

615.776.83/:547.466.8)—032(611.14)—092.22:616—12—008.31

ZMĚNY SRDEČNÍ EXCITABILITY PO INTRAVENÓZNÍM PODÁNÍ AMINOETYLISOTHIOURONIA Br.HBr (AET)

Kpt. MUDr. Pavel KUNA, doc. MUDr. Lubor VOKROUHLICKÝ, CSc.,
Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav J. E. Purkyně, katedra radiobiologie
(náčelník plk. prof. MUDr. Josef Mráz, CSc.),
lékařská fakulta Karlovy university, katedra patalogické fyziologie
(přednosta prof. MUDr. Rudolf Vávra, DrSc.),
Hradec Králové

Úvod

Aminoethylisothiuronium Br.HBr (AET) patří mezi radioprotektivní látky s výrazným účinkem u malých laboratorních zvířat (3, 5). Jeho ochranné působení, stejně jako u jiných thioalkylaminů [cysteaminu, cystaminu, tetrinu] uskutečňuje se převážně na molekulární úrovni a neuplatňují se tolik farmakologické účinky jako u tryptofanových derivátů, vyvolávajících hypoxemickou hypoxii vazokonstrikčního původu (12, 16). Při eventuálním praktickém užití těchto látek budou farmakologické vlastnosti preparátu ovlivňovat velikost dávky a způsob jeho podání.

S přihlédnutím k tomu, že thioalkylaminy výrazně ovlivňují kardiovaskulární soustavu (1, 4, 8), prověřili jsme vliv intravenózního jednorázového a opakovaného podání AET na srdeční

excitabilitu králíka. V tab. 1 uvádíme podle Knotta a Overmana (7) hemodynamické změny u psů po podání AET.

Tab. 1

Střední hodnoty hemodynamických změn u narkotizovaných psů po infúzi AET 100 mg/kg rychlostí 10 mg/kg/min. (Podle KNOTTA a OVERMANA 1961)

Ukazatel	Před infúzí	Po AET
Arteriální tlak (mm Hg)	125	190
Min. objem srdeční (ml/min./kg)	179	89
Systolický objem (ml/systolu)	14,9	8,4
Objem plazmy (ml/kg)	48	48,7
Cirkulační doba (sek.)	6,7	14,6
Periferní odpor (%)	100	218

Materiál a metodika

K pokusům jsme použili nenarkotizované králíky (šedé činčily), obojího pohlaví, váhy 2–3,5 kg z chovu Mezno. Podávali jsme aminoetylisthiouronium Br.HBr (AET) maďarské výroby ANTIRADON ve vodních roztocích 5 % o pH 4,25 v dávce 100 mg/kg nebo 7,5 % o pH 3,92 v dávce 150 mg/kg. Jedné skupině králíků jsme aplikovali roztok AET s pH upraveným na 7,3–7,5 pomocí 2,5 N NaOH. Všechny roztoky jsme připravili vždy 5–10 minut před podáním. Při kapénkové infúzi, trvající 4–6 minut, jsme podávali 5% roztok AET do celkové dávky 100 mg/kg.

Síran atropinu (SPOFA) byl aplikován i. v. v dávce 1 mg/kg váhy 10 minut před AET.

Oboustrannou krční vagotomii jsme zahájili vlevo, po 5 minutách dokončili vpravo. AET jsme aplikovali 10 minut po skončení operace.

Změny srdeční excitability jsme hodnotili ze zápisů ekg křivky přístrojem UNICARD (CHIRANA) na králíčích místěných ve Faradayově kleci v poloze na zádech. Minutovou frekvenci srdeční jsme přepočítávali z desetivteřinového záznamu. Do souboru hodnocených výsledků jsme zařadili nejvýraznější změny frekvence během injekce či infúze až do skončení druhé minuty od konce aplikace. Rozdíly průměrných hodnot jsme hodnotili statisticky užitím Studentova t-testu.

Přehled jednotlivých pokusných skupin ukazuje tabulka 2.

