

616.831.31—099[547—118]—085.816—073.97

VLIV ŘÍZENÉHO DÝCHÁNÍ NA ELEKTROKORTIKOGRAM KRYŠ OTRÁVENÝCH O-IZOPROPYL-METYL-FLUOROFOSFONÁTEM

MUDr. Josef HERINK, npor. MUDr. Jiří BAJGAR, RNDr. Jiří PATOČKA

Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav J. E. Purkyně v Hradci Králové

Základní mechanismus otravy organofosfáty (OF) je znám dlouho. Jeho podstatou je inhibice acetylcholinesteráz (AChE) s následným hromaděním acetylcholinu na různých místech periferní i centrální nervové soustavy [9]. Život intoxikovaného je nejvíce ohrožen poruchou respirace, provázenou poruchami oběhového systému. Řízené dýchání v tomto období umožní oddálit ireverzibilní poškození CNS a jiných orgánů následkem protrahované hypoxie. I bez použití antidotní terapie může mít umělé dýchání význam u takových OF, které tvoří s AChE spontánně se reaktivující komplex. Omezený význam může mít umělé dýchání i u ostatních OF, jestliže nedošlo k úplné inhibici AChE v životně důležitých centrech. Takovým typem OF je O-izopropyl-metyl-fluorofosfonát (IMFF).

Tulach a Benýšková [15, 16] se ve svých pracích zabývali inhibicí AChE v různých tkáních krysy po podání 0,2 mg/kg IMFF. I po uhynutí pokusných zvířat byla v mozku pozorována dosti vysoká aktivita AChE. K podobnému závěru došli Jakl a Hrdina [8] v pokusech na psech, intoxikovaných IMFF.

Výsledky těchto prací vedly k vytvoření této pracovní hypotézy: Zbývá-li v mozku určitá aktivita AChE, překonání srdeční a hlavně dechové insuficience při otravě by mělo vést k přežití, nebo alespoň k oddálení doby uhynutí pokusných zvířat. Ověřením tohoto předpokladu se zabývá tato práce.

Metodika

K pokusům bylo použito 60 kryších samců s váhovým rozpětím 150—210 g. Všechna zvířata byla před vlastním pokusem narkotizována standardním postupem: Nejprve byl podán chlorpromazin (Plegomazin R) v dávce 25 mg/kg i.m., za 30 min. thiopental v dávce 50 mg/kg i.p.

Pokusná zvířata byla nahodilým výběrem rozdělena do 3 skupin: a) U první skupiny (10 zvířat) byla provedena pouze tracheotomie se zavedením kanyly, bez podání IMFF.

b) Druhé skupině (40 zvířat) byl nitrosvalově podán IMFF v dávce 0,25 mg/kg, což přibližně odpovídá dvojnásobné dávce LD 50 i.m. u kryš. Tato dávka bez terapie usmrcuje 100 % pokusných zvířat.

c) U třetí skupiny (10 zvířat) byla provedena tracheotomie se zavedením kanyly. Ocelovými elektrodami byl registrován elektrokortikogram kůry (area 17 podle Kriega, 10), hipokampu a ncl. amygdalae. Vedle mozkové aktivity byla

sledována srdeční a dechová frekvence. Způsob registrace biopotenciálů a použité přístroje byly popsány v předchozích pracích [4, 5, 6].

K řízenému dýchání bylo použito Schulerovy pumpy (fy Braun Melsungen, NSR).

Vlastní pokus byl zahájen 1 hod. po ukončení operace (cca 2 hod. po zahájení narkózy). Nejprve bylo stanoveno prahové napětí, které vyvolalo viditelnou reakci. Dále bylo pořízeno 12 kontrolních záznamů, 4 před podáním a 8 po podání fyziologického roztoku. Po provedení kontrolních záznamů byl podán IMFF. Umělé dýchání bylo zahájeno v okamžiku poklesu dechové frekvence na 1/5—1/10 kontrolní hodnoty. Po 30 min. bylo umělé dýchání přerušeno, a pokud do 15 s nedošlo k obnově spontánního dýchání, byla řízená ventilace prodloužena. Její celková délka byla maximálně 2 hod. Současně byl podán IMFF 3—4 krysám, u kterých byla sledována pouze doba uhynutí a AChE v mozku. Tato zvířata představují skupinu b.

