

616—099[:577.153.9.04:615.781.1]—092.9

INTERAKCE ÚČINKŮ INHALAČNÍCH ANESTETIK S INTOXIKACEMI INHIBITORY CHOLINESTERÁZ U MYŠÍ

V. VONDRÁČEK, M. SAJDA

Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav JEP, Hradec Králové

Stanovení vlivu inhalačních anestetik na průběh intoxikace inhibitory cholinesteráz (ChE) má teoretický i praktický význam. Podle průzkumu odborné literatury jsou dosavadní soudy vyslovované k tomuto problému vlastně pouze více či méně odvážnými dohady. Vycházejí sice většinou z obecných poznatků o účincích obou působících složek, ale vzhledem k povaze položené otázky se nám zdají být naprosto nedostatečně podloženy konkrétními experimentálními výsledky.

Znalosti farmakodynamiky anestetik a toxikodynamiky noxy dávají určitou možnost předpovědi a extrapolací, pokud jde o jejich pravděpodobnou interakci obecné povahy. Nelze však zapomínat, že směsné působení se řídí zákonitostmi odhadnutelnými vzhledem k proměnlivosti účinků v čase a závislosti na dávce jen těžko s plnou vědeckou seriózností v celém rozsahu. Jevilo se nám proto účelným získat aspoň některé faktické podklady vlastním pokusem

na zvířeti. Jsme si přitom vědomi, že i naše výsledky jsou jen dílčí a že nás neopravňují k závěrům obecné platnosti.

Metodika

Použité látky:

Inhalační anestetika byla zvolena tak, aby reprezentovala látky pro praxi nejdůležitější, jednak z představitelů starších až opouštěných: chloroform (CH) a éter (E), jednak z novějších: halotan — v dalším textu pod názvem narkotan (N) a methoxyfluran — v dalším textu pod názvem pentran (P). Nešlo nám přitom ani tak o získání farmakologicko-anesteziologických charakteristik jako o stanovení konkrétních dat, majících bezprostřední vztah k případné běžné aplikaci.

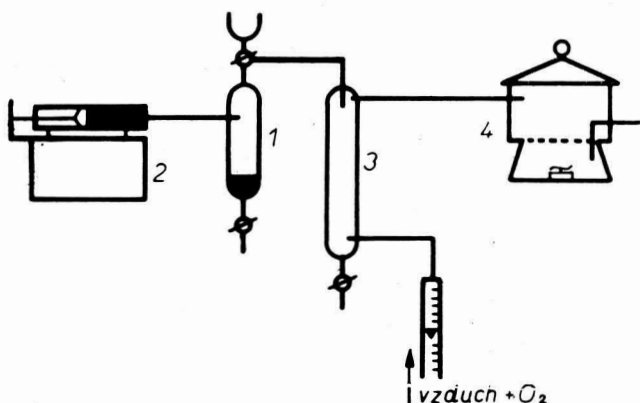
Z inhibitorů ChE jsme použili tři látky (L₁, L₂, L₅), rozdílného účinku podle charakteru jejich inhibičního působení tak, aby nám pokrývaly co nejširší rozsah možností, které lze předpokládat při otravách touto skupinou nox.

Způsoby podávání látek:

Inhalační narkóza byla navozována zařízením zobrazeným na schématu č. 1. Tekuté narkotikum je vytěšňováno ze zásobníku (1) rtuť, vhněnou přesnou infúzní pumpou (2) do temperovaného odpařovače (3). Vzniklé páry jsou pak ve směsi suchý vzduch — kyslík (1:1) vedeny do vlastní narkotizační komory (4) se samostat-

Schéma 1

Náčrt základních prvků používané narkotizační aparatury



nou vnitřní ventilací a s pohlcovačem kyslíčnicku uhličitého. Koncentrace narkotika v komoře byla vypočítávána z rovnice

$$V_p = \frac{V_K \cdot S_K}{M} \cdot \frac{P_o}{T_o} \cdot \frac{T}{P} \cdot 22,4,$$

kde V je objem, index K značí kapalnou fázi narkotika, index P plynnou fázi, S specifickou váhu, M molekulovou váhu, P tlak, T teplotu, indexy o pak absolutní rozměr (u absolutního T a P).