Tab. 2

Přehled jednotlivých pokusných skupin

Skupina	Počet králíků	Dávka AET v mg/kg	i. v. podání	Poznámka
1.	12	100	v. marginalis	—
2.	24	150	"	—
3.	10	150	"	opakovaně 5 dní
4.	12	100	"	infúze
5.	12	100	"	úprava pH
6.	12	150	"	předchozí podání atropinu
7.	12	150	"	předchozí vagotomie
8.	6	150	v. jugularis	—
9.	6	150	"	předchozí vagotomie
10.	12	2 ml fyziol. roztoku	v. marginalis	—

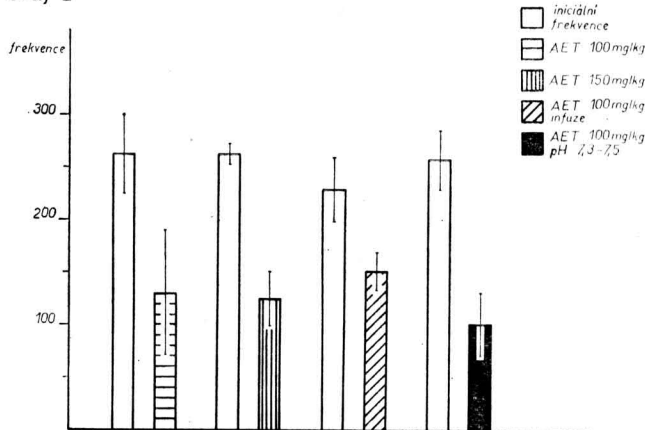
Výsledky

Během jedné minuty po jednorázovém i. v. podání 100 mg AET/kg vzniká výrazná sinusová bradykardie. Ve třech případech z 12 jsme pozorovali poruchy atrioventrikulárního vedení a objevily se i komorové extrasystoly, rychle pomíjivé. Po dávce 150 mg/kg byly extrasystoly častější. Dva králíci z 24 uhynuli do 30 minut po podání AET. U 7 králíků z 24 jsme viděli změny na segmentu ST v údobí 5.–20. minuty po aplikaci (4krát elevaci, 3krát depresi). Uvedené změny jsou přechodné. K úpravě ekg obra-

zu dochází nejpozději do 20. minuty po aplikaci. Pouze u uhynulých králíků se změny progresivně zhoršovaly do uhynutí zvířete (obr. 1–4).

Graf 1 srovnává průměrnou minutovou frekvenci před jednorázovou injekcí AET a po ní. Krátké úsečky jsou t-násobky směrodatné odchylky průměru pro $\alpha = 1\%$. AET v dávkách 100 a 150 mg/kg i. v. vysoce významně

Graf 1

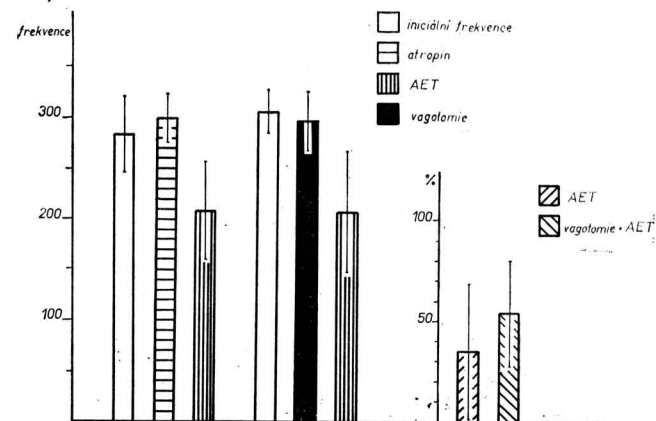


Vliv jednorázového podání AET na srdeční frekvenci králíka

zmenšuje srdeční frekvenci králíka. Pomalá aplikace AET kapénkovou infúzí během 4–6 minut vede k méně výraznému, avšak statisticky významnému útlumu sinusového uzlu, ve většině případů již během infúze. Úprava pH na 7,3 až 7,5 neodstranila ani nezmenšila negativně chronotropní účinek AET.

