okoz, ami a jelenlegi szemlélet szerint kiemelkedően fontos helyet foglal el a mérgezés patomechanizmusában [5].

Az ágens által okozott elváltozások kialakulásában valószínűleg az exponálódó sejtek apoptózisa, illetve a sejtfelszíni makromolekulák antigénné válása következtében létrejövő gyulladásos reakció játszik kulcsszerepet [6]. A legérzékenyebb szerv a szem, ahol  $12-70 \text{ mg}\cdot\text{min}/\text{m}^3$  toxodózis már panaszokat okoz, bőrtünetek megjelenése azonban nem szenzibilizált egyéneknél  $200-2000 \text{ mg}\cdot\text{min}/\text{m}^3$  felett következik csak be (a szenzibilizálás ugyanakkor nem ritka, és a későbbiekben allergiás választ vált ki [7]). A légúti mérgezés jeleinek fellépéséhez szükséges toxodózis  $100-500 \text{ mg}\cdot\text{min}/\text{m}^3$ . Az alacsony effektív dózis ellenére a halálos mérgezés ritka, a múltban a harctéri sérültek kb. 3%-a nem élte túl a kontaktust [3]. A vegyület által okozott fontosabb tüneteket az I. táblázat, fontosabb toxikológiai adatait a II.a és II.b táblázat tartalmazza.

A mérgezés megelőzésének céljából bőrvédő szereket fejlesztettek ki (ezek olyan kenőcsök vagy más plasztikus gélek, amelyek a harcanyagot abszorbeálják és aktív összetevőik révén inaktíválják, mielőtt a bőrfelülettel érintkezhetne), valamint próbálkoztak ismert, illetve innovatív bioaktív vegyületek szisztémás beadásával. A kipróbált készítmények alkalmazhatósága és hatékonysága azonban korlátozottnak bizonyult, ezért a profilaxis még ma sem tekinthető megoldottnak [3, 8].

Ugyanez a helyzet a specifikus terápiát célzó szerekekkel is. Legalább hat különböző biokémiai folyamatba történő beavatkozástól várnak eredményt (III. táblázat), azonban egyelőre



Szerv/dózis (mg · min/m <sup>3</sup> )	Latenciaidő (h)	Hatások	Ellátás
<b>Bőr</b>			
>200	4-8	Erythema, irritáció jelei	Dekontaminációt követően a páciens nyugalomba helyezése, sérült területek tisztán tartása. Égés, viszketés enyhítése lokális készítményekkel. <1 cm hólyagok körüli terület tisztítása. Lokális antibiotikum-készítmények felvittele. >1 cm hólyagok tetejének eltávolítása, bűnnek mosása (fiz. sóoldat, steril deszt. víz), majd fedése antibiotikus hatású krémmel. Szisztémás fájdalomcsillapítók adása.
1000-2000 (IC <sub>50</sub> )	3-6	Súlyos erythema, 12-24 h múlva vezikáció	
10000	1-3	Gyorsan kifejlődő erythema, vezikáció 3-12 h alatt, szisztémás tünetek	
<b>Szem</b>			
<12		Idegtestet érzés, conjunctiva belövellés	Dekontamináció után rendszeres irrigáció, lokális antibiotikumkészítmények alkalmazása. Mydriaticumok naponta többszöri adása. Vazelin a szemhéjösszetapadás megakadályozására. Helyi fájdalom-csillapítás, ha feltétlenül szükséges. Erős fényingerek kerülése.
50-100	4-12	Conjunctivitis, könnyezés, photophobia	
200 (IC <sub>50</sub> )	3-12	Cornea- és szemhéj-ödéma, homályos látás, photophobia, corneaulceratio, szekunder infekciók	
<b>Légutak</b>			
33-70	12-48	Nasalis mucosa irritációja	Erythe mérgezésnél tüneti kezelés. Bronchodilatátorok, szteroidkezelés bronchusknosis esetén. Légzés támogatása, ha szükséges. Csak célzott antibiotikum-terápia javasolt. Súlyos esetben gégeszpazmus lehet, ezért korai intubáció fontos. Álhártyák eltávolítására bronchosopia.
133-600	4-6	<i>felső légutak:</i> tüsszögés, rhinorrhoea, orrvérzés, torokfájás, rekedtség <i>alsó légutak:</i> tracheobronchitis, köhögés, álhártya képződés, pulmonaris ödéma, pneumonia (36-48 h után) szisztémás: láz	
1000-1500 (IC <sub>50</sub> )	4-6	Progresszív gége- és légúti ödéma, szekunder infekciók (pneumonia), ARDS	
<b>Gasztrointesztinális traktus</b>			
	Változó	Nausea, hányás	Súlyos esetben korán fellép a közvetlen irritáció következtében. Atropin, antiemetikumok adása javasolt. Késői fellépéskor a szisztémás intoxikáció jele, folyadékpótlás elegendő.
<b>Csontvelő</b>			
	72-96	Vér sejtjes eleminek száma csökken (elsőként a fehérvérsejteké, ez a diagnosztikus értékű)	Vér sejtjes alkotóinak pótlása, csontvelő helyreállítása

I. táblázat: A kénmustár által okozott tünetek kialakulása és ellátása [3, 47]

Faj	LD <sub>50</sub> (mg/kg)		LC <sub>50</sub> (mg · min/m <sup>3</sup> )	
	sc. adva	iv. adva	bőrön át	
patkány	1,5-2,0	0,7-3,3	9	420-1500
egér	26	8,6	92	860-4140
kutya	-	0,2	20	600
nyúl	-	1,1-2,7	100	900
tengerimalac	-	-	20	1700
kecske	40	-	50	1900

II. a. táblázat: A kénmustár fontosabb toxikológiai értékei különböző állatfajokban [16]

	Szem	gőz (mg.min/m <sup>3</sup> )		folyadék (mg/kg)	
		Légutak	Bőr	Bőr	Bőr
küszöbdózis	5	50	150		70
IC <sub>50</sub>	200	300	1000		800
LD <sub>50</sub>	-	1500	10000		4000

**II. b. táblázat:** *A kémmustár fontosabb toxikológiai értékei emberben [47]*

Biokémiai jelenség	Beavatkozási stratégia	Példavegyület
DNS alkálalása	intracelluláris gyökfogók	<i>N</i> -acetilcisztein
DNS lánctörések	sejtciklus-inhibitorok	mimozin
PARP aktiváció	PARP <sup>1</sup> -gátlók	niacinamid
intracelluláris kalcium szint megnövekedése	kalcium szint modulátorok	BAPTA
proteolízis	proteáz gátlók	AEBSF
gyulladás	gyulladáscsökkentők	indometacin, olvanil

**III. táblázat:** *A kémmustár okozta tünetek elleni specifikus farmakoterápia támadáspontjai [5]*

– többszáz tesztelt vegyület közül – egy hatékonyságát sem ismerik el széles körben. Ezért továbbra is a támogató és tüneti kezelés az irányadó (*I. táblázat*). Ígéretes eredmények születtek ugyanakkor a bőrtünetek sebészeti ellátása tekintetében, melyek a gyógyulást nagymértékben felgyorsíthatják [9, 10].