Pokusná zvířata byla vkládána do komory po předchozím 20minutovém — 30minutovém sycení aparatury. Tato doba se ukázala dostatečnou, aby se už dosáhla a dále mohla být udržována konstantní koncentrace.

Intoxikace inhibitory ChE jsme vyvolávali jejich nitrosvalovým podáním ve fyziologickém roztoku o takové koncentraci, aby injikovaný objem odpovídal přibližně 0,1 ml/10 g váhy myši. Stejná zásada platila i při použití léčiv (AD), působících antagonisticky proti intoxikacím OF.

Uspořádání pokusů:

Vzhledem k tomu, že narkotika se používala v 50 % kyslíkové atmosféře, bylo nezbytné opakovaně stanovit účinek jí samotné na průběh intoxikace. Výsledek vždy sloužil jako kontrolní (K) a v dalším jsou pak k němu vztahovány ostatní hodnoty. Jinak jsme vycházeli z představy praxe. V ní by mohla mít doba začátku narkózy a její trvání důležitý význam. Proto většina sledování je provedena na 2 úrovních se 3 možnými kombinacemi: jednak z hlediska rozvoje otravy (narkóza začínající současně s podáním inhibitorů a v době $CT_{50}^{1/2}$), jednak podle doby trvání narkózy (15, 45 a 90 minut). Protože šlo o 3 rozdílné noxy a vliv zvýšené hladiny kyslíku, vznikl plán pokusů, uvedený na schématu 2.

Schéma 2

Souhrnný plán pokusů

Inhibitor	Složení zevního prostředí	druh	Narkotikum	
			použití	trvání min.
	vzduch			
L1	O_2 + vzduch	E	současně v CT_{50}	15
L2		CH		45
L5		N		90
		P		

Úvodní fáze narkózy byla zvolena co nejkratší. Používali jsme pro ni u všech narkotik empiricky stanovenou nejnižší koncentraci, při níž

^{1/} CT₅₀ — doba, ve které je pravděpodobnost nástupu křečů $p = 0,5$, tj. tedy statisticky „průměrná doba nástupu křečů“ — prvních nesporných příznaků otravy.

všechna zvířata ležela do 2½ minut v „narkotické poloze“ (na boku) a neprobouzela se. (1) Kontrolními pokusy jsme si ověřili, že při dané krátké době expozice CI nejde o dávku smrtelnou, přesto že použité koncentrace byly dosti vysoké. Nato pak pokračovalo přidávání narkotika už jen v udržovací koncentraci (CK), tj. tak, aby se žádné z pokusných zvířat do 90 minut neprobouzelo. I v tomto případě šlo vždy o nejnižší a podle prověrek neletální množství.

Aby se mohl aspoň přibližně hodnotit i obrácený účinek, tj. vliv noxy inhibitoru ChE na průběh narkózy, pokusili jsme se i o stanovení některých anesteziologických parametrů. Odečítali jsme jednak rychlosti „usínání“ a „probouzení“, tedy navození a ukončení narkózy v atmosféře takové koncentrace, kde k projevům narkózy docházelo u kontrolních zvířat nejdéle do 10 minut, jednak změny narkotických koncentrací (NC₅₀), tj. dávek vedoucích k narkóze (v naší definici) s $p = 0,5$, obojí v podmínkách intoxikace dvojnásobnou LD₅₀ inhibitoru a léčenou AD.

Pokusy prvního druhu byly provedeny podle jednotného časového plánu: za 2 minuty po podání inhibitoru ChE bylo aplikováno AD a za dalších 8 minut, tedy 10 minut od kontaktu s noxou, byla zvířata vkládána do narkotizační komory k vlastnímu měření, a po stejnou dobu vystavena účinkům narkotika. Potom byla z komory vyjmuta. U každého jsme měřili rychlost nástupu a ukončení narkózy.