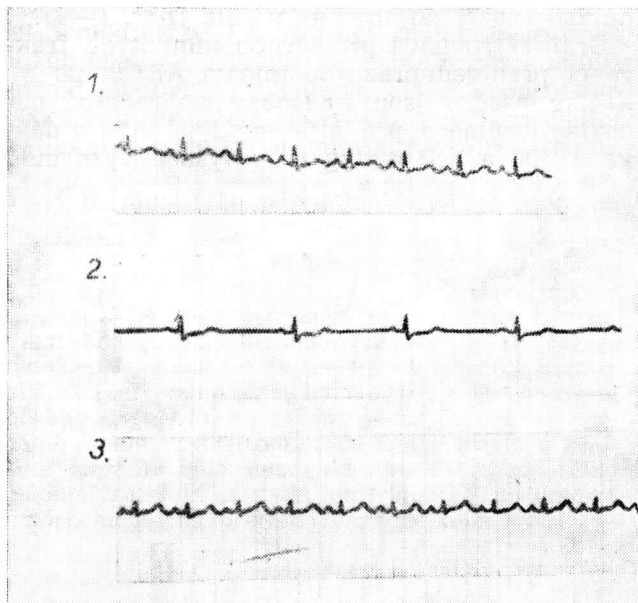
Oboustranná krční vagotomie nezrychlila srdeční frekvenci. Nezabránila statisticky významnému zpomalení srdeční frekvence po podání AET. Podobně atropin v dávce 1 mg/kg i. v. nezabránil signifikantnímu poklesu frekvence po AET (graf 2). Tento nálezní jsme potvrdili u vagotomovaných králíků aplikací AET do v. jugularis sin. s cílem zkrátit dobu přítomnosti podávané látky ve venózním řečišti (graf 2).

Graf 2



Vliv atropinu a vagotomie na zpomalení srdeční frekvence po AET. Levá část grafu: injekce AET do v. marginalis. Pravá část: injekce AET do v. jugul. sin.; hodnoty uvedeny v % frekvence před podáním AET

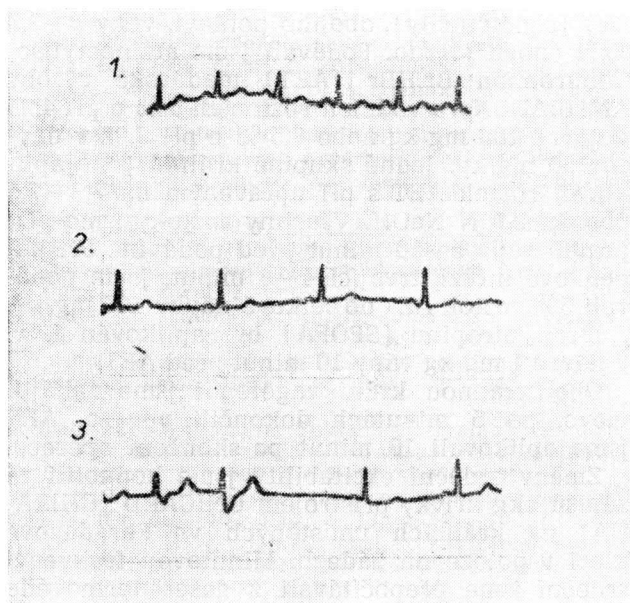
Obr. 1



Výrazná sinusová bradykardie s lehkou depresí úseku ST po 100 mg AET/kg i.v.

LEGENDA: 1. 28/5 KONTROLNÍ ZÁZNAM
2. PO AET 5"
3. 1'

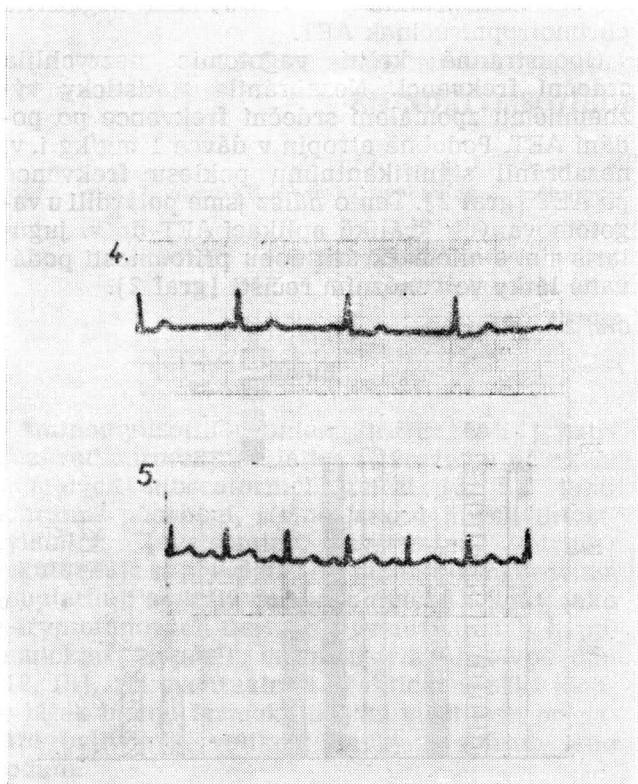
Obr. 2



Výrazná sin. bradykardie s výskytem komorových extrasystol po 150 mg AET/kg i.v.