### A kémmustár toxikokinetikai tulajdonságai

A toxikokinetikai kísérletek célja annak meghatározása, hogy egy mérgező anyag milyen úton juthat be a szervezetbe, hogyan oszlik meg az egyes szervek között, a szervek mely szöveteibe hatol be, milyen vegyületekké alakul át, és hogyan eliminálódik. A szisztémás, valamint az egyes szerveken belüli folyamatokat jellemző paraméterek azonosítása kinetikai modellek leírását teszi lehetővé, amelyek segítségével azután prospektív megállapításokat tehetünk. A kémmustár toxikokinetikai jellemzése így egyrészt a szervszöveti érintettség tisztázásához járul

hozzá, ami a tünetek fellépésének előrejelzését segíti, másrészt információkkal szolgál a mérgezés analitikai módszerekkel történő igazolásához, harmadrészt pedig a célzott terápia kifejlesztéséhez nyújt fontos támpontokat.

A kémmustár által okozott mérgezés leggyakrabban a bőr kontaminációjával jön létre [3]. A témában eddig publikált vizsgálatok túlnyomó többsége ezt, illetve a keringésbe hatoló dózis sorsát tanulmányozza; a szembe, a gasztrointesztinális traktusba, illetve a légutakba kerülő ágens kinetikai paramétereiről rendkívül szóróványosan közöltek adatokat. Az alábbiakban ezért a bőrön át penetráló, vagy közvetlenül a keringésbe jutott vegyület kinetikai tulajdonságait tekintjük át.

#### a. A bőrfelszínre kerülő kémmustár intradermális kinetikája

##### *Behatolás a bőrbe*

Az ágens behatolásának sebességét



és a penetráló mennyiséget a bőrfel-színről az epidermiszbe környezeti és élettani tényezők, valamint a harc-anyag jellemzői együttesen határo-zák meg. Ilyen tényezők pl. a kör-nyezeti hőmérséklet, a bőr fedettsége, a vegyület tisztasága, halmazállapota és mennyisége, valamint az expo-ziós idő.

Nagy *et al.* *in vivo* humán kísérletek során kimutatta, hogy az alkarra fel-vitt, telített kénmustárgőz 31 °C kör-nyezeti hőmérsékleten kb. kétszer olyan sebességgel penetrál a bőrbe, mint 21-23 °C-on. Ez a növekedés egyenesen arányos a vegyület il-lékonyságának növekedésével. Felté-telezhető ezért, hogy a bőr fiziológiás paramétereinek változásán kívül a kénmustár termodinamikai aktivi-tásának növekedése is szerepet ját-szik a penetrációs ráta alakulásában [11].

A bőrfelületen annak 35 °C feletti hőmérséklete miatt a kénmustár il-lékonyága jelentős; a fedetlen bőrre juttatott vegyület kb. 80%-a jut vissza a légtérbe [12]. Az evaporáció mind-azonáltal nemcsak az ágens bőr-felületen maradó frakcióját érinti, de a már behatolt mennyiség egy része is újra a felszínre, majd a légtérbe kerül. Az elillanó frakció nagysága az applikált dózistól függ, fedetlen bőr-ből több, mint 90%-a 30 percen belül távozik [12-14].

Megfigyelték, hogy a mérgezetekben a vezikáció főleg a testhajlatokban és azokon a területeken jellemző, ahol vékonyabb a bőr. Nem jellemző a hólyagképződés a tenyéren, a talpon vagy a hajas fejbőrön. Ezt egyrészt a

s. corneum vastagsága közötti testtá-jankénti eltéréseknek tulajdonítják, másrészt az izzadtságmirigyek növe-lik a penetráció mértékét. Régen azt gondolták, a bőrfelületi nedvesség az, ami segíti a behatolást, azonban ma úgy tartják, hogy az izzadtságmiri-gyek kivezetőcsövei csatornaként vesznek részt az ágens bejuttatásában [9].

Chilcott *et al.* *in vitro* körülmények között emberi bőr felszínére telített gőz és folyadék formájában feljut-tott kénmustár behatolási sebességét hasonlította össze. Annak ellenére, hogy a vegyület termodinamikai ak-tivitása között nem lehetett eltérés, a gőzfázisban lévő ágens percnként harmadakkora mennyisége penetrált, mint a folyadék halmazállapotú [12]. Ez a megállapítás különbözik koráb-bi vizsgálatok eredményeitől (ld. például [11]). Chilcott *et al.* szerint elképzelhető, hogy az eltérést az ágens és a bőr valamely kompo-nense(i) közötti dóziszfüggő kölcsön-hatás okozza [12].

A dekontamináció szempontjából fontos tény, hogy a kénmustár bőrre kerülésekor a behatolás azonnal meg-kezdődik. Ezt bizonyította többek között egy *in vivo* humán vizsgálat sorozat, amely során a fedett gőztér-ben applikált ágens behatolását már a kísérlet kezdete utáni első minta-vételkor (3 perc) észlelték. A pen-et-ráció sebessége a 0-3 perc interval-lumban a 30 perc alatt átlagosan mért ráta kb. 70%-a volt [11]. 60 perces, *in vivo* körülmények között végzett ex-pozíció során a behatolás sebességét patkányok fedett bőrébe az applikált mennyiség növekedésével egyenesen

Modell	Körülmények	Behatolási sebesség ( $\mu\text{g cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ )
emberi mellbőr	fedett, <i>in vitro</i>	1,18 (30 °C)
emberi epidermisz membrán	fedett, <i>in vitro</i>	4,80 (30 °C)
sértés epidermisz membrán	fedett, <i>in vitro</i>	6,85 (30 °C)
emberi alkar bőr	fedett, <i>in vivo</i>	1,4-2,7 (21-31 °C)
emberi hasi bőr	fedett, <i>in vivo</i>	2,2 (N/A)
sértés hasi bőr	fedett, <i>in vivo</i>	0,67 (N/A)
nyúl hasi bőr	fedett, <i>in vivo</i>	6,0 (N/A)
csupasz tengerimalac háta	fedett, <i>in vivo</i>	2,0 (21 °C)

IV. táblázat: A kénmustár behatolási sebessége a bőrbe különböző modellekben

Rekesz	A felvitt dózis hányada (%)	
	2 óra után	8 óra után
bőrfelszín	0,25	0,1
s. corneum	0,35	0,25
corium nélküli bőr	1,8	2,0
corium	0,38	0,42
elvezető vénák	1,5	4
teljes penetráló dózis	4,03	6,67

V. táblázat: A bőrfelszínről behatoló kénmustár intradermális megoszlása Riviere et al. rekeszmodellje alapján [14, 49]

arányosnak találták  $0,2-3,8 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$  dózis között, előlött azonban telítési görbét kaptak, amely  $6 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ -nél érte el a platót ( $7 \mu\text{g cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ ). Kis mennyiségeknél a dózis 81%-a,  $10 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$  adagnál azonban már csak 50%-a penetrált ez idő alatt, azonban 6 órás expozíció esetén dózistól függetlenül 95%-os bejutást mértek. Az applikátorban maradt ágens mennyisége ezután további 18 órás expozíció során sem csökkent [13, 15]. Humán *in vivo* mérések szerint a hasi bőrbe történő penetráció sebessége  $1-4 \mu\text{g cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$  [16].