U NC₅₀ byly stanoveny regrese narkotických koncentrací a vypočtena střední narkotická koncentrace při expozici 90 minut.

Parametry odečtů a vyhodnocení

Jako narkotický účinek jsme definovali, jak bylo uvedeno, zaujetí „narkotické polohy“ zvířetem, tj. onu dobu a stav, od kterých už nenásledovaly další lokomoční pohyby a vztyčování. Vliv anestetik na inhibitory ChE jsme stanovovali podle změn mortality intoxikovaných zvířat. Za smrt je vzata konečná zástava dechu. Jednotlivá ovlivnění účinků noxy jsou mezi sebou srovnávána výpočtem relativních účinností (Roth a spol., 1962) (2), pokud šlo o pokusy paralelně provedené, nebo t-testem mezi relativními účinnostmi pokusných vůči K, u pokusů v různých obdobích.

Jako směrodatná pro statistickou významnost platí hladina pravděpodobnosti $p = 0,05$.

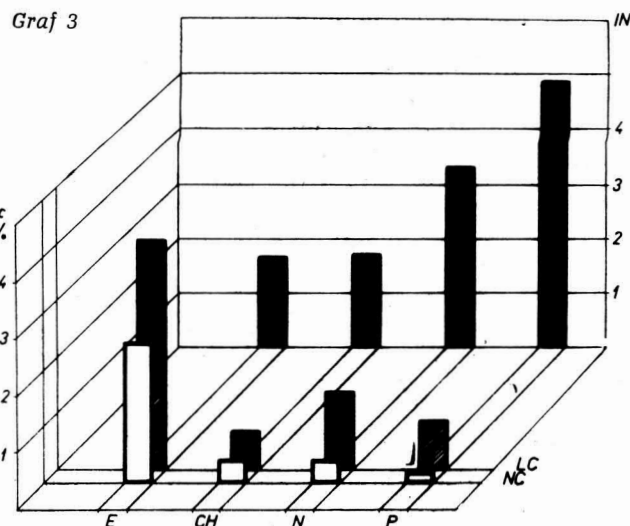
Pro zjednodušení jsou v obou případech (jak relativní účinnosti stanovené přímo, tak i vzájemný poměr LD₅₀ získaných v různých podmínkách) vyjadřovány dávkovým indexem (ID). Ten v daném případě určuje, kolikrát se ve změněných pokusných podmínkách musí zvýšit nebo

snížit účinnost noxy, aby mortalitní účinnost zůstala stejná, tj. např. kolikrát je menší LD₅₀ L₁ za podmínek použití E než bez něho, tedy jen v atmosféře vzduch + O₂ (1:1).

Výsledky

Z hlediska farmakologického a toxikologického jsou vlastně používané dávky narkotik rozdílné. Volili jsme je jen podle přístupů definovaných anesteziologicky. Proto bylo nezbytné určit jejich ostatní vztahy. Snažili jsme se o to stanovením narkotických (NC) a letálních koncentrací (LC) při expozici 90 minut. Jejich poměr (IN) pak udává bezpečnostní koeficient použitého prostředku, kolikrát je letální koncentrace

Velikost letálních (LC₅₀), narkotických (NC₅₀) koncentrací a jejich vztah (IN) u použitých narkotik



Koncentrace (c) udává v % obsah v komoře, $IN = LC/NC$

vyšší než narkotická, jak lze vyčíst z grafu 3. Ještě důležitější je ovšem vztah mezi dávkami našeho pokusného uspořádání a LC₅₀ (1). Ten je zachycen v tabulce 1.