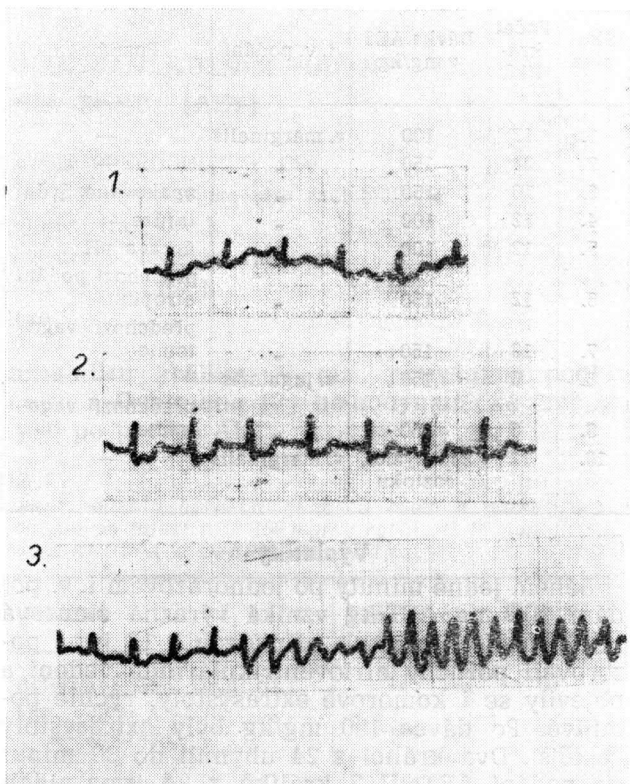
LEGENDA: 1. 29/4 KONTROLNÍ ZÁZNAM
2. PO AET 5"
3. 30"

Obr. 2 (pokračování)



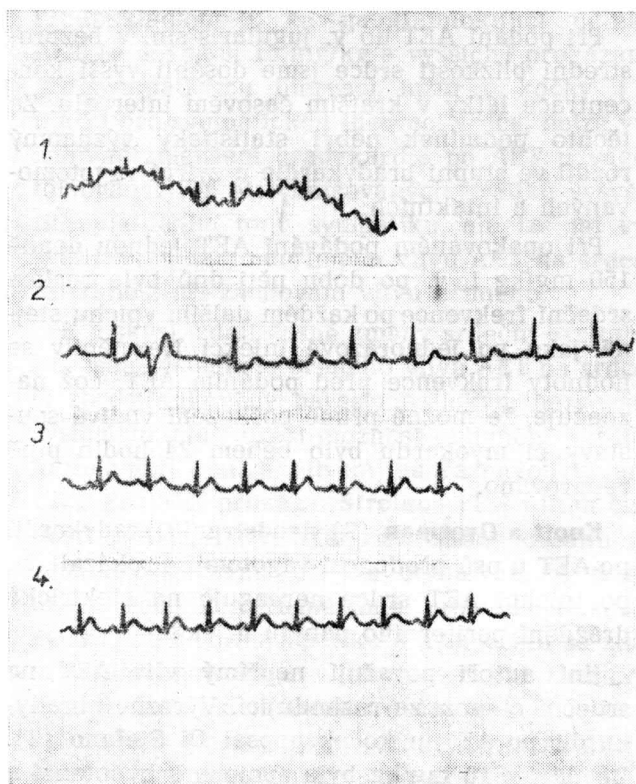
LEGENDA: 4. 29/4 PO AET 1'
5. 2'30"

Obr. 3



LEGENDA: 1. 29/9 KONTROLNÍ ZÁZNAM
2. PO AET 5"
3. 1'30"