#### Megoszlás a bőr rétegei között

A behatoló kénmustár megoszlik az epidermisz, a dermisz és a corium között, nagyobb része – patkányokban legalább 75%-a – pedig a keringésbe továbbítódik [13]. Az ágens az egyes

szövetekben (1) jelen van endogén molekulákhoz irreverzibilisen kötött állapotban, (2) részben szabad formában marad, továbbá (3) hidrolízist, esetleg más átalakulást szenved. Ezeket a folyamatokat egyelőre nem ismerjük teljesen. A bőrben a kénmustár az epidermális keratinociták, melanociták DNS-éhez, RNS-éhez és fehérjéihez kötve azok működését és osztódását gátolja, valamint a s. basale és a dermis bazális membránjának szoros kapcsolatát biztosító fehérjekomplexet alkilálva azok ellen irányuló autoimmun reakciót vált ki. Utóbbi folyamat okolható részben a hólyagok képződéséért (a szórtüszők és hajhagymák jelenlétének is fontos szerep jut [9]). Sokáig tartotta magát az a dogma, hogy a bőrben nincs szabad frakció, azonban Chilcott et al. 2-10-szer akkora koncentrációban mért szabad (éterrel kiextrahálható) kén-



mustárt epidermisz-membránokban, mint fixáltat, sőt azt találta, hogy a bejutó dózis több, mint 30%-a így kumulálódott. A tüneteket kiváltó, fixált frakció – ezt más vizsgálatok is alátámasztják – a penetráló mennyiség mindössze 1-2%-át teszi ki. A szerzők jelentéktelennek találták a metabolitokká történő átalakulást is: az epidermiszben még 24 óra után is csak a feljuttatott dózis 7,6%-a szenvedett hidrolízist [12].

A folyadékként feljuttatott kénmustár a dermiszről hőszeparálással leválasztott emberi epidermiszen átlagosan kb.  $290 \mu\text{g cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$  sebességgel jut át, ez kb. négyszer nagyobb, mint a corium nélküli bőr permeabilitása. Az arány nem tükrözi az epidermisz és a dermisz vastagságának arányát, ami arra utal, hogy utóbbi szintén rezervoárként tart vissza bizonyos mennyiséget [12]. *Riviere et al.* izolált-perfundált tengerimalac bőrben *in vitro* rekeszmodellt generált  $^{14}\text{C}$  izotóppal jelzett kénmustár megoszlásának leírása céljából (2. ábra). A felvitel fedetlen bőrre történt. A szubkután zsírszövetbe történő penetráció sebességi állandóját mintegy két nagyságrenddel kisebbnek találták, mint a többi érintett szövet közötti megoszlás esetén. A mélyebb szövetekbe hatolást leíró sebességi állandók egymástól nem tértek el jelentősen, ami az egyes szöveteken belüli fixáció igen gyors végbemenetelét tükrözi, továbbá arra utal, hogy nincs olyan szövet, amely tartósan kiemelkedő kapacitással kumulálna az ágenst. Fontos megállapítás, hogy eltérően a farmakokinetikai modellektől, a kénmustár

sebességi állandói nem kivétel nélkül lineárisak; a dermisz és az elvezető vénák közötti megoszlás sebessége az expozíció óta eltelt idő függvényeként alakul és exponenciális egyenlettel írható le. Ennek lehetséges okaként a fokozott prosztaglandin-termelést jelölik meg, amely a kiserek permeabilitásának változását eredményezi. A kísérletek során 2, illetve 8 órás expozíció után mérték a bőrfelszín, a s. corneum, az irha nélküli bőr és a corium  $^{14}\text{C}$  tartalmát, valamint az áthatoló mennyiséget (V. táblázat). A legnagyobb dózist a dermiszben találták; a bőrfelszínen, a s. corneumban és a coriumban ennek kevesebb, mint a negyede volt mérhető. A teljes penetráló mennyiség 8 óra után is mindössze 6,2% volt, ez kb. 90%-kal kevesebb, mint a telített gőztérből behatoló kénmustár mennyisége [14].

A vezikáció szempontjából az emberi bőrt jól modellező csupasz tengerimalac bőrében  $^{14}\text{C}$ -nel jelzett kénmustárral szembeni 7 perces, telített gőztérben történő expozíció után 1 óra alatt a felére esett a mérhető radioaktivitás. 24 óra múlva (ekkorra további 30%-os dóziscsökkenést regisztráltak) az epidermisz és a dermisz között 62:38 arányban oszlott meg a  $^{14}\text{C}$ . Az abszorbeált dózis 11%-át mérték ekkor az epidermiszben [17]. A megoszlási arány nem korrelál a *Riviere et al.* [14] által közölttel; ennek több oka lehet (anatómiai és biokémiai eltérések, a gőztér telítettsége, stb.), viszont egyértelműen felhívja a figyelmet a kinetikai paraméterek modelltől való függésére (ld. a IV. táblázatot is).

*Retenció a bőrben*

Patkányokban  $^{35}\text{S}$  izotóppal jelzett kénmustár bőrre történő juttatását követően  $1 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$  alatti mennyiségnél kb. két hétig volt mérhető radioaktivitás a bőrben, ennél nagyobb adag felvitelekor azonban 4 hét után is jelentős dózist mértek. Az alkalmazás helyén 6 hét elteltével még maradt radioaktív kén. A bőrben maradó ágens mennyisége az alkalmazott dózis növekedésével egyenes arányban nő, egészen  $16 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$  dózsigis [13]. *Chilcott et al.* már idézett kísérleteik során 24 óra után is jelentős mennyiségben nyerték ki az anyavegyületet [12].

**b. A keringésbe jutó kénmustár sorsa***Megoszlás a vér kompartmentjei és a szervek között*

A keringésbe közvetlenül bejuttatott kénmustár gyorsan penetrál a perifériás szövetekbe és a vér sejtsejtszerű elemeibe. *Smith et al.* szerint intravénás beadást követően emberekben a beadott mennyiség 80 %-a 1 perc alatt eltűnt a vérből, azonban a bennmaradó frakció mennyisége ezután csak lassan csökkent [18]. *Davison et al.* a keringésben maradó frakciót még két nap után is változatlanul találta mind a plazmában, mind pedig a vörösvérsejtben [19]. Patkányokban izotóppal jelzett ágens v. femoralisba történő beadása után a vérplazmában 96 h után is mértek radioaktivitást, de kevesebbet, mint a v. jugularisba történő bejuttatáskor [20]. Patkányok bőrére történő feljuttatást követően a kénmustár 15 perc múlva már kimutatható volt a keringésben; az összes

dózis legalább 75 %-a került be az erekbe [13].

A kénmustár nagy affinitással penetrál a vörösvérsejtbe, *Hambrook et al.* szerint a vérben megjelenő mennyiség több, mint 90%-a az eritrocitákban mérhető [13]. Az ágens a hemoglobin globulinláncához több ponton kapcsolódik, a vörösvérsejt membránjában ugyanakkor csak kis mennyiségeket mutattak ki [13, 21-24]. Vérhez *in vitro* történő hozzáadása után a fehérvérsejt DNS-ével képzett aduktjait is izolálták [25]. A plazmában a bejutás után a kénmustár koncentrációja gyorsan csökken, plazmafehérjékhez való kötődését *Hambrook et al.* jelentéktelennek feltételezte, miután azok féléletidejénél jelentősen rövidebb ideig mértek izotóppal jelzett kénmustárból származó radioaktivitást a szérumban [13]. *Noort et al.* ugyanakkor igazolták, hogy a szérum albumin egyetlen cisztein reziduumát a vegyület alkilálja [26].

