

615:784.5—092.22

PŘÍSPĚVEK K OTÁZCE CENTRÁLNÍHO PŮSOBNÍ ANTICHOLINERGNÍCH LÁTEK

MUDr. Josef HERINK

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

Věnováno k 50. narozeninám plk. doc. MUDr. V. Vondráčka, CSc.

Postižení centrálního nervového systému (CNS) při otravě organofosfáty (OF) je velmi důležitým, ne-li rozhodujícím momentem z hlediska průběhu a konečné prognózy této intoxikace (11, 13, 22).

Na základě dosavadních poznatků o působení OF v organismu spočívá terapeutická snaha v ovlivnění dvou na sebe navazujících dějů. Vedle zabránění vzniku pevné vazby OF na molekuly acetylcholinesterázy (AChE, E.C.3.1.1.7) jde o potlačení silných parasymptomimetických projevů v důsledku nahromadění acetylcholinu (ACh) v organismu. Z řady anticholinergních látek se při léčbě otravy OF stále dává přednost atropinu, zpravidla v kombinaci s některým reaktivátorem (14). Velmi důležitou podmínkou léčby v tomto případě, a to nikoli pouze z obecně farmakologického hlediska, je její včasnost a vhodné dávkování. Zdá se totiž, že za určitých podmínek, daných především časem a koncentrací, může atropin průběh otravy OF spíše zhoršovat (8). Podstatnou otázkou z hlediska přežití zdá se být dosažení rychlé a dostatečné koncentrace atropinu v mozku (11).

Při studiích se značeným atropinem byla koncentrace této látky v mozku zvířat nízká ve srovnání s jinými orgány, např. játry, ledvinami, plíci, žaludkem a svaly. Při s. c. podání dosahuje koncentrace tohoto farmaka v mozku pouze 50% koncentrace v plazmě (1). Naskytá se proto otázka, zda by nebylo vhodnější nahradit atropin některým jiným anticholinergikem s výraznějším centrálním působením. Takovou látkou by mohl být benaktyzin. Bylo totiž prokázáno, že snižuje hladinu mozkového ACh rychleji a dlouhodoběji než atropin (7).

V předložené práci jsme se zaměřili především na srovnání centrálního efektu atropinu a benaktyzinu na vypracovaném námi experimentálním modelu, dále na časový nástup účinku těchto farmak a na srovnání jejich centrálních a periferních účinků.

Metodika

K pokusům bylo použito 40 krysích samců s váhovým rozpětím 150–210 g. Zvířata byla rozdělena do 4 podskupin po 10 jedincích. V každé podskupině byla zvířata z jedné dodávky.

K záznamu bioelektrické aktivity mozku bylo použito ocelových elektrod průměru 0,3 mm, jejichž hroty byly obroušeny elektrolyticky na velikost 20–30 μ . Z periferních ukazatelů byla ve všech případech sledována srdeční frekvence a u části zvířat dechová frekvence. Způsob re-

gistrace biopotenciálů, narkóza a použité přístroje byly popsány dříve (12).

Jako ukazatel centrálního působení obou anticholinergik byly zvoleny následné výboje vyvolané elektrickou stimulací dorzální části septa a sledované v kůře (area 10 a 23 podle Kriega, 19), hipokampu a amygdalu. Stimulace byla prováděna sérií pravoúhlých pulsů frekvence 200 c/s, šířka jednotlivého pulsu 1 ms, trvání jednotlivé série pulsů 5 s, intervaly mezi jednotlivými sériemi 3 minuty.

Vlastní pokus byl zahájen 1 hod. po ukončení operace. Postup byl tento: Nejprve bylo stanoveno prahové napětí, které vyvolalo viditelnou reakci. Dále již nebyly stimulační hodnoty měněny a bylo pořízeno 12 kontrolních záznamů v tříminutových intervalech. Z toho 4 záznamy před podáním a 8 po podání fyziologického roztoku. Za tohoto uspořádání každé z pokusných zvířat sloužilo zároveň jako kontrola. Po ukončení této kontrolní fáze následovalo podání anticholinergik a bylo pořízeno 2×8 záznamů ve stejných časových intervalech. Tělesná teplota byla během pokusu udržována na konstantní výši 36–37 °C vyhřívanou poduškou a průběžně kontrolována rektálním teploměrem. Po ukončení pokusu byl mozek vyjmut a fixován v 10% formalinu s přidáním feroxyanidu draselného. Lokalizace elektrod byla ověřena ve všech případech histologickým vyšetřením.