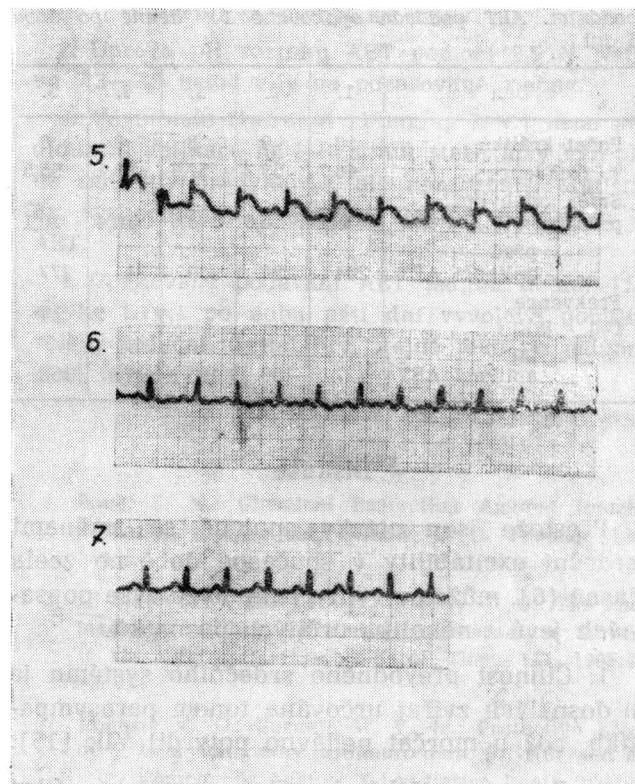
Obr. 4



Deprese úseku ST, přechod sinusového rytmu v komorovou fibrilaci po 150 mg AET/kg i. v.

LEGENDA: 1. 29/13 KONTROLNÍ ZÁZNAM
2. PO AET 5"
3. 3"
4. 5"

Obr. 4 (pokračování)



Sin. bradykardie, komorová extrasystolie a postupující elevace úseku ST s následnou úpravou po 150 mg AET/kg i. v.

LEGENDA: 5. 29/13 PO AET 10"
6. 15"
7. 20"

Přehled změn srdeční frekvence po jednorázovém podání AET do 2. minuty po skončení aplikace dává tab. 3. Relativní hodnoty srdeční frekvence jsme vyjadřovali v % hodnot frekvence před aplikací u každého králíka. V tabulce uvádíme průměrné hodnoty a příslušné směrodatné odchylky průměru. Vidíme, že pomalá injekce AET, atropin a vagotomie významně zmenšily bradykardii po AET. Po dobu 5 dnů

opakované podávání AET (jednou denně 150 mg/kg i. v.) způsobuje stejnou odpověď srdeční frekvence jako po jednorázové aplikaci s nevýznamnými rozdíly stupně jejího zpomalení. Frekvence před podáním AET se významně nelišila od frekvence před první aplikací. 4 králíci z 10 uhynuli do 5. dne aplikace (graf 3, tab. 4).

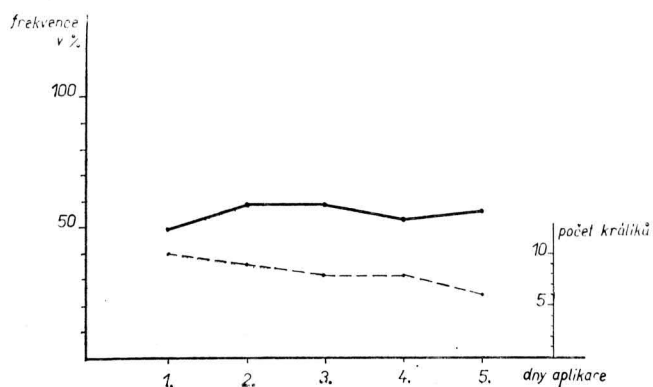
Jednorázová injekce 2 ml fyziologického roztoku nevyvolává významné změny srdeční frekvence ani ekg záznamu králíka.