Az újabb vizsgálatok eredményei a kénmustár vérplazma és vörösvérsejt közötti megoszlásával kapcsolatban némi eltérést mutatnak a korábbi kísérletek során tapasztaltaktól (vö. [13] és [18, 19]). Ennek oka nem világos, a modellek közötti eltérések szerepe azonban ismét felvetődik.

Az érpályákat elhagyó mustár az agyba és a perifériás szervekbe penetrál. Patkányokban kétféle bejuttatást (v. femoralis és v. jugularis) követően eltérő megoszlást tapasztaltak (*VI. táblázat*). Ennek oka az volt, hogy a v. femoralis kisebb perfundáltsága miatt az ágens nagy része kilépett a vázizmokba, és azok aponeurosisaiban



Szerv	Átlagosan mért radioaktivitás ( $\mu\text{g eq/ml}$ vagy $\text{g}$ )			
	5 perc után		6 óra után	
	A módszer	B módszer	A módszer	B módszer
teljes vér	1,37	4,15	2,19	3,19
vérplazma	1,26	3,22	1,65	1,61
vese	3,65	13,97	9,98	8,97
máj	1,41	5,56	2,53	1,95
gyomor+belek	0,49	2,89	2,02	2,03
szív	1,32	4,64	1,39	2,08
tüdő	1,73	4,83	1,75	2,20
agy	0,79	4,52	1,24	1,91
lép	0,64	3,62	1,58	2,40
szem	0,22	2,55	0,66	0,85
herék	0,37	2,5	0,87	1,07

**VI. táblázat:** 2,5 mg/kg kénmustár megoszlása a fontosabb szervekben a v. femoralisba (A módszer), illetve a v. jugularisba (B módszer) történő beadás esetén, patkányokban [20]

Szerv	Koncentráció
agy	10,7 mg/kg
liquor	1,9 mg/l
máj	2,4 mg/kg
vesék	5,6 mg/kg
lép	1,5 mg/kg
tüdő	0,8 mg/kg
vázizom	3,9 mg/kg
subcutan zsírszövet	15,1 mg/kg
hasi bőr	8,4 mg/kg
bőr + subcutan zsírszövet	11,8 mg/kg
vér	1,1 mg/l
vizelet	kimutatási határ alatt

### VII. táblázat:

A kénmustár koncentrációja a fontosabb szervekben egy iráni mérgezett holttestében, 7 nappal az expozíció után [27]

kumulálódott. Bár a megoszlásbeli különbségek 6 óra után látszólag megszűntek, a v. femoralisba injektált dózis több, mint 20%-a még mindig az intoxikált láb vázizmaiban volt mérhető [20]. Drasch et al. egy, a mérgezés után 7 nappal elhunyt páciens szöveteiben állapította meg a kénmustár mennyiségét. A legnagyobb koncentrációkat az agyban, a

bőrben és a zsírszövetekben mérte, azonban a vesé és a vázizmok is jelentős mennyiséget tartalmaztak. A vizsgálatok jelentősége kettős: egyrészt látható, hogy a vegyület a lipidekben dús szövetekben és a vesében kumulálódik, továbbá átjut a vér-agy gáton, másrészt az eredmények azt mutatják, hogy a vegyület intakt formában is tartósan kimutatható a szervezetben (VII. táblázat) [27].

A kénmustár metabolizmusa és kiválasztódása

**Metabolizmus.** A kénmustár kémiai tulajdonságaiból eredően nagyon sok endogén molekulával reagál, a képződő nagyszámú addukt és metabolit közül a legtöbb kimutatására sor került. A legkézenfekvőbb termék az anyavegyület hidrolízisekor keletkező tiodiglikol, amelyet a bőrben, a vérben és a vizeletben is megtaláltak, főleg savlabilis konjugátumok formájában [12, 18, 19, 28, 30]. A hidrolízis nem enzimátikus folyamatként játszódik le. A tiodiglikol oxidációs termékét, a tiodiglikol-szulfoxidot vizeletben mutatták ki [31], ahol a vizs-

gálatok szerint a tioidiglikolnál sokkal nagyobb mennyiségben jelenik meg. A termékek a mustár bőrre történő feljuttatása után 6 órán belül elérik csúcskoncentrációjukat a vizeletben, azonban kis töménységben legalább 8 napon át kimutathatók [32]. Összesen 3-14 %-át teszik ki a vizeletben található metabolitoknak [18, 32].

A kénmustár és oxidációs termékei a glutationhoz is nagy affinitással kapcsolódnak. A keletkező mono- és bisz-acetilcisztein-konjugátumok kis mennyiségben változatlan formában, nagyrészt azonban a  $\beta$ -liáz enzim által lehasított fragmensekként (1,1'-szulfonil-bisz(2-metilszulfonil)-etán, illetve 1-metilszulfonil-2-(2-metil)-etilszulfonil-etán) ürülnek, a vizeletbe kerülő bomlástermékek mennyiségének 2-5%-át kitevé. Maximális koncentrációjukat 1 nap után mérték [32, 33].

A további, vizeletben megjelenő metabolitok között a bisz- $\beta$ -klóretil-szulfonon és bisz- $\beta$ -klóretil-szulfonon (a kénmustár oxidációs termékein) kívül a tioidiglikolsavat, az izetionsavat, a szulfoecetsavat, illetve a szulfát-iont említik [18, 19]. A vérplazmában az anyavegyületen és a tioidiglikolon kívül hisztidinnel képzett adduktját, az  $N_1$ -(2-hidroxi-etil-tioetil)-4-metilimidazol mutatták ki, amely a vizeletbe is kiválasztódott [34].

*Exkréció.* A legjelentősebb távozási útvonal a vese, azonban az epében és a székletben is megjelenik a kénmustár, vagy valamelyik származék. *Hambrook et al.*  $^{35}\text{S}$  izotóppal jelzett ágens patkánynak iv. és ip. történő beadása után a radioaktivitás kb.

60%-át a vizeletben mérte. Az így távozó frakció fele a beadást követő 6 órán belül, másik fele további 18 óra alatt megjelent, és kisebb mennyiségben ugyan, de a továbbiakban is folytatódott a kiválasztás a vesén át (5  $\mu\text{mol/kg}$  dózisonál 105 napig). Perkután abszorpciót követően a vizeletben 6 óra után már csak kis mennyiségek voltak mérhetőek. A széklettel az iv. illetve ip. beadott dózis legfeljebb 10%-a ürült a beadás után 6-24 órával. Bőrön át történő felszívódás után a székletben több, mint 50 napig volt mérhető radioaktivitás, melynek a teljes dózishoz viszonyított mennyisége a dózis növelésével arányosan nőtt. Ez felveti a vese kiválasztó kapacitásának korlátozottságát [15].

Humán kísérletekben a radioaktív vegyület kb. 50%-a 48 óra alatt ürült bőrre történő felvitel után a vizelettel és az epével [18]. Két terminális stádiumban lévő rákbetegnek intavénásan beadott izotóppal jelzett kénmustárból származó radioaktivitás összesen 26,5 %-a volt mérhető a vizeletben. Az exkréció 48 óráig tartott, a legintenzívebben a beadás utáni 6-12. óra között ürült az izotóp [19].