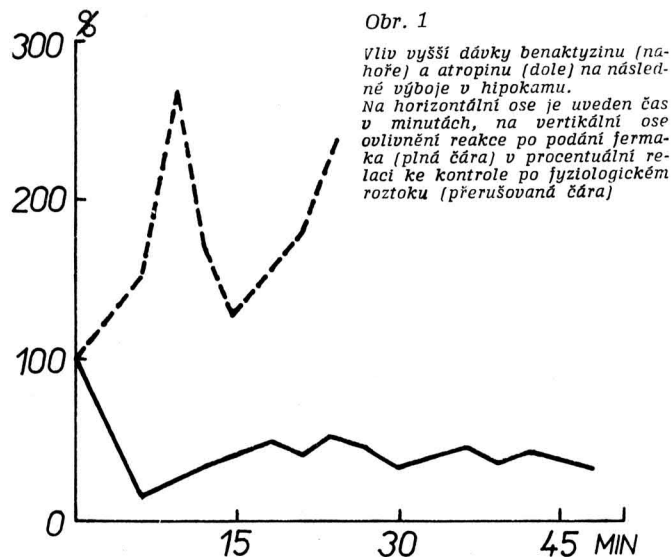
Obě anticholinergika byla podávána i. v. Atropin v dávce 15 mg/kg a 1,5 mg/kg a benaktyzin v dávce 15,7 mg/kg a 1,57 mg/kg. Každá z podskupin vždy dostala jednu z uvedených dávek. Srovnání obou farmak bylo provedeno na ekvivalentní úrovni, kde ekvivalentem byla efektivní báze. Síran atropinu má 2 báze (mol. hm. 694,82), chlorid benaktyzinu 1 bázi (mol. hm. 363,89).

Ke statistickému hodnocení výsledků experimentů bylo z každé podskupiny použito dat získaných na 6 zvířatech. Ke stanovení významnosti změn sledovaných ukazatelů po podání farmaka byla použita dvoufaktorová analýza rozptylu. K testování homogenity rozptylu v kontrolní fázi byl použit Bartlettův test.