Tab. 3

Hodnota srdeční frekvence po AET v % frekvence před podáním

Počet králíků	Výkon před aplikací	Dávka AET v mg/kg	Poznámka	frekvence %	Směrodatná odchylka průměru
12	—	100	—	50,4	3,9
24	—	150	—	48,1	3,4
12	—	100	infúze	72,2	5,1
12	—	100	pH 7,3—7,5	38,9	4,6
12	atropin	150	—	69,3	6,2
12	vagotomie	150	—	68,8	6,1
6	—	150	i. v. jugul.	35,7	13,6
6	vagotomie	150	i. v. jugul.	54,8	10,1
12	—	2 ml fyziol. roztoku	—	99,1	5,1

Graf 3



Hodnoty srdeční frekvence (v % původní frekvence před AET) po opakovaném podávání AET (150 mg/kg)

Tab. 4

Hodnoty srdeční frekvence po AET v % frekvence před podáním. AET podáván opakovaně 1X denně po dobu 5 dní

Den	1.	2.	3.	4.	5.
Počet králíků	10	9	8	8	6
% frekvence	48,7	58,2	57,7	52,1	55,5
Směr. odchylka průměru	6,1	6,6	8,5	10,4	10,1
před aplikací AET	264	263	269	281	277
Frekvence (za 1 min.)					
po aplikaci AET	127	150	155	146	152

Diskuse

Přestože jsou otázky spojené se změnami srdeční excitability v současné době ne zcela jasné (6), můžeme vyjít při analýze výše popsaných jevů z několika určitých poznatků.

1. Činnost převodného srdečního systému je u dospělých zvířat určována tonem parasymptiku, což u morčat nedávno potvrdil Vlk (15).

2. Parasymptická dorzální motorická jádra představují centrální kardiinhibiční centrum, jehož tonus je určován dostředivými vzruchy z receptorů v oblouku aorty a sinus caroticus. Působit na tato jádra je možné prostřednictvím nadřazených oddílů CNS nebo reflexně z velkých cév. Nelze vyloučit ani aferentní impulzaci z vagových receptorů v dutině pravé síně či komory.

Ovlivnění srdeční excitability prostřednictvím parasymptiku shrnuje možnosti nepřímého vlivu podaného AET.

Představa o **přímém** vlivu AET na vzrušotvorný sinusový uzel, či jiné oddíly rozvodné soustavy nebo vlastní metabolismus myokardu je podporována zjištěním **Rusanova** (11), že v prvních minutách po podání je nejvyšší hladina značeného AET v myokardu. V našich pokusech vagotomie ani atropin nezabránily statisticky významné bradykardii po AET, i když stupeň zpomalení byl významně menší než po podání stejné dávky AET intaktním zvířatům. Stejného výsledku jsme dosáhli i prodloužením délky aplikace.

Vagotomie nezvýšila proti očekávání srdeční frekvenci králíků. Poněvadž ve vlastních pokusech na králících s iniciální frekvencí 250–260/min. způsobila vagotomie významné zrychlení srdeční činnosti, domníváme se, že u intaktních

králíků s iniciální frekvencí kolem 300/min. není vagotomie s to frekvenci zvýšit.

Při podání AET do v. jugularis sin. v bezprostřední blízkosti srdce jsme dosáhli vyšší koncentrace látky v kratším časovém intervalu. Za těchto podmínek nebyl statisticky významný rozdíl ve stupni bradykardie u zvířat vagotomovaných a intaktních.

Při opakovaném podávání AET jednou denně 150 mg/kg i. v. po dobu pěti dnů byla reakce srdeční frekvence po každém dalším vpichu stejná jako po jednorázové injekci. Nezměnily se hodnoty frekvence před podáním AET, což naznačuje, že možné přímé poškození vodivé soustavy či myokardu bylo během 24 hodin plně reparováno.

Knott a Overman (7) neodstranili bradykardii po AET u psů předchozí vagotomií. Prokázali, že po injekci AET srdce nereaguje na elektrické dráždění periferního pahýlu n. vagi.

Jiní autoři považují **nepřímý** vliv AET na srdeční činnost za rozhodující. Výraznou bradykardii po AET u koček popsal **Di Stefano** (2). Do dávky 10 mg/kg byla spojena s hypotenzí a apnoí. Od dávky 12,5 mg/kg výše byla odpověď tlaku bifazická (hypertenze následovaná hypotenzí). Tyto příznaky odstranili vagotomií. Atropinem zamezili vývinu bradykardie a tlakových změn, apnoe však přetrvávala. Atropin byl úspěšný v eliminaci zpomalení srdeční činnosti po AET i v pokusech **Muchina** (9) na kočkách a králících, což vedlo autora k názoru o existenci cholinometických účinků AET. Radioprotektivní vlastnosti však s těmito účinky nejsou spojeny, neboť u atropinizovaných myší se ochranný vliv nezměnil.