### **A kénmustár okozta mérgezés igazolása bioanalitikai módszerekkel**

A kénmustár és metabolitjainak különböző szervekből történő kimutatása elméletileg sokféleképpen megvalósítható, azonban a meghatározandó vegyületekkel szemben támasztott követelmények – az adott szervben, szövetben csak a mérgezéskor kimutatható, akkor viszont tartós jelenlét, a mintaelőkészítés és a



mérés során tanúsított stabilitás, valamint a kinyerhető mennyiség – leszűkíti az intoxikáció igazolására alkalmas célvegyületek körét.

Elsőként az anyavegyület kimutatására dolgoztak ki metodikákat kifejezetten vizeletből történő meghatározás céljából. *Vycudilik* gázkromatográffal kapcsolt tömegspektrométer (GC-MS) segítségével a kénmustáron kívül a bisz-(2-kóretil)-diszulfid, az 1,2-bisz-(2-klóretiltio)-etán és a bisz-(2-klóretil-tioetil)-éter jelenlétét is igazolta az expozíció követően mérgezett páciensek vizeletében, 1-1,5 ppb kimutatási határral [35]. A kimutatott vegyületek egészséges emberek mintáiban nem voltak jelen, így jelenlétük a mérgezésre specifikusnak bizonyult.

*Wils et al.* iráni mérgezetten vizeletében mérte a tioldiglikol koncentrációját szintén GC-MS berendezés segítségével [28, 29]. Ennek során magas ( $\leq 55$  ng/ml) koncentrációban mérték a metabolitot egészséges személyek mintáiban is [28]. Következtetésüket, hogy a tioldiglikol emiatt nem alkalmas vegyület a kénmustár mérgezés egyértelmű bizonyítására, *Black et al.* kísérletei megerősítették azzal a kiegészítéssel, hogy a hidrolízis-termékből keletkező további vegyületekre ugyanez igaz [33]. Ők GC-MS, illetve gázkromatográffal kapcsolt tandem tömegspektrométer (GC-MS/MS) segítségével további metabolitokat is izoláltak a vérben és a vizeletben [30, 31, 36]. Vizsgálataik során a glutationnal képzett konjugátumokból  $\beta$ -liáz által lehasított fragmensek minden szempontból al-

kalmas célvegyületnek bizonyultak a kénmustár szervezetbe jutásának érzékeny igazolására [37].

Az  $N_1$ -(2-hidroxietyl-tioetyl)-4-metilimidazol mellett egy, a DNS alkilálását követően felszabaduló és a vizeletben megjelenő terméket is azonosítottak folyadékkromatográffal kapcsolt tandem tömegspektrométer (LC-MS/MS) segítségével. Az  $N_7$ -(2-hidroxietyl-tioetyl)-guanin tengerimalacok vizeletében volt mérhető az intravénás beadást követő 48 órán belül [38]. A metabolit kimutatását később bőrből és vérből származó mintákban is megoldották (forrás ismeretlen, ld. [39]).

A kénmustár-expozíció vérből történő igazolására tömegspektrometriás módszereket és ELISA eljárást dolgoztak ki. Utóbbi alapjául a fehérvérsejtek DNS-ével képzett addukt  $N_7$ -(2-hidroxietyl-tioetyl)-guanin reziduumának szubsztrátként történő alkalmazása szolgál [25, 40]. A plazmában az  $N_1$ -(2-hidroxietyl-tioetyl)-4-metilimidazol és az albumin 34-es pozícióban lévő ciszteinjével alkotott konjugátum LC-MS/MS készülékkel történő mérése tűnik ígéretesnek [26, 34]. Az anyavegyület szérumból történő meghatározására szilárd fázisú extrakciót követő, GC-MS technikával történő analízist [41], valamint nagy nyomású folyadékkromatográfiás (HPLC) elválasztás után ultraibolya detektorral (200 nm hullámhossz) történő kimutatást írtak le [42].

A fentiek ellenére ma a kénmustár biológiai mintákból történő kimutatásának legjelentősebb módszerei a hemoglobinnal képzett adduktok mé-

résén alapulnak. Fontosságukat az adja, hogy a globin-addukt a vérben a vörösvérsejtek élettartamával megegyező ideig (patkányokban 65, emberben 120 napig) van jelen, így az expozíció igazolásának lehetőségét az eddig felsorolt technikáknál sokkal hosszabb távon teszi lehetővé. Az adduktok stabilak (szemben pl. a DNS-adduktokkal, melyek a repair-mechanizmusok révén gyorsan eliminációra kerülnek), a hemoglobin koncentrációja a vérben rendkívül nagy (140 mg/ml), és a mintaelőkészítést egyszerűsíti, hogy a globin izolálása rutineljárásnak számít [39]. A hemoglobin kénmustár által alkilált aminosav-maradékait azonosították [21, 23, 24] és úgy találták, hogy ezek közül az N-terminális valinnal képzett addukt izolálható a legegyszerűbben, módosított *Edman*-eljárás segítségével, amit GC-MS/MS berendezéssel való analízis követ [22]. A metodikát emberi mintáknál is sikeresen alkalmazták a kénmustárral szembeni expozíció igazolására [43, 44].

Leggyakrabban exponált szervként a bőr, mint matrix jelentősége sem hanyagolható el. *Van der Schans et al.* a kénmustár keratinnal képzett adduktjának immunkémiai kimutatására dolgozott ki eljárást. Az *ex vivo* körülmények között végzett, rövid ideig (1 perc) tartó expozíciót követően szendvics-technikával állították elő az immunkomplexeket, melyeket ezután fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltak. A technika harctéren is alkalmazható detektor kifejlesztéséhez szolgálhat alapul [45].

## Következtetések

A kénmustár által előidézett kóros folyamatok befolyásolásához nélkülözhetetlen azok időbeni alakulásának ismerete. Az elmúlt 20 évben sok erőfeszítést tettek az ágens biokémiai és szöveti szintű hatásmechanizmusának megértése érdekében, azonban toxikokinetikai paramétereinek leírásával kapcsolatban kevés új közlemény látott napvilágot. A publikált vizsgálatok döntő többségét izotóppal ( $^{35}\text{S}$ ,  $^{14}\text{C}$ ) jelzett kénmustárral végezték; ritkán került sor a radioaktivitás molekuláris eredetének meghatározására, vagy akár a különböző izotópokkal jelzett mustár alkalmazása után mérhető paraméterek összehasonlítására. A következtetések levonásánál ezért mindig szem előtt kell tartani, hogy az egyes paraméterek a jelzett elem sorsára vonatkoznak, és az irreverzibilis kötések miatt sokszor azoknak a makromolekuláknak az eliminációja szerint alakulnak, melyekhez a kénmustár nagy affinitással kötődik (ld. hemoglobin).