U všech zvířat, kterým byl podán IMFF, byla zjišťována aktivita AChE v mozku metodou podle Patočky a Tulacha [12].

Shodnost rozptylů sledovaných veličin u kontrol byla zjišťována Bartlettovým testem. Ke stanovení významnosti změn sledovaných ukazatelů po podání IMFF bylo použito analýzy rozptylu [7].

Výsledky

U zvířat, kterým byla provedena pouze tracheotomie se zavedením kanyly, nebyly pozorovány významné změny dechové ani srdeční frekvence během 5 hod. po provedení zákroku. Tato doba přibližně souhlasila s celkovou délkou trvání pokusu u intoxikovaných zvířat, u nichž se provádělo umělé dýchání.

Doba uhynutí u intoxikovaných zvířat bez umělého dýchání kolísala mezi 5—10 min.

U skupiny zvířat otrávených IMFF s arteficiální ventilací se doba přežití prodloužila. Z prognostického hlediska se tato skupina rozpadla na 3 podskupiny: asi u 20 % zvířat došlo k úplné úpravě sledovaných hodnot, a to i po přerušení umělého dýchání, kdy byla zvířata sledována ještě 60 min.

Obr. 1a zachycuje stav těsně před podáním IMFF. V hipokampu a amygdalu byla theta aktivita, v kůře záznam vyšší frekvence a nižší amplitudy. Frekvence srdeční a dechová byly v mezích normy. Po podání IMFF (obr. 1b) došlo k podstatnému snížení dechu, který byl alterován křečemi. Frekvence srdeční byla rovněž

snížená, současně došlo ke snížení amplitudy mozkových potenciálů. Postižení dechu časově předcházelo ovlivnění srdce a mozku. Po zavedení umělého dýchání (1c) se amplituda mozkové aktivity zvýšila, frekvence srdeční byla dokonce vyšší než kontrolní hodnota. Po přerušení umělého dýchání, které v tomto případě trvalo 30 min., došlo k obnovení spontánního dýchání (1d) celkem pravidelné frekvence, srdeční frekvence se nelišila od hodnot naměřených před podáním OF. V hipokampu a amygdalu převládala spíše nepravidelná, pomalá aktivita vysoké amplitudy, v kůře rychlejší záznam nižší voltáže, tedy obraz aktivace.

U 40 % zvířat došlo k úpravě sledovaných ukazatelů pouze po dobu trvání arteficiální ventilace. Po jejím přerušení zvířata přežívala v rozmezí 9–20 min. Nejdéle přetrvávala činnost

srdeční, zatímco amplituda mozkové aktivity byla již 1 min. po přerušení umělého dýchání značně snížená. Spontánní dechová činnost přetrvávala kratší dobu (asi 2–11 min.). Charakteristický případ je uveden na obr. 2. Těsně před podáním IMFF se frekvence srdce a dechu pohybovala v mezích normy. V hipokampu a amygdalu byla vysokovoltážní aktivita asi 4 c/s (2a). Po podání IMFF (2b) je zřejmá především alterace periferních ukazatelů. Během umělého dýchání (2c) se síce srdeční akce zrychlila, ale v záznamu mozkových potenciálů byly změny proti kontrole ve smyslu snížení amplitudy a zrychlení frekvence. Zvláště výrazné bylo snížení amplitudy v amygdalu. 11 min. po přerušení umělého dýchání (2d) byl záznam mozkové aktivity silně oploštěn.