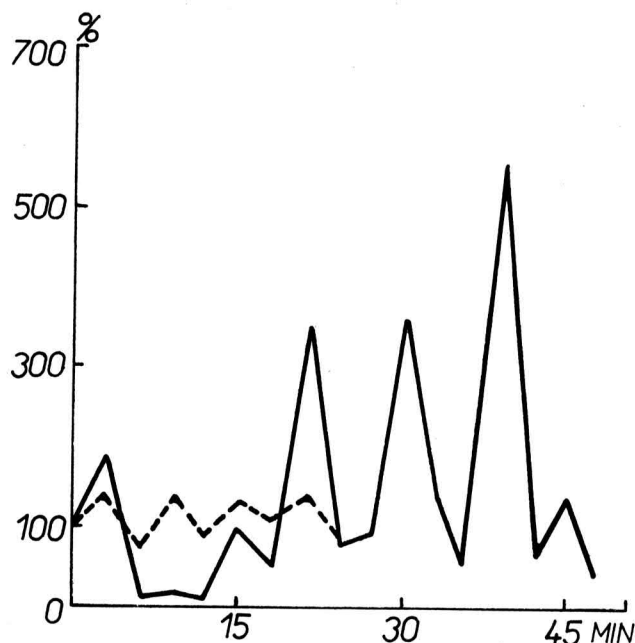
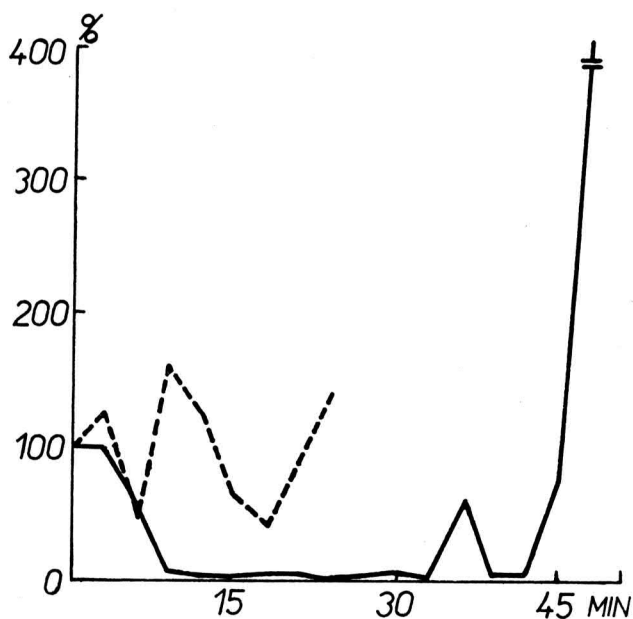
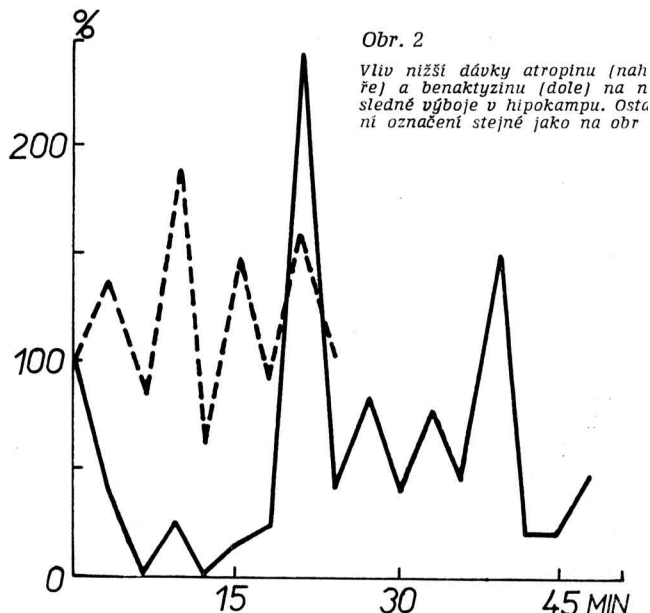
Pro grafické znázornění výsledků byl vypočten průměr ze čtyř prvních hodnot v kontrolní části pokusu a všechny hodnoty vyjádřeny v procentuální relaci k tomuto průměru. Podobně byl vypočten průměr ze čtyř posledních hodnot kontrolní fáze pokusu a veškeré hodnoty po podání farmaka vyjádřeny opět v procentuální relaci k tomuto průměru.

Výsledky

Atropin a benaktyzin ve vyšší dávce měly tlumivý efekt na následné výboje vyvolané stimulací dorzální části septa (obr. 1). U atropinu se



Rovněž nižší dávka obou anticholinergik měla tlumivý účinek na následné výboje. Snížení reakce bylo výrazné jako v případě vyšší dávky, pouze časové trvání této deprese bylo kratší (obr. 2). Nástup účinku byl poměrně rychlý,



na konci této tlumivé fáze objevovala facilitace. Depresivní vliv atropinu na délku i amplitudu hipokampální reakce se plně projevoval v 9. minutě po podání a přetrvával déle než 30 min. Na konci tohoto intervalu došlo k již zmíněnému prodloužení délky reakce. K podobným změnám došlo v kůře i amygdalu. Rovněž amplituda reakce byla snížena, chybělo však zvýšení odpovídající prodloužení reakcí na konci intervalu tlumivého působení. Tlumivý účinek benaktyzinu se výrazněji projevoval v potlačování délky reakce ve sledovaných strukturách. Méně byla ovlivněna amplituda reakce. Změny byly méně výrazné než u atropinu, ani v jediném časovém okamžiku nedošlo k úplnému bloku reakce.