Pospíšil a spol. (10) v pokusech na psech uvádějí po AET (50 a 100 mg/kg i. v.) též bifazickou tlakovou odpověď (hypertenze do 10. minuty, pak hypotenze). Vliv AET na srdeční činnost posuzovanou ze záznamu ekg rozdělují na komponentu dráždivou (vznik komorové extrasystolické bigemie, paroxysmální komorové tachykardie) a tlumivou (útlum sinusového uzlu, postupné vyřazení komorové automacie a změny segmentu ST). V podrobnějším rozboru ekg změn u psů v časové posloupnosti od podání soudí, že časné změny (sin. bradykardie, A-V blok, ektopické stahy, změny vln P, ST, T) jsou podmíněny nervově funkčními zásahy AET. Převážně pozdní změny (snížení komplexu QRS) jsou výrazem přímého poškození myokardu. My se domníváme, že reverzibilní složka přímého

poškození myokardu je pravděpodobná již při časných změnách (do 2. minuty po aplikaci). Předpokládáme-li, že ganglioblokující účinky AET (v dávkách 15 mg/kg a vyšších) prokázané pro sympatickou inervaci mžurky kočky (2) platí i pro sympatickou inervaci srdce, nelze významné zmenšení bradykardie po AET u vagotomovaných či atropinizovaných králíků vysvětlit uplatněním tonu sympatiku, ale lze jej vysvětlit eliminací nepřímého vlivu AET na srdeční činnost při zachování vlivu přímého.

K diskusi, zdali časné změny srdeční excitability jsou výsledkem přímého vlivu AET na srdce, či zprostředkovány parasympatickým nervovým systémem, sluší uvést možnost ovlivnění kardioinhibičního centra vlivem nadřazených útvarů CNS. Pro AET prokázal **Strelkov** (13) útlum činnosti v oblasti hemisfér bez změny obsahu O_2 v mozkové tkáni. Lze se domnívat, že tento útlum vede k výraznějšímu projevu podkrovných center parasympatiku a sympatiku se známou převahou vagu v řízení srdeční činnosti. V souvislosti se změnami srdeční frekvence stojí za zmínku i pozorovaný útlum činnosti štítné žlázy u neozářených krys po podání AET (200 mg/kg). Snížila se akumulace ^{131}I ve štítné žláze i v PBI (proteinové frakci jodu), stoupl obsah anorganického ^{131}I v séru (14).

Závěrem uvádíme faktory, které jsme v naší diskusi opomenuli pro zatímní nedostatek experimentálních údajů. Je to účast sympatiku na uvedených změnách, hladina katecholaminů a minerálů v krvi a myokardu a údaje o energetickém metabolismu myokardu po podání AET.

Naše výsledky a údaje uvedených autorů opravňují nás předpokládat, že ve vlivu AET na srdeční činnost se uplatňuje útlum korové části CNS, humorální mechanismy, reflexní zvýšení tonu parasympatiku a ve značné míře reverzibilní přímý vliv této látky na srdeční činnost. Rozhodnout, která z těchto složek je rozhodující, nebo určit jejich podíl na změnách srdeční činnosti po AET bude možné až po podrobném studiu vlivu AET na metabolické pochody vodivé soustavy a vlastního myokardu, na činnost sympatické nervové soustavy a vegetativní ganglia a minerální hospodářství organismu.

Autoři děkují za technickou spolupráci s. Elišce Špičkové a s. Josefu Dleskovi.

Závěr a souhrn

1. Radioprotektivní látka AET (aminoethylisothiuronium Br. HBr) v dávkách 100 a 150 mg/kg i. v.

dočasně tlumí sinusový uzel nenarkotizovaného králíka. Vzniká sinusová bradykardie, poruchy A—V vedení, objevují se ektopické stahy.

2. Úprava pH roztoku AET pomocí 2,5 N NaOH na 7,3—7,5 nemá vliv na pozorované změny.