A mustár penetrációja a bőrbe a kontaktus pillanatában megkezdődik. A bekerülő dózis nagyobbik része a szisztémás keringésbe is bejut, azonban jelentős mennyiség marad az expozíció helyén is, melynek több, mint 90%-a még legalább 18 órán át szabad formában van jelen. Nem tisztázott, hogy ennek a frakciónak pontosan milyen szerepe van a tünetek fejlődésében, feltételezhető azonban, hogy a bőrtünetek diffúz terjedéséért ez a felelős. Megfigyelték, hogy a hematopoiesis gátlásán és központi



idegrendszeri hatásokon kívül alsólégúti tünetek is felléptek nagyobb mennyiség perkután abszorpcióját követően [2, 3]. Nincs elegendő adat arra vonatkozóan, hogy az így érintett szervekbe milyen mértékben és sebességgel hatol be az ágens, azonban a bőrben szabad formában perzisztáló mustár szisztémás tünetek kifejlődésére gyakorolt hatásának lehetőségét alátámasztja az a tény, hogy a keringésbe közvetlenül beadott vegyület eliminációja a perkután abszorpció után megfigyelttől eltérően alakul [13].

Több szerző kiemeli a kénmustár fedetlen bőrből történő evaporációjának jelentőségét. Mivel fedetlen bőrből az ágens párologása az expozíció végét követő első 30 perc során a legjelentősebb, megfontolandó a bőrfelület dekorporáció után történő fedetlenül hagyása, amennyiben az biztonságosnak tekinthető (légtér szennyezettsége, környezeti hőmérséklet, stb.).

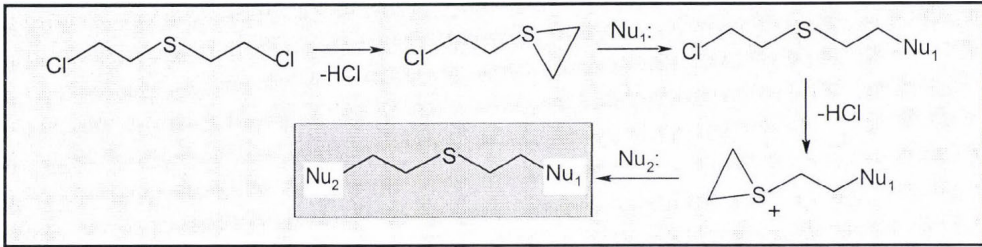
Máig nem létezik általánosan elfogadott modell a kénmustár bőrben történő viselkedésének jellemzésére és nem született tanulmány a különböző *in vitro*, valamint *in vivo* modellek során kapott eredmények összehasonlítására. A sokféle modell alkalmazása részben azzal magyarázható, hogy azokat többnyire egy-egy jelenség vizsgálatára fejlesztették ki. Humán *ex vivo* mintákkal egyelőre a bőrben végbemenő folyamatokat karakterizálták, az ezekkel kapott eredmények jó összefüggést mutattak a régi *in vivo* humán méréseknél kapott értékekkel [12]. Nem minden esetben

vizsgálták a feljuttatott mennyiség és a megfigyelt jelenségek összefüggését sem.

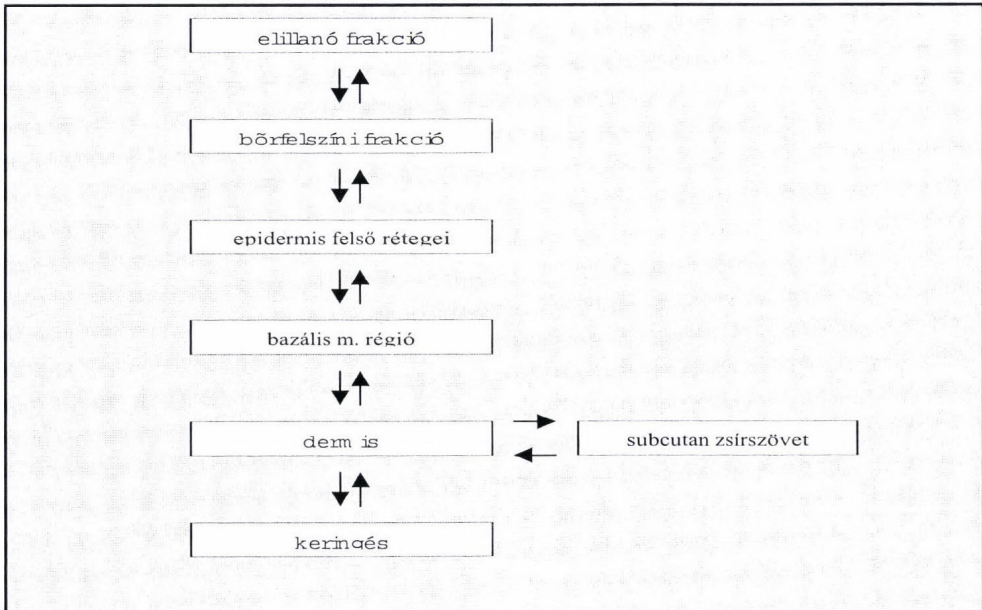
A bőr rezervoár-funkciójára vonatkozó eredmények ellentmondásosak, azonban a korábbi elképzeléssel szemben úgy tűnik, hogy az epidermiszben és a dermisz különböző alkotóelemeiben is történik kumuláció. Ezek pontos lokalizálására és jelentőségük feltárására vonatkozóan nem közöltek eredményeket. A kísérleti adatok ugyanakkor azt sugallják, hogy a dermális penetráció során a corium nem köt meg vagy old be jelentős mennyiségű mustárt.

Több tanulmány kiemeli, hogy az egyes dermális *in vitro* modellekben mért értékek közötti eltérésekben szerepe lehet annak, hogy a bőrminták különböző testtájából származnak. Felvetődik ezért az a kérdés, hogy osztályozhatók-e az anatómiai régiók az abszorpció, megoszlás és elimináció paramétereinek szempontjából. Kevés szerző tesz említést a humán rasszok közötti különbségek jelentőségéről is, pedig a bőr pigmentáltóságának bizonyítottan hatása van a tünetek kifejlődésére [3, 7]. Nagy *et al.* *in vivo* humán kísérleteik során úgy találták, hogy a penetráló kénmustár mennyisége afro-amerikai alanyokban megegyezett a fehér bőrű személyeknél mért értékkel, ők azonban nem vizsgálták az ágens sorsát a bőrön belül [11].

A kénmustárral szembeni expozíció kimutatására vérből és vizeletből többféle eljárást kidolgoztak, és bőrben való jelenlétének igazolására is elvi módszert írtak le. Nem áll ren-



1. ábra: A kénmustár hatásának kémiai mechanizmusa poláris közegben [16]



2. ábra: A bőrre feljuttatott, <sup>14</sup>C izotóppal jelzett kénmustár intradermális megoszlását leíró rekeszmodell [14]

delkezésre azonban analitikai eljárás az egyéb szervek exkrétumából (könnny, nyál, orrváladék, stb.) való kimutatásra. A vizeletből és vérből történő meghatározást nehezíti, hogy a szóba jövő analitok – a tiodiglikol kivételével – kereskedelmi forgalomban nem kaphatók, így az ágens biológiai mintákból történő kimutatását vállaló laboratóriumoknak preparatív szervek kémiai háttérrel kell rendelkezniük. Áttörés várható azonban a műszeres analitika rendkívül gyors

fejlődő irányzata, a bioszenzorokkal történő detektálás alkalmazásától. Ezzel kapcsolatosan már megszülettek az első eredmények [46].