Tabulka 1

Používané a stanovené koncentrace narkotik

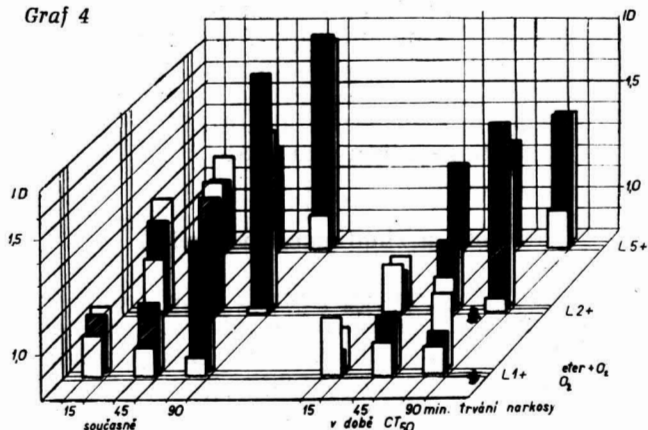
Narkotikum	Koncentrace v %				Poměr LC ₅₀ /CK
	CI	CK	NC ₅₀	LC ₅₀	
E	11,67	2,69	2,51	4,0	1,49
CH	2,99	0,5	0,41	0,69	1,38
N	4,55	0,583	0,43	1,42	2,44
P	2,07	0,354	0,18	0,86	2,43

1. Koncentrace narkotika používaná v iniciační fázi narkózy je v dalším označována CI.
2. Roth, Josífko, Malý, Trčka: Statistické metody v experimentální medicíně, Praha, SZN 1962.

1. LC₅₀ — Koncentrace narkotika vedoucí k smrti exponovaných zvířat s $p = 0,5$.

Změny mortalit u intoxikací ChE působením eterové narkózy

Graf 4

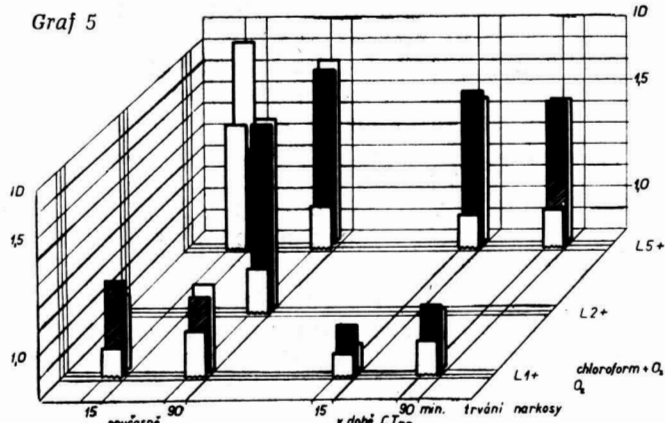


Doby začátku působení narkózy, její trvání a druhy noxy jsou vyznačeny na grafu. V trojicích sloupců: první — ID v atmosféře vzduch + kyslík (O_2), třetí — vzduch + kyslík + narkotikum (narkotikum + O_2), prostřední šrafováný — vyjádřený poměr ID třetího: ID prvnímu (tedy změna vyvolaná samotným narkotikem). ID je vždy poměr mortalit intoxikovaných objektů v daném prostředí k mortalitám v prostředí atmosferického vzduchu. $ID > 1,0$ — znamená zvyšování mortality intoxikovaných zvířat vlivem prostředí