3. Vagotomie i atropin (1 mg/kg i. v.) nebo prodloužení aplikace na 4—6 minut statisticky významně zmenšily bradykardii, ale nezabránily statisticky významnému zpomalení srdeční frekvence po AET.

4. Opakované podávání AET jednou denně (150 mg/kg i. v.) po dobu pěti dní vyvolává pomíjivé změny srdeční excitability, stejné jako po jednorázové injekci AET.

Literatura

1. Bacq, Z. M.: Chemical Protection Against Ionizing Radiation, Springfield, Illinois, C. C. Thomas, 1965, 344 s.
2. Di Stefano, V., Leary, D. E., Doherty, D. G.: The Pharmacology of beta-Aminoethylisothiuronium Bromide in the Cat. J. Pharmacol. Exptl. Ther., 117, 1965:425 až 433.
3. Doherty, D. G., Burnett, W. T., Jr.: Protective Effect of S, beta aminoethylisothiuronium. Br. HBr and Related Compounds Against X-Irradiation Death in Mice. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 89, 1955:312—314.
4. Dostál, M.: Srovnání toxicnosti, farmakologických, radioprotektivních efektů cystaminu i tetrinu. Sborník věd. prací, VLVDÚ Hradec Králové, 11, 1965: 142—156.
5. Dostál, M.: Srovnání ochranného účinku AET, tetrinu a cystaminu. In: Kand. disert. práce: Vliv některých farmak na nemoc z ozáření: I. Ochranná účinnost cystaminu. Hradec Králové, VLVDÚ 1967:36—39.
6. Jurkovič, V.: Komorová tachykardie a některé oběhové změny v průběhu nemoci z ozáření. Příspěvek ke studiu dráždivosti srdce. Sborník věd. prací VLVDÚ Hradec Králové, 7, 1965:3—272.
7. Knot, D. H., Overman, R. R.: Cardiovascular Effects of Radioprotective Compound beta-aminoethylisothiuronium. Br. HBr (AET). Am. J. Physiol, 201, 1961, 4:677—681.
8. Kuna, P.: Farmakologické účinky radioprotektivních látek cysteaminu, cystaminu a aminoethylisothiuronu. Čas. lék. čes., 108, 1969, 13—14: 397—404.
9. Muchin, E. A.: Profilaktičeskoje primenenije nekotorych serusoderžaščich veščestv pri lučevych poraženijach v eksperimente. Med. radiol. (Moskva), 1959, 4:29—33.
10. Pospíšil, J., Dienstbier, Z., Kořátko, J.: Použitelnost radioprotektivní látky aminoethylisothiuronu Br. HBr (AET). Čas. lék. čes., 105, 1966:1165—1171.
11. Rusanov, A. M.: Pharmacological Characteristics of Certain Mercaptoamines and their Effectiveness in the Prophylaxis of Radiation Sickness. Diagnosis and Treatment of Acute Radiation Injury, Geneva, W. H. O., 1961.

12. Strelkov, R. B.: K radiofarmakologii meksamina (5-metoksitriptamina). In: Voprosy radiobiologii i mehanizma dejstvija protivolučevych sredstv. Sborn. trudov, vypusk IX, Suchumi, izd. Alašara, 1967:129—144.
13. Strelkov, R. B.: Uroven ammiaka v tkani golovnog mozga krys pri vvedeniji radiozaščitnych preparatov. In: Semenov, L. F.: Profilaktika ostroj lučevoj bolezni v eksperimente. Leningrad, Medicina, 1967, str. 152.
14. Vittorio, P. V., Allen, M. S.: The Effect of 2-Aminoethylisothiuronium Br. HBr (AET) on Thyroid Activity in Nonirradiated and X-Irradiated Rats. Radiation Res., 13, 1960:256—262.
15. Vlk, J.: Sur le développement postnatal de l'activité du noeud sinoauriculaire chez le cobaye. Arch. internat. Physiol. Bioch., 76, 1968: 142—143.
16. Žerebčenko, P. G., Zajceva, T. G., Tank, L. I.: Vlivjanije predvaritelnogo primenenija indolilalkilaminov i cistamina na toksičnost, sosudosživajuščee i radiozaščitnoje dejstvije 5-metoksitriptamina. Zaščita i vosstanovlenije pri lučevych povreždenijach. Moskva, 1966.