U 40 % zvířat postupně docházelo k srdeční

Obr. 1

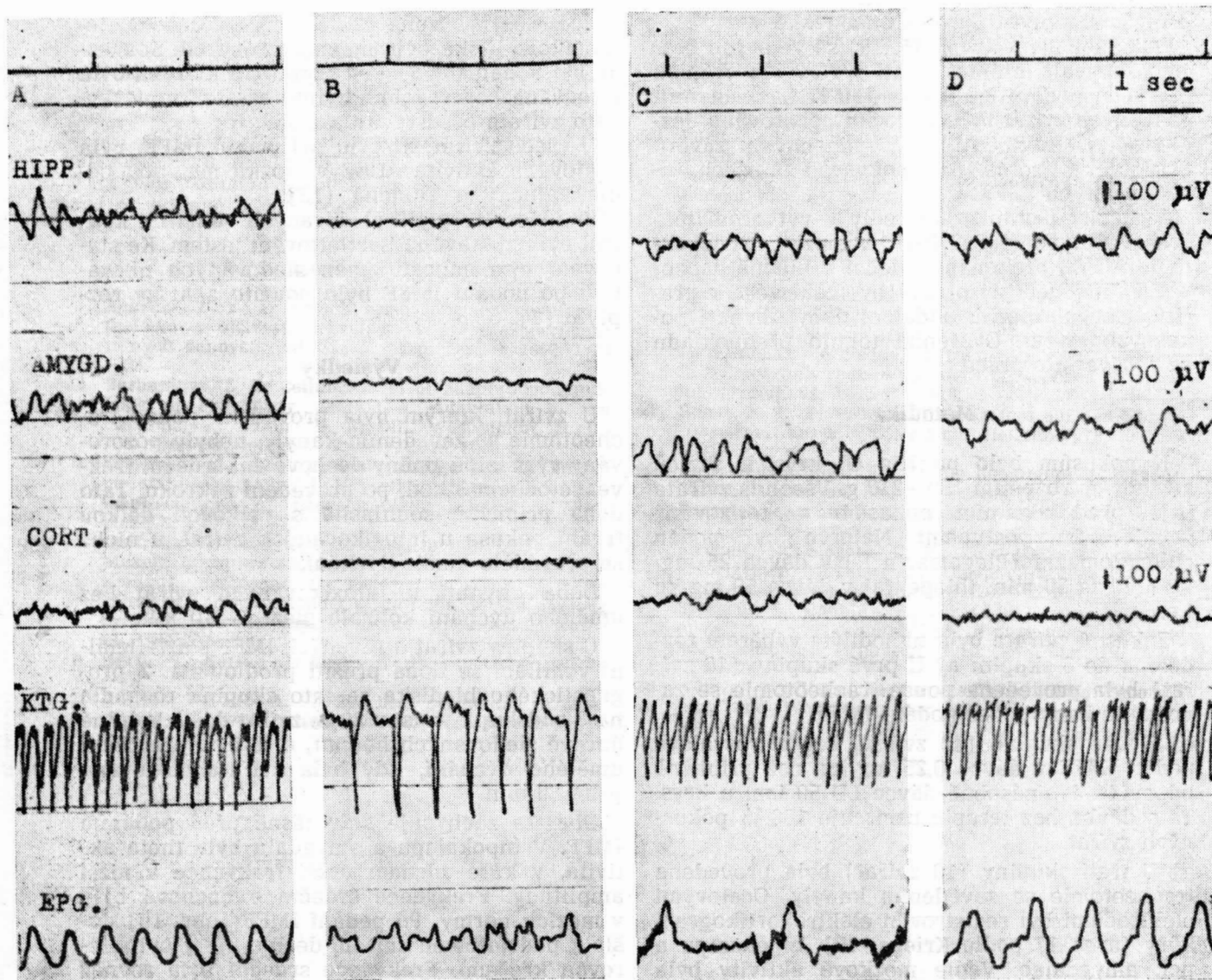
Průběh sledovaných ukazatelů u zvířat, která přežila otravu IMFF

HIPP.: hippocampus
AMYGD.: ncl. amygdalae
CORT.: cortex
KTG.: kardiogram

EPG.: elektropneumogram

citlivost 100 uV/2 mm

ostatní údaje jsou uvedeny v textu



Tab. 1

Statistické srovnání doby uhynutí u krys otrávených IMFF;
skupina 1 bez umělého dýchání, skupina 2 s umělým dýcháním