$ID < 1,0$ — znamená snižování mortality

Změny mortalit u intoxikací inhibitory ChE působením chloroformové narkózy

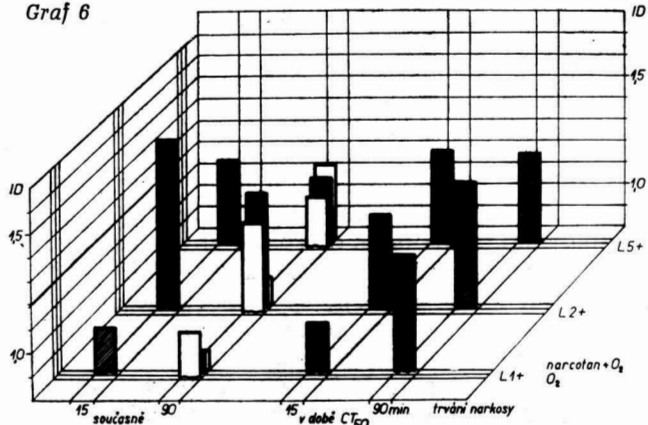
Graf 5



Symbolika a legenda shodná jako u grafu 4

Změny mortalit u intoxikací inhibitory ChE působením narkotanové narkózy

Graf 6

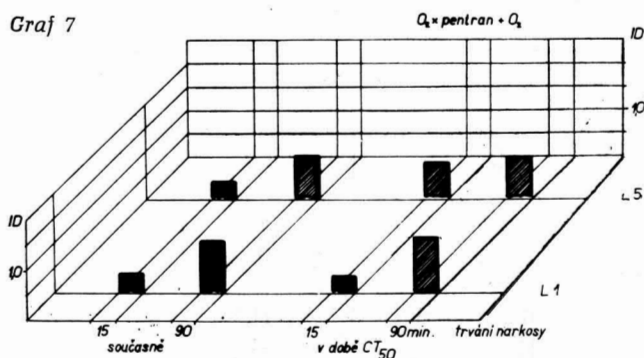


Symbolika a legenda shodná jako u grafu 4

Vliv jednotlivých narkotik, která začala působit v rozdílné fázi intoxikace a jejichž účinek pokračuje po stanovenou dobu, je vyjádřen v grafech 4, 5, 6 a 7.

Změny mortalit u intoxikací inhibitory ChE působením pentranové narkózy

Graf 7

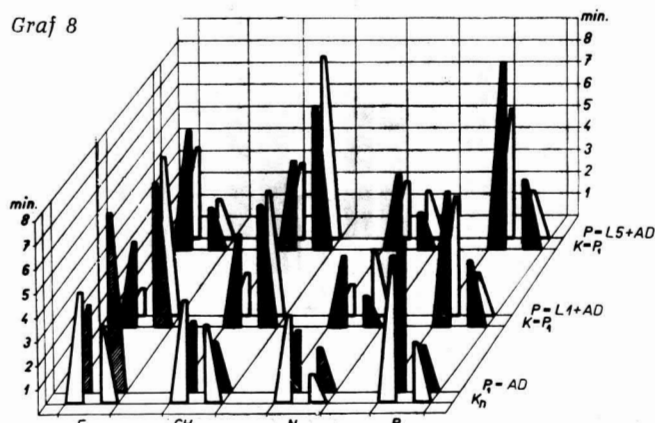


Symbolika a legenda shodná jako u grafu 4

Na všech z nich jsou jako ID, výškou sloupce v 1. a 3. řadě uvedeny relativní účinnosti noxy v daných podmínkách, vztažené proti běžné samotné intoxikaci, tj. provedené jen v atmosférickém vzduchu. Poslední z uvedených údajů někde chybí, protože tato kontrolní intoxikace nebyla vždy paralelně sledována. Proto je znázorněn aspoň poměr (v ID) mezi průběhem

Změny rychlosti nástupu a trvání narkózy u myši intoxikovaných L1 a L5 a léčených AD

Graf 8



V absolutních mírách

Sloupce se vzestupným ramenem — rychlost nástupu narkózy

Sloupce se sestupným ramenem — doba trvání narkózy K_n — myši kontrolní, ovlivněné jen podáním fyziologického roztoku

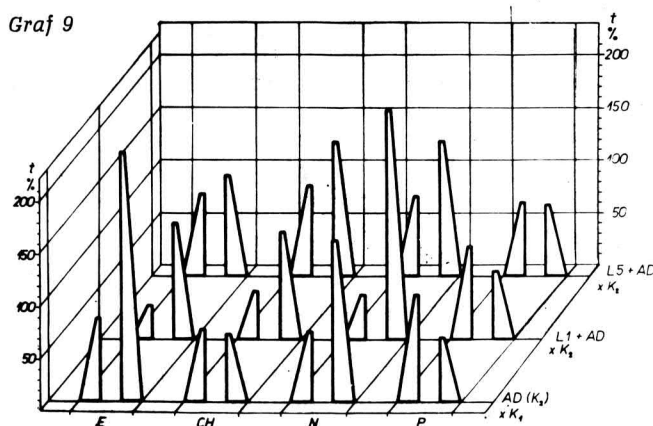
P — myši pokusné

Dvojice sloupců za sebou — pokus provedený paralelním měřením

otravy v prostředí kyslík + vzduch (1:1) k témuž za přítomnosti narkotika (jsou to jinak ve všech případech šrafované střední sloupce).