plně se tlumivý efekt atropinu projevil již v 6. min. po injekci farmaka. Nebyla vyznačena výraznější facilitace na konci intervalu tohoto tlumivého působení. V případě benaktyzinu byl více vyznačen dvoufázový efekt. Délka následných výbojů byla v první fázi značně snížena, podobně jako u podskupiny, která dostala atropin. Avšak daleko více byla vyznačena fáze facilitace, která začínala ve 20. min. a přetrvávala do konce pokusu.

Vyšší dávka atropinu zvyšovala srdeční frekvenci, zatímco frekvence dechu ovlivněna neby-

la. Vyšší dávka benaktyzinu snižovala jak frekvenci srdeční, tak frekvenci dechovou. Nižší dávka atropinu mírně zvyšovala srdeční frekvenci, zatímco nižší dávka benaktyzinu ji snižovala.

Všechny popsané změny byly potvrzeny statistickým šetřením ($P < 0,005$).

Diskuse

Úvahy o významu limbického systému při otravě OF jsou naprosto oprávněné, uvědomíme-li si některá fakta podporující tento předpoklad. Limbický systém reguluje vnitřní prostředí celého organismu, a to především prostřednictvím hypothalamu. Stimulace některých jeho částí — např. area preoptica — vede k autonomní reakci parasymptomimetického typu (21). Aktivita AChE v některých jeho strukturách, např. v ncl. amygdalae a septu, patří k nejvyšším v CNS (3, 23). Účinky OF na některé struktury limbického systému jsou potvrzovány nálezy biochemickými (4, 17, 18), neurofarmakologickými (5, 6) a behaviorálními (15).

Lokální aplikace cholinergních látek a inhibitorů AChE do hipokampu vede k výbojům po zevní stránce podobného charakteru jako po elektrické stimulaci (5, 6). Jsou důkazy pro společný původ následných výbojů vyvolaných elektrickou stimulací, facilitací a posttetanickou potenciací (16). Lze tedy říci, že jak parasymptomimetická, tak elektrická stimulace vede k podráždění limbického systému. Dále je prokázáno, že anticholinergika, speciálně atropin, potlačují bioelektrické i behaviorální projevy působení parasymptomimetik v limbickém systému (10, 15, 20). V některých případech může podání anticholinergik napodobovat v určitém rozsahu efekty septálních lézí (9, 15).

Naše výsledky doplňují uvedené závěry v tom smyslu, že atropin i benaktyzin potlačují, alespoň v některých případech, i elektricky vyvolané následné výboje v limbickém systému. Jsou nepřímým důkazem pro předpoklad, že na vzniku a šíření následných výbojů v limbickém systému se alespoň zčásti podílejí cholinergní mechanismy. Centrální působení atropinu bylo v tomto případě stejné, ne-li větší, jako efekt benaktyzinu. Přitom účinek benaktyzinu na mozkový ACh je asi 20krát silnější než efekt atropinu (7). Z toho lze usuzovat, že příčinu daného efektu obou farmak nelze omezit jen na samotné ovlivnění hladiny ACh v dané oblasti. Nezdá se také, že by byla nějaká souvislost mezi tímto efektem a periferním působením obou anticholinergik. Atropin ve vyšší i nižší dávce poněkud zvyšoval srdeční frekvenci. Dech ovlivněn nebyl. Benaktyzin naopak snižoval jak práci srdeční, tak dech.

Souhrn

Práce se zabývá srovnáním účinku atropinu a benaktyzinu na některé struktury limbického systému a kůru mozkovou v podmínkách akutního pokusu na kryších. K tomuto účelu byl vypracován vlastní

metodický postup využívající elektrickou stimulaci septa a sledování evokovaných výbojů v kůře, hipokampu a ncl. amygdalae. Při stimulaci dorzální části septa byl efekt obou farmak v podstatě stejný a projevoval se nejprve inhibicí reakce s její následnou, více či méně vyznačenou facilitací. Dosažené výsledky jsou diskutovány ve vztahu k literárním údajům o působení cholinergních a anticholinergních látek na limbický systém.