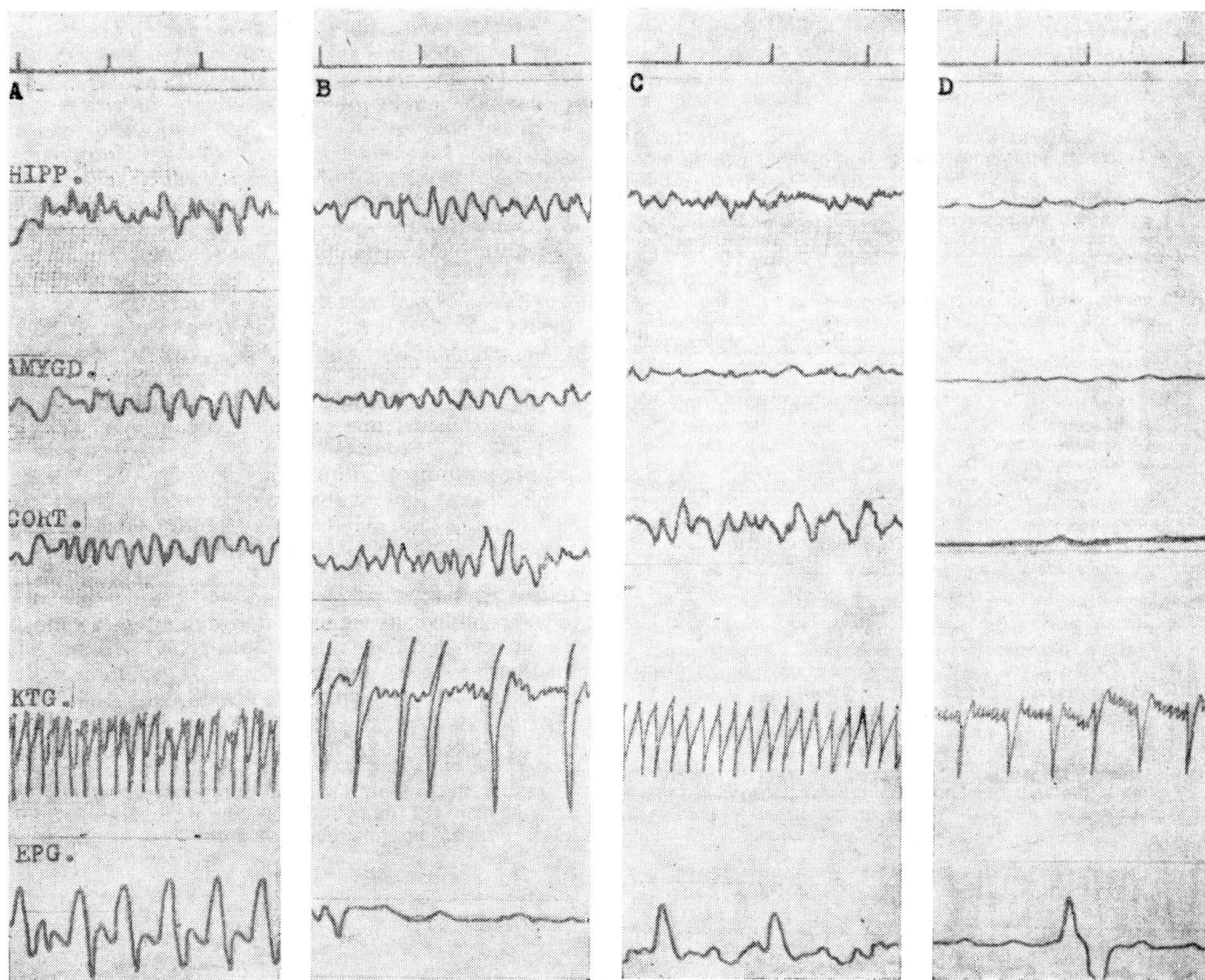
	Průměr	Standardní chyba průměru	Směr. odchylka	Rozptyl	Int. spol. průměru (meze)
1 skupina	18,25	3,0633	8,1048	65,6875	horní: 25,4948 dolní: 11,0052
2 skupina	104,50	17,5814	46,5161	2163,75	horní: 146,0801 dolní: 62,9199

insuficienci a k exitu ještě během umělého dýchání. Typický příklad je uveden na obr. 3. V intervalu od podání IMFF do zahájení arteficiální ventilace byl především nápadný pokles srdeční frekvence (3b). Během arteficiálního dýchání nedošlo k úplné úpravě srdeční frekvence a stav se postupně zhoršoval, 30 min. po podání IMFF byla mozková aktivita úplně vyhlazena (3d). Tato podskupina se lišila od předešlých časovým nástupem ovlivnění sledovaných ukazatelů v in-

tervalu po podání látky do zahájení umělé ventilace. Alterace dechu znatelně nepředcházela ovlivnění srdeční aktivity, negativní vliv IMFF se uplatňoval téměř současně.