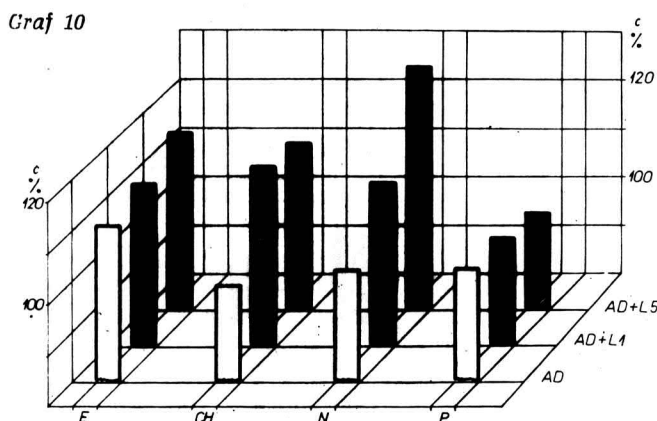
Působení inhibitorů na časový průběh narkózy zachycuje jednak graf 8 (v absolutních hodnotách průměry z 8 měření), jednak graf 9. Ten znázorňuje poměry mezi kontrolními, neintoxikovanými a pokusnými, tj. otrávenými dávkou 2 LD₅₀ inhibitorů a za 2 minuty nato léčnými.

Změny rychlosti a trvání narkózy u myši intoxikovaných L₁ a L₅ a léčných AD



V relativních poměrech jednoho pokusu — viz předchozí graf
Symbolika shodná s ním. Výška sloupce je dána poměrem P:K

Změny velikostí středních narkotických dávek u myši intoxikovaných L₁ a léčných AD



Na y ose — relativní účinnosti dané poměrem NC u neovlivněných: NC intoxikovaných myši v %.

U všech pokusů tohoto druhu bylo použito AD jak z důvodů metodických, tak i praktických, protože to představuje svým způsobem premedikaci. Grafy 8 a 9 zachycují i rychlosti nástupů a odeznívání narkózy u myši kontrolních, které dostaly jen fyziologický roztok, a u myši, kterým bylo aplikováno jen AD.

Pro upřesnění jsme pak sledovali tutéž otázku ještě z dalšího hlediska, a to podle změn NC₅₀ jednotlivých narkotik na zvířatech intoxikovaných 2 LD₅₀ L₁ a ovlivněných AD. Poměr dávky anestetika, potřebné k vyvolání příslušného narkotického efektu s $p = 0,5$ ve srovnání s K (pokusného objektu bez inhibitoru ChE L₁) jsou v % účinnosti vyjádřeny na grafu 10.

Diskuse a zhodnocení výsledků

Pro první část našich pokusů jsme zvolili takové koncentrace jednotlivých inhalačních anestetik, aby měly v předepsaných časových limitech shodné narkotické efekty. Srovnáme-li je mezi sebou podle jiných ukazatelů, je patrné, že i když nejde při použité expozici nikdy o smrtelnou dávku, nemusí být rovnocenné. Naopak, ve spojení s dalšími intenzivními požadavky na základní funkce organismu, jak je vytvářejí intoxikace, by se sumárně mohly uplatnit i dosti rozdílně. Podle IN se vůbec neliší éter od chloroformu; u obou je však podíl LC/NC relativně velmi malý. Výhodnější už je narkotan a jako zvlášť bezpečný se jeví pentran, který má mimořádně nízkou NC. Podle koncentrací, které byly použity v našich pokusech, vznikají 2 skupiny. U éteru a chloroformu je velmi nepříznivý poměr LC₅₀/CK, v daném uspořádání menší než 1,5, zatímco u narkotanu a pentranu se pohybuje kolem 2,5. Jestliže bychom tedy vycházeli z prosté představy, že narkotika se budou uplatňovat podle samotné bezpečnosti použitých koncentrací, pak by byly podmínky nejméně příznivé u éteru a chloroformu, u obou pak v podstatě shodné. Lepší výsledky by měly dávat narkotan a pentran, z nichž poslední snad o něco výhodnější.