Autor děkuje J. Bajgarové za technickou spolupráci.

Literatura

1. Albanus, L.: Studies on central and peripheral effects of anticholinergic drugs. FOA reports 4, 1970, 3—17.
2. Bajgar, J., Patočka, J.: Příspěvek k mechanismu otravy některými organofosfáty. Sborník věd. prací VLVDÚ, 53, 1970, 9—21.
3. Bajgar, J., Urban, R.: Aktivita acetylcholinesterázy v různých částech krysího mozku. Suppl. Sborníku věd. prací LF KÚ Hradec Králové, 13, 1970, 219—227.
4. Bajgar, J.: Inhibition of acetylcholinesterase in different parts of the brain of mice by isopropyl methylphosphonofluoridate in vitro and in vivo. Arch. Toxikol. 27, 1971, 233—241.
5. Baker, W. W., Benedict, F.: Analysis of local discharges induced by intrahippocampal microinjection of carbachol or diisopropylfluorophosphate (DFP). Int. J. Neuropharmacol. 7, 1968, 135—147.
6. Baker, W. W., Benedict, F.: Influence of increased local cholinergic activity on discharge patterns of hippocampal foci. Electroenceph. clin. Neurophysiol. 28, 1970, 499—509.
7. Fink, Z.: Experimentálně teoretická analýza některých účinků anticholinergik. Sborník věd. prací VLVDÚ, 31, 1968, 202—236.
8. Fusek, J.: Srovnání parasymptomimetických účinků acetylcholinu a antiacetylcholinových účinků atropinu a benaktyzinu testovaných na izolovaném duodenu krysy. Sborník věd. prací VLVDÚ 44, 1969, 117 až 128.
9. Grossman, S. P.: Effect of chemical stimulation of the septal area on motivation. J. comp. physiol. Psychol. 58, 1964, 194—200.
10. Grossman, S. P.: Behavioral and EEG effects of stimulation or blockade of cholinergic components of the limbic system of rat, cat and monkey. CINP VII. congress abstracts, I., 1970, 174.
11. 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.
12. Herink, J., Hrdina, V.: Vliv atropinu na reakci po elektrické stimulaci krysího septa. Sborník věd. prací VLVDÚ 44, 1969, 141—153.
13. Herink, J., Bajgar, J., Patočka, J.: Vliv řízeného dýchání na elektrokortikogram krysy otrávených O-izopropyl-metyl-fluorofosfonátem. Voj. zdrav. listy 39, 1970, 191 až 195.
14. Hrdina, V.: Srovnání antidotní účinnosti směsi atropinu s obidoximem a atropinu s trimedoximem u myši intoxikovaných bojovými organofosfáty. Sborník věd. prací VLVDÚ, 53, 1970, 23—29.
15. Igić, R., Stern, P., Basagić, E.: Changes in emotional behaviour after application of cholinesterase inhibitor in the septal and amygdala region. Neuropharmacology, 9, 1970, 73—75.
16. Izquierdo, I., Nasello, A. G.: Pharmacological evidence that hippocampal facilitation, posttetanic potentiation and seizures may be due to a common mechanism. Exp. Neurol., 27, 1970, 399—409.
17. Jakl, A., Hrdina, V.: Změny aktivity acetylcholinacetylhydrolázy v různých oblastech psiho mozku po intoxikaci O-pinakolyl-metyl-fluorofosfonátem. Sborník věd. prací VLVDÚ, 36, 1968, 63—73.
18. Jakl, A., Hrdina, V.: Inhibiční efekt O-pinakolyl-metyl-fluorofosfonátu na aktivitu acetylcholinacetylhydrolázy v různých oblastech psiho mozku in vivo. Sborník věd. prací VLVDÚ, 38, 1969, 131—139.

Ostatní literatura u autora.