Rozdíly v době přežití u intoxikovaných bez umělé ventilace a s umělou ventilací byly testovány jednoduchou analýzou rozptylu. Přitom bylo ze skupiny intoxikovaných bez umělého dýchání vybráno vždy zvíře, které přežilo nejdéle. U skupiny intoxikovaných s prováděnou umělou

Obr. 2 Průběh sledovaných ukazatelů u zvířat, která přežívala otravu IMFF pouze během umělého dýchání
Legendu viz na obr. 1



Tab. 2

Statistické srovnání aktivity AChE v mozku krys otrávených IMFF;
skupina 1 bez umělého dýchání, skupina 2 s umělým dýcháním

	Průměr	Standardní chyba průměru	Směr. odchylka	Rozptyl	Int. spol. průměru (meze)
1 skupina	1,1450	0,1187	0,3141	0,0987	horní: 1,4258 dolní: 0,8642
2 skupina	1,6450	0,1515	0,4009	0,1607	horní: 2,0034 dolní: 1,2866

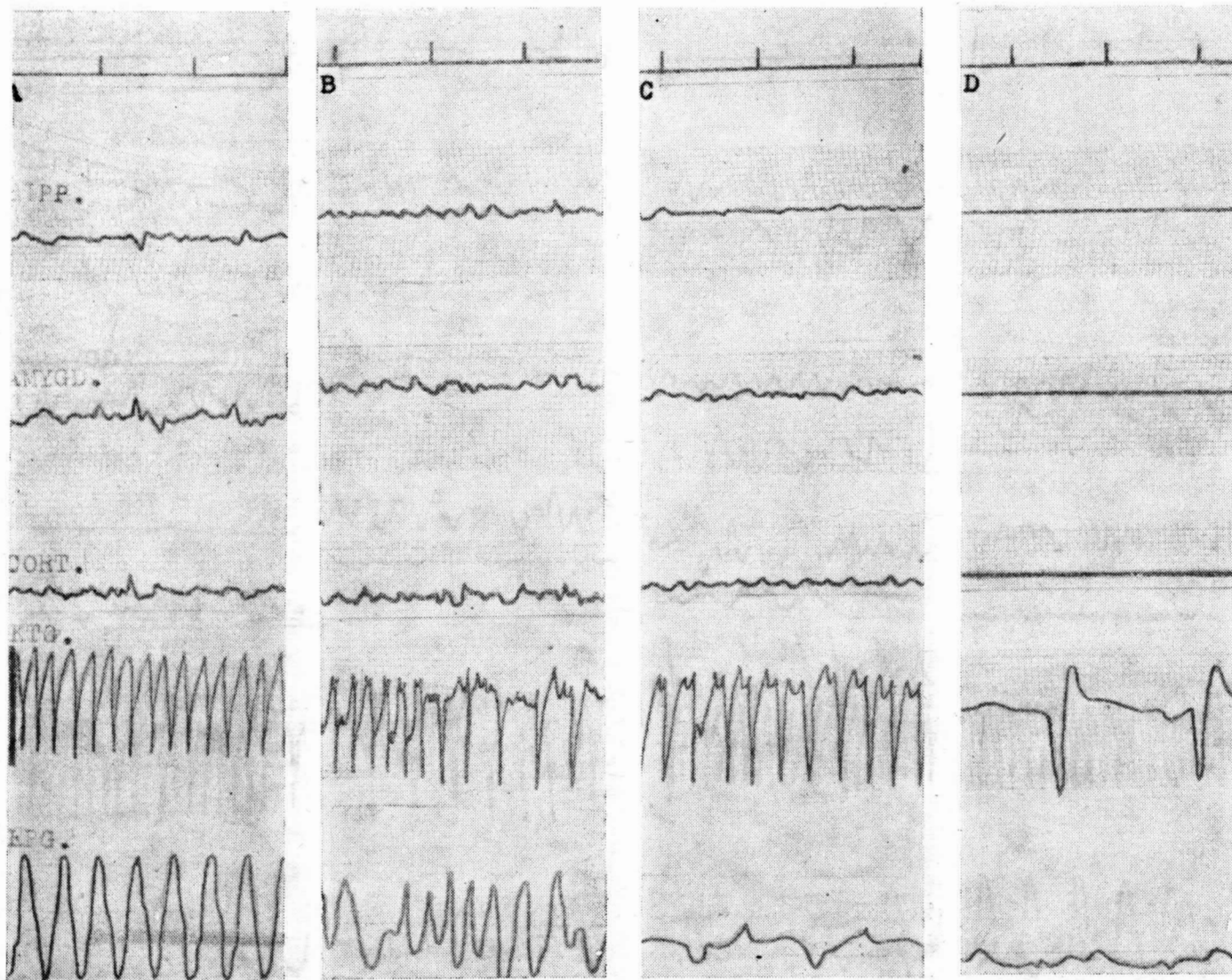
ventilací byla naopak vyloučena zvířata, kde došlo k trvalé úpravě sledovaných hodnot po přerušení ventilace. I za tohoto uspořádání byl prokázán vysoce signifikantní rozdíl mezi dobou přežití ve prospěch skupiny s umělým dýcháním (tab. 1).