A felsorolt problémák tisztázása, egységes modellek létrehozása és további szervekre való kiterjesztése hozzásegíthet ahhoz, hogy a jövőben időben és térben célzottan alkalmazott terápiás készítmények kifejlesztése váljon lehetségessé.



## IRODALOM

- [1] *Robinson, J.P., Leitenberg, M.*: The Problem of Chemical and Biological Warfare. Vol. I.: The Rise of CB Weapons. Stockholm International Peace Research Institute, Stockholm, 1971.
- [2] *Willems, J.L.*: Clinical Management of mustard gas casualties. *Ann. Med. Milit. Belg.*, 1989 35: 1-61.
- [3] *Sidell, F.R., Urbanetti, J.S., Smith, W.J., Hurst, C.G.*: Vesicants. In: *Zajtchuk, R., Bellamy, R.F. (ed.)*: Textbook of Military Medicine part 1. Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. Office of the Surgeon General, Department of the Army, USA, 1997.
- [4] *Halász L, Nagy K.*: Mérgező anyagok kémiaiája. Egyetemi jegyzet. ZMNE, Budapest, 2001.
- [5] *Smith, W.J., Gross, C.L.*: Sulfur mustard medical countermeasures in a nuclear environment. *Mil. Med.*, 2002, 167: S1; 101-2.
- [6] *Somani, S.M., Babu, S.*: Toxicodynamics of sulfur mustard. *Int J. Clin. Pharm. Therap. Toxicol*, 1989, 9: 419-35.
- [7] *Sulzberger, M.B., Baer, R.L., Kanof, A., Lowenberg, C.*: Skin sensitization to vesicant agents of chemical warfare. *J. Invest. Dermatol*, 1947, 8: 365-93.
- [8] *Ball, C.R., Connors, T.A.*: Reduction of the toxicity of „radiomimetic” alkylating agents by thiol pretreatment. VI: The mechanism of protection by cysteine. *Biochem. Pharmacol*, 1967, 16: 509-19.
- [9] *Rice, P., Brown, R.F.R., Lam, D.G.K., Chilcott, R.P., Bennett, N.J.*: Dermabrasion – a novel concept in the surgical management of sulphur mustard injuries. *Burns*, 2000, 26: 34-40.
- [10] *Graham, J.S., Schomaker, K.T., Glatter, R.D., Briscoe, C.M., Braue, E.H., Squibb, K.S.*: Efficacy of laser debridement with autologous split-thickness skin grafting in promoting improved healing of deep cutaneous sulphur mustard burns. *Burns*, 2002, 28: 719-30.
- [11] *Nagy S.M., Golumbic, K., Stein, W.H., Fruton, J.S., Bergmann, M.*: The penetration of vesicant vapors into human skin. *J. Gen. Physiol.*, 1946, 29: 441-69.
- [12] *Chilcott, R.P., Jenner, J., Carrick, W., Hotchkiss, S.A.M., Rice, P.*: Human skin absorption of bis-2-(chloroethyl) sulfide (sulphur mustard) in vitro. *J. Appl. Toxicol*, 2000, 20: 349-55.
- [13] *Hambrook, J.L., Howells, D.J., Schock, C.*: Biological fate of sulphur mustard (1,1'-thiobis(2-chloroethane)): uptake, distribution and retention of <sup>35</sup>S in skin and blood after cutaneous application of <sup>35</sup>S-sulphur mustard in rat and comparison with human blood in vitro. *Xenobiotica*, 1993, 23: 537-61.
- [14] *Riviere, J.L., Brooks, J.D., Williams, P.L., Monteiro-Riviere, N.A.*: Toxicokinetics of topical sulfur mustard penetration, disposition, and vascular toxicity in isolated perfused porcine skin. *Toxicol Appl. Pharmacol*, 1995, 135: 25-34.
- [15] *Hambrook, J.L., Harrison, J.M., Howells, D.J., Schock, C.*: Biological fate of sulphur mustard (1,1'-thiobis(2-chloroethane)): urinary and faecal excretion of <sup>35</sup>S by rat after injection or cutaneous application of <sup>35</sup>S-labelled sulphur mustard. *Xenobiotica*, 1992, 22: 65-75.
- [16] *Dacre, J.C., Goldman, M.*: Toxicology and pharmacology of the chemical warfare agent sulfur mustard. *Pharm. Rev.*, 1996, 48: 289-326.
- [17] *Logan, T.P., Millard, C.B., Shutz, M., Schulz, S.M., Lee, E.B., Bongiovanni, R.*: Cutaneous uptake of <sup>14</sup>C-HD vapor by the hairless guinea pig. *Drug Chem. Toxicol*, 1999, 22: 375-87.
- [18] *Smith, P.K., Nadkarni, M.V., Trams, E.G., Davison, C.*: Distribution and fate of alkylating agents. *Ann NY Acad. Sci*, 1958, 68: 834-52.
- [19] *Davison, C., Rozman, R.S., Smith, P.K.*: Metabolism of bis-beta-chloroethyl sulfide (sulfur mustard gas). *Biochem. Pharmacol*, 1961, 7: 65-74.