U rozboru výsledků ze studia vlivu narkotik na průběh intoxikace stojí za povšimnutí už působení samotného kyslíku (tj. směsí vzduch + O₂ v poměru 1:1). Jeho dlouhodobější účinek (90 minut) zmenšuje u 3 kontrolních pokusů pro éter významně mortalitu (u L₁ a L₂ při současné aplikaci, u L₂ i při nasazení v době CT₅₀). V ostatních případech jsou rozdíly nevýznamné — pohybují se v mezích rozptýlů. I když nelze v daném pokusném uspořádání předpokládat zvlášť výrazný vliv (i u výsledků významných nepřesahují změny 15 % relativní účinnosti), přece jen je nutné počítat s tím, že jedna komponenta prostředí narkózy může ovlivňovat mortalitu příznivě.

Za těchto okolností se stává tím zřetelnější negativní působení některých narkotik. Nejvíce je vyjádřeno u pokusů s éterem a chloroformem. Zvlášť u éteru, kde bylo základní schéma pokusů splněno nejúplněji, je pozoruhodné, jak s narůstající dobou narkotické expozice stoupá mortalitní efekt nox. Právě obráceně než v samotné kyslíkové směsi. Je tedy negativní působení samotného éteru vlastně o to větší. Na grafu je ukazuje výška prostředních (šrafova-

ných) sloupců. Kvantitativně podobný je i účinek chloroformu, u něhož se však nepodařilo zachytit vzestup mortalitního efektu s dobou působení. Může to ovšem pramenit i z omezeného počtu pokusů, provedených s touto látkou a z větších rozptylů. Negativní vliv narkotanu, celkově o něco menší než u obou předchozích, nemá rovněž žádnou zřetelnou závislost na době expozice. Ta je opět náznakově vyjádřena u pentranu, ovšem v tom smyslu, že krátkodobé narkózy mortalitu snižují a 90minutové neovlivňují. Pentran v kombinaci vzduch + O₂ tedy jakoby sumárně působil ve srovnání s normální atmosférou vzduchu na intoxikaci inhibitory ChE léčebně.

Jestliže hodnotíme rozdíly podle doby začátku narkózy, je zřejmé, že jednotlivá narkotika a inhibitory nejsou v tomto ohledu zcela shodné. U éterové a částečně u chloroformové narkózy je výhodnější spíše pozdější začátek anestézie. Rozdíly u všech ostatních narkotik nejsou už tak vyjádřeny a zcela indiferentní se jeví tato okolnost u pentranu.

Jednotlivé inhibitory ChE se mezi sebou příliš zřetelně neliší. Přesto však se zdá, že intoxikace L₁ představuje proti ostatním, hlavně u éteru a chloroformu, nebezpečí ve srovnání s L₂ a L₅ relativně menší.

Podle časových parametrů dochází při použití narkotika na pokusných objektech, ovlivněných AD, k mírnému zrychlení v nástupu narkózy (s výjimkou pentranu). Zatímco probouzení u éteru a narkotanu je prodlouženo, u pentranu se zkracuje a u chloroformu je pro velký rozptyl výsledek nehodnotitelný. Vliv inhibitorů ChE při současném působení AD zůstává v podstatě shodný. S výjimkou pentranu je „usínání“ rovněž zkráceno, „probouzení“ oddáleno až na pentran, kde se naopak zrychluje. Mimo pentran, jakoby tedy citlivost AD léčených organismů, intoxikovaných inhibitory ChE vůči narkotikům, rostla: narkotický spánek nastupuje rychleji a trvá déle. Pro pentran lze uzavírat, že o co relativně rychleji začíná, o to dříve končí.