Aktivita AChE u narkotizovaných krys, kterým byly zavedeny kanyly, bez podání IMFF, kolísala od 9 do 12 mU. U obou dalších skupin intoxikovaných IMFF byla aktivita AChE signi-

fikantně snižena, ale u žádného z pokusných zvířat neklesla na neměřitelné hodnoty. U zvířat bez umělého dýchání byl zjištěn významný rozdíl v hodnotách aktivity AChE v jednotlivých dnech, Bartlettův test a jednofaktorová analýza rozptylu byly významné.

U skupiny zvířat s arteficiálním dýcháním byla zjištěna statisticky významně vyšší aktivita AChE proti skupině otrávených bez umělé ventilace (tab. 2).

Obr. 3 Průběh sledovaných ukazatelů u zvířat, která uhynula během umělého dýchání
Legendu viz na obr. 1



Diskuse

Z hlediska narkózy se nám zdál použitý způsob vhodnější než imobilizace zvířat tubokurarinem či jiným preparátem podobného účinku, neboť by znemožnila sledování spontánní dechové činnosti. Některé otázky v tomto směru byly již diskutovány v našich předchozích pracích (4, 5). Proto se zde omezíme jen na stručné závěry: Účinek chlórpromazinu na EEG přetrvává 1–2 hod. po injekčním podání (3), přičemž maximum tohoto vlivu je kladeno do období bezprostředně po podání. Podobný účinek byl popsán i u thiopentalu (11, 13). Protože vlastní pokus byl zahajován 2 hod. po začátku narkózy, lze předpokládat značně snížený vliv narkotika na sledované ukazatele. Mimo to byl efekt umělé ventilace srovnáván s kontrolní skupinou, která byla rovněž narkotizována.

V literatuře byla nalezena pouze jediná práce, která se zabývala efektem umělého dýchání na průběh intoxikace IMFF u krysy (14). Zavedení umělého dýchání nezabránilo selhání krevního oběhu, teprve při současném použití atropinu a umělé ventilace zvířata přežívala po dobu udržování umělého dýchání.

Podle našich výsledků mělo arteficiální dýchání lepší efekt. Přitom u zvířat, kde docházelo k selhání krevního oběhu (obr. 3a–d), byly pozorovány odchylky sledovaných ukazatelů ještě před podáním IMFF (tachypnoe, srdeční arytmie). Příčinu smrti lze spatřovat v postižení CNS, protože ovlivnění mozkové aktivity (oploštění záznamu, ev. vymizení evokované reakce) časově předcházelo ovlivnění srdeční a dechové frekvence. K podobnému závěru dospěl i Brown (2).

Do určité míry překvapením je vyšší aktivita AChE u krysy s umělým dýcháním. Toto zvýšení lze přičíst vlivu elektrické stimulace mozku a je v souladu s výsledky Adamse et al. (1).

Podobně jako v práci Tulacha a Benýškové (15) nebyl ani v okamžiku smrti pozorován pokles aktivity AChE na neměřitelné hodnoty. Nelze však vyloučit buď úplnou inhibici AChE v různých centrálních strukturách, popř. subcelulárních frakcích, nebo 100% inhibici jen některých molekulárních forem (izoenzymů) AChE.

Naše práce je malým příspěvkem k řešení otázek patogeneze a terapie intoxikace IMFF. Dále by bylo nutné se zaměřit především na podrobnější rozbor postižení CNS z hlediska ovlivnění některých struktur.