- [20] *Maisonneuve, A., Callebat, I., Debordes, L., Coppet, L.*: Distribution of [14C] sulfur mustard in rats after intravenous exposure. *Toxicol Appl. Pharmacol*, 1994, 125: 281-7.
- [21] *Noort, D., Verheij, E.R., Hulst, A.G., de Jong, L.P.A., Benschop, H.P.*: Characterisation of sulfur mustard induced structural modifications in human haemoglobin by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chem. Res. Toxicol*, 1996, 9: 781-7.
- [22] *Fidder, A., Noort, D., de Jong, A.L., Trap, H.C., de Jong, L.P.A., Benschop, H.P.*: Monitoring of in vitro and in vivo exposure to sulfur mustard by GC/MS determination of the N-terminal valine adduct in haemoglobin after a modified Edman degradation. *Chem. Res. Toxicol*, 1996 9: 788-92.
- [23] *Noort, D., Hulst, A.G., Trap, H.C., de Jong, L.P.A., Benschop, H.P.*: Synthesis and mass spectrometric identification of the major amino acid adducts formed between sulphur mustard and haemoglobin human blood. *Arch. Toxicol*, 1997, 71: 171-8.
- [24] *Black, R.M., Harrison, J.M., Read, R.W.*: Biological fate of sulphur mustard: in vitro alkylation of human haemoglobin by sulphur mustard. *Xenobiotica*, 1997, 27: 11-32.
- [25] *Van der Schans, G.P., Scheffer, A.G., Mars-Groenendijk, R.H., Fidder, A., Benschop, H.P., Baan, R.B.*: Immunochemical detection of adducts of sulfur mustard to DNA of calf thymus and human white blood cells. *Chem. Res. Toxicol*, 1994, 7: 408-13.
- [26] *Noort, D., Hulst, A.G., de Jong, L.P.A., Benschop, H.P.*: Alkylation of human serum albumin by sulfur mustard in vitro and in vivo: mass spectrometric analysis of a cysteine adduct as a sensitive biomarker of exposure. *Chem. Res. Toxicol*, 1999, 12: 715-21.
- [27] *Drasch, G., Kretschmer, E., Kauert, G., von Meyer, L.*: Concentrations of mustard gas [bis(2-chloroethyl)sulfide] in the tissues of a victim of a vesicant exposure. *J. Forensic Sci*, 1987, 32: 1788-93.
- [28] *Wils, E.R.J., Hulst, A.G., de Jong, A.L., Verweij, A., Boter, H.L.*: Analysis of thiodiglycol in urine of victims of an alleged attack with mustard gas. *J. Anal. Toxicol*, 1985, 9: 254-7.
- [29] *Wils, E.R.J., Hulst, A., van Laar, J.*: Analysis of thiodiglycol in urine of victims of an alleged attack with mustard gas. Part II. *J. Anal. Toxicol*, 1988, 12: 15-9.
- [30] *Black, R.M., Read, R.W.*: Detection of trace levels of thiodiglycol in blood, plasma and urine using gas chromatography-electron capture negative-ion chemical ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 1988, 449: 261-70.
- [31] *Black, R.M., Brewster, K., Clarke, R.J., Hambrook, J.L., Harrison, J.M., Howells, J.D.*: Biological fate of sulphur mustard, 1,1'-thiobis(2-chloroethane): Isolation and identification of urinary metabolites following intraperitoneal administration to rat. *Xenobiotica*, 1992, 22: 405-18.
- [32] *Black, R.M., Hambrook, J.L., Howells, D.J., Read, R.W.*: Biological fate of sulphur mustard, 1,1'-thiobis(2-chloroethane). Urinary excretion profiles of hydrolysis products and  $\beta$ -lyase metabolites of sulphur mustard after cutaneous application in rats. *J. Anal. Toxicol*, 1992, 16: 79-84.
- [33] *Black, R.M., Clarke, R.J., Read, R.W.*: Analysis of 1,1'-sulphonylbis[2-(methylsulphonyl) ethane] and 1-methylsulphonyl-2-[2-(methylthio)ethylsulphonyl] ethane, metabolites of sulphur mustard, in urine using gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr*, 1991, 558: 405-14.
- [34] *Sandelowsky, I., Simon, G.A., Bel, P., Barak, R., Vincze, A.*: N<sub>1</sub>-(2-hydroxyethylthioethyl)-4-methyl imidazole (4-met-1-imid-thiodiglycol) in plasma and urine: a novel metabolite following dermal exposure to sulphur mustard. *Arch Toxicol*, 1992, 66: 296-7.
- [35] *Vycudilik, W.*: Detection of mustard gas (2-chloroethyl)-sulfide in urine. *Forensic Sci Int*, 1985, 28: 131-6.



- [36] Black, R.M., Read, R.W.: Improved methodology for the detection and quantification of urinary metabolites of sulfur mustard using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr*, 1995, 665: 97-105.
- [37] Black, R.M., Read, R.W.: Biological fate of sulphur mustard, 1,1'-thiobis(2-chloroethane): Identification of  $\beta$ -lyase metabolites and hydrolysis products in human urine. *Xenobiotica*, 1995, 25: 167-73.
- [38] Fidder, A., Noort, D., de Jong, L.P.A., Benschop, H.P., Hulst, A.G.: N<sub>2</sub>-(2-hydroxyethylthioethyl)-guanine: A novel urinary metabolite following exposure to sulphur mustard. *Arch. Toxicol*, 1996, 70: 854-5.
- [39] Noort, D., Benschop, H.P., Black, R.M.: Biomonitoring of exposure to chemical warfare agents: a review. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 2002, 184: 116-26.
- [40] Fidder, A., Moes, G.W.H., Scheffer, A., van der Schans, G.P., Baan, R.A., de Jong, L.P.A., Benschop, H.P.: Synthesis, characterization and quantitation of the major adducts formed between sulfur mustard and DNA of calf thymus and human blood. *Chem. Res. Toxicol*, 1994, 7: 199-204.
- [41] Maisonneuve, A., Callebat, I., Debordes, L., Coppet, L.: Specific and sensitive quantitation of 2,2'-dichlorodiethyl sulphide (sulphur mustard) in water, plasma and blood: application to toxicokinetic study in the rat after intravenous intoxication. *J. Chromatogr*, 1992, 583: 155-165.
- [42] Dang, R.S., Jeevaratnam, K., Sugendran, K., Malhotra, R.C., Raghuvveeran, C.D.: Solid phase extraction and reversed-phase high performance liquid chromatographic determination of sulfur mustard in blood. *J. Chromatogr*, 1994, 661: 341-5.
- [43] Black, R.M., Clarke, R.J., Harrison, J.M., Read, R.W.: Biological fate of sulphur mustard: Identification of valine and histidine adducts in haemoglobin from casualties of sulphur mustard poisoning. *Xenobiotica*, 1997, 27: 499-512.
- [44] Benschop, H.P., Van der Schans, G.P., Noort, D., Fidder, A., Mars-Groenendijk, R.H., De Jong, L.P.A.: Verification of exposure to sulphur mustard in two casualties of the Iran-Iraq conflict. *J. Anal. Toxicol*, 1997, 21: 249-51.
- [45] van der Schans, G.P., Noort, D., Mars-Groenendijk, R.H., Fidder, A., Chau, L.F., de Jong, L.P.A., Benschop, H.P.: Immunochemical detection of sulfur mustard adducts with keratins in the stratum corneum of human skin. *Chem. Res. Toxicol*, 2002, 15: 21-5.
- [46] Sanders, C.A., Rodriguez, M., Greenbaum, E.: Stand-off tissue-based biosensors for the detection of chemical warfare agents using photosynthetic fluorescence induction. *Biosens Bioelectron*, 2001, 16: 439-46.
- [47] Smith, W.J., Dunn, M.A.: Medical defense against blistering chemical warfare agents. *Arch. Dermatol*, 1991, 127: 1207-13.
- [48] Chilcott, R.P., Jenner, J., Hotchkiss, S.A.M., Rice, P.: In vitro skin absorption and decontamination of sulphur mustard: comparison of human and pig-ear skin. *J. Appl. Toxicol*, 2001, 21: 279-83.
- [49] Riviere, J.E., Smith, C.E., Budsaba, K., Brooks, J.D., Olajos, E.J., Salem, H., Monteiro-Riviere, N.A.: Use of methyl salicylate as a simulant to predict the percutaneous absorption of sulfur mustard. *J. Appl. Toxicol*, 2001, 21: 91-9.

1st.LtG. Karvaly M.D.M.C.,  
Col. (ret.) A. Gachályi,  
O. Boldis,  
Maj. Mária Mátyus M.D.M.C.,  
Maj. Gy. Kocsis M.D.M.C.,  
Capt. Natália Németh,  
Col. J. Fűrész M.D.M.C., med. habil.,  
Ph.D.

#### **A study on the biological fate of sulfur mustard**

Sulfur mustard (SM) is a lipophilic chemical warfare agent causing severe damage to all kinds of biological tissues it penetrates. The effects it exerts on barrier and systemic organs

as well as the kinetic profiles of these effects are of significance concerning the development of specific therapeutic approaches. Also, the verification of SM intoxication from various biological tissues and excrements is of importance both for medical and security reasons. In the present study the toxicological properties of sulfur mustard are reviewed along with the available analytical methods employed for its detection in biological samples.

*Karvaly Gellért gy. fhdgy.  
1555 Budapest, Pf. 68.*