V podstatě stejné je i ovlivnění NC. S výjimkou pentranu se pro všechna ostatní narkotika jejich relativní činnost u intoxikovaných a léčených myší zvyšuje, tedy NC₅₀ klesá. Za těchto okolností stačí menší dávka narkotika k vyvolání téhož efektu, zatímco u pentranu se poměry intoxikací a následnou léčbou vůbec nezmění.

Všechny zjištěné skutečnosti v pokusech na myších nijak nesvědčí o specifickém působení jednotlivých narkotik na intoxikaci inhibitory ChE. Jejich pořadí totiž plně odpovídá bezpečnosti použitých koncentrací. Nevylučuje to sice možnost, že se účinky jednoho od druhého liší, rozdíly však nejsou zásadní, a tak lze vystačit i s vysvětlením, že jde o prostou přídatnou zátěž organismu k požadavkům vyvolaným noxami. Ta bude tím větší, čím menší je poměr LC/NC nebo

LC/CK. Na druhé straně však nutno přiznat, že myš je u intoxikací inhibitory ChE poměrně málo reaktivní objekt a že změny, k nimž dochází, by na jiných druhích pokusných zvířat mohly být větší. I tak však lze těžko očekávat, že by došlo k zásadnějším změnám v pořadí a zcela odlišným výsledkům.

Poněkud překvapivý je vliv pentranu. I když jeho bezpečnost je největší, přece jen kladné působení krátkých narkóz a indiferentnost delších ukazuje na některé odlišné prvky působení.

Závěr

1. Mortalitu u intoxikací myší inhibitory ChE ovlivňují éter, chloroform, narkotan a pentran nestejně. Nejvíce ji zvyšuje éter a chloroform, poněkud méně narkotan. Pentran ji při krátkodobé narkóze snižuje a při delší neovlivňuje. Změny v obou směrech jsou však poměrně malé.

2. Vedle trvání narkózy záleží i na tom, ve které etapě otravy začala a o který inhibitor ChE jde. Poměry jsou však v tomto ohledu u jednotlivých narkotik a nox dosti rozdílné.

3. Vnímavost myší při léčené intoxikaci inhibitory ChE vůči narkotikům roste. Nástup narkózy je většinou rychlejší, trvání prodloužené. Výjimku opět tvoří pentran, u něhož se i trvání narkotického efektu zkracuje. Mimo tohoto anestetika stačí u všech ostatních k vyvolání stejného efektu u léčených intoxikací menší koncentrace.

4. Narkotika zhorší smrtelný průběh otrav inhibitory ChE u myší tím méně, čím větší je jejich narkotická šíře. Nejlepším se v této práci ukázal být pentran, který může úmrtnost při sledovaných intoxikacích i snižovat.

Souhrn

V práci je na myších sledována interakce otrav několika inhibitory cholinesteráz s éterem, chloroformem, narkotanem a pentranem. Ty jsou nejdříve definovány určením narkotických a letálních koncentrací. V pokusném uspořádání, jež se snaží respektovat požadavky klinické inhalační narkózy, byly pak stanoveny posuny regresí mortalit vyvolané uvedenými anestetiky u intoxikací vybranými inhibitory ChE. Narkotika působila po 15, 45 a 90 minut a byla nasazena jednak současně s inhibitory, jednak v období rozvinuté otravy ve směsi vzduch + kyslík (1:1). Kontrolní intoxikace byly prováděny buď v prostředí atmosferického vzduchu nebo totožné kyslíkové směsi. Dále byly sledovány změny vnímavosti intoxikovaného a léčeného organismu na uvedená anestetika podle rychlosti nástupu narkózy a jejího trvání a podle změn středních narkotických dávek. Negativní vliv narkotik se jeví tím větší, čím užší je jejich narkotická šíře. Jako nejlepší se v daném uspořádání ukázal pentran, který může působit za určitých okolností i kladně a jindy je indiferentní.