Souhrn

Byl sledován efekt arteficiálního dýchání u krysy otrávených 0,25 mg/kg IMFF i.m. Při srovnání se skupinou krysy intoxikovanou stejnou dávkou IMFF

bez umělého dýchání došlo k signifikantnímu prodloužení doby přežití. Zároveň byla zjištěna vyšší aktivita AChE v mozku. Z hlediska prognózy byl výsledný efekt umělého dýchání různý, rovněž časové ovlivnění sledovaných ukazatelů během intoxikace bylo odlišné.

Jsou diskutovány některé faktory ovlivňující průběh otravy IMFF.

Autoři děkují za technickou spolupráci J. Bajgarové a O. Ochrymoviči.

Literatura

1. Adams, H. E., Hoblit, P. M., Sutker, P. B.: Electroconvulsive shock, brain acetylcholinesterase activity and memory. *Physiol. Behav.*, 4, 1969, 113–116.
2. Brown, R. V.: The effect of intracisternal sarin and pyridine-2-aldoxime methyl methanesulphonate in anaesthetized dog. *Brit. J. Pharmacol.*, 15, 1960, 170–174.
3. Gangloff, H., Monnier, M.: Topic action of reserpine, serotonine and chlorpromazine on the unanaesthetized rabbit's brain. *Helv. physiol. pharmacol. acta*, 15, 1957, 83–104.
4. Herink, J., Hrdina, V.: Ovlivnění penicilínových spiků v elektrokortikogramu krysy některými parasympatikomimetiky a parasympatikolytiky. *Sborník věd. prací VLVDÚ*, 36, 1968, 215–236.
5. Herink, J., Hrdina, V.: Vliv O-etyl-S-2-dimethylamino-etylésteru kyseliny metylthiofosforité a O-izopropyl-metyl-fluorofosfonátu na thalamokortikální systém u krysy. *Sborník věd. prací VLVDÚ*, 38, 1969, 107–130.
6. Herink, J., Hrdina, V.: Vliv atropinu na reakci po elektrické stimulaci krysího septa. *Sborník věd. prací VLVDÚ*, 44, 1969, 141–153.
7. Hraška, M., Tulach, J.: Příspěvek k automatizaci zpracování statistických dat v experimentální medicíně. *Závěrečná výzkumná zpráva*, MNO 1966.
8. Jakl, A., Hrdina, V.: Inhibiční efekt O-pinakolyl-metyl-fluorofosfonátu a O-izopropyl-metyl-fluorofosfonátu na aktivitu acetylcholinacetylhydrolázy v různých oblastech psího mozku in vivo. *Sborník věd. prací VLVDÚ*, 38, 1969, 131–139.
9. Koelle, G. B.: *Cholinesterases and Anticholinesterases Agents*. Springer Verlag, Berlin–Göttingen–Heidelberg 1963.
10. Krieg, J., Zeman, W., Innes, J. R. M.: *Craigie's neuroanatomy of the rat*. Academic Press, New York – London, 1960, 161.
11. Mitskis, A. M.: Quantitative evaluation of the rabbits electrocorticogram in analysing effects produced by physostigmine on the dynamics of thiopental-induced anaesthesia. *Farmakol. Toxik.*, 28, 1965, 140–143.
12. Patočka, J., Tulach, J.: Zařízení pro studium kinetiky enzymů. *Sborník věd. prací VLVDÚ*, 32, 1968, 361–369.
13. Prince, D.: Long duration cyclical changes in excitability of spike foci. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 17, 1964, 453–454.
14. Stewart, W. C., Mc Kay, D. H.: Some respiratory and cardiovascular effects of gradual sarin poisoning in the rat. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 36, 1961, 1001–1011.
15. Tulach, J., Benýšková, L.: Inhibice tkáňových cholinesteráz u experimentálních otrav O-izopropyl-metyl-fluorofosfonátem. *Sborník věd. prací VLVDÚ*, 36, 1968, 103–117.
16. Tulach, J., Jakl, A., Patočka, J., Bajgar, J.: Inhibice cholinesteráz pinakolyl-metyl-fluorofosfonátem a její význam v mechanismu otravy. *Sborník věd. prací VLVDÚ*, 1, 1969, 103–147.