

Souhrnná výzkumná zpráva projektu

**Farmakologická redukce agresivity a panického
chování**

Projektu

VG 20102015041

Příjemce: Ministerstvo vnitra ČR

doc. MUDr. Ladislav Hess, DrSc., doc. MUDr. Jiří Málek, CSc.

21. 11. 2015

Farmakologická redukce agresivity a panického chování IK Projektu

VG 20102015041

Příjemce: Ministerstvo vnitra ČR

Souhrn

Cíle projektu: Cílem projektu bylo naplnit Dílčí cíle Programu 1c (ochrana obyvatelstva, bezpečnost měst a obcí v případě živelných pohrom a provozních havárií, zejména zajištění funkčnosti objektů při kritických stavech a zajištění základních funkcí obcí s rozšířenou působností prostřednictvím místní kritické infrastruktury), tématická oblast 2e zdravotní péče - předhospitalizační neodkladná péče, nemocniční péče, ochrana veřejného zdraví, výroba, skladování a distribuce léčiv a zdravotnických prostředků. Cílem projektu bylo vybrat vhodná farmaka a určit jejich optimální dávku pro farmakologickou analgosedaci po intramuskulárním podání, sledovat jejich vliv na chování a základní hemodynamické a respirační parametry pokusného zvířete (králík, makak rhesus) a vybrat vhodné látky a kombinace pro potenciální použití u člověka.

Metodika: V experimentu na králících a primátech byl sledován sedativní a imobilizační účinek různých farmak podávaných intramuskulárně. Byl měřen nástup účinku, vliv na oběhový a dýchací systém, možnost použít specifických antidot.

Výsledky: V experimentu byly sledovány opioidy, zejména remifentanil a další deriváty fentanylu, podávané intramuskulárně, S+ketamin, alfa-2 sympatomimetika, jako medetomidin, xylazin, klonidin a dexmedetomidin, benzodiazepiny, jako midazolam a jejich vzájemné kombinace opět intramuskulárně. Některé postupy měly světové prvenství nebo patřily k výjimečným. Z mnoha kombinací byly pro potenciální využití ve složkách integrovaného záchranného systému doporučeny intramuskulárně aplikovaný remifentanil a kombinace dexmedetomidin – S+ ketamin.

Závěr: Byla provedena řada pokusů s intramuskulárním podáním opioidů, sedativ a hypnotik. Výsledky z pokusu na zvířatech lze využít pro klinické studie u člověka v podmínkách medicíny katastrof, akutní medicíny a při premedikaci malých dětí. Cíle projektu byly splněny a během 5 let výrazně překročeny s testováním nových farmak a jejich specifických antagonistů. O výsledcích výzkumu bude publikována kniha (zařazena do edičního plánu nakladatelství Karolinum) a byly uzavřeny smlouvy o využití výsledků Zdravotnickou záchrannou službou Středočeského kraje a EMERGENCY Ústřední vojenské nemocnice (viz přílohy), další jsou základem nového projektu Ministerstva obrany „Bolest“.

Obsah

1. Úvod	5
2. Experimentální práce.....	8
2.1.1. Králíci	8
2.1.2. Makak	9
2.2.1. Benzodiazepiny.....	10
2.2.1.1. Midazolam u králíka	10
2.2.1.2. Flumazenil u králíka	13
2.2.1.3. Midazolam u makaka	15
2.2.1.4. Flumazenil u makaka	16
2.2.2. Alfa-2-sympatomimetika	18
2.2.2.1. Medetomidin u králíka	18
2.2.2.2. Dexmedetomidin u králíka	18
2.2.2.3. Medetomidin u makaka	19
2.2.3. Farmaka vhodná k navození sedace, redukce agresivního chování a imobilizace:	20
2.2.3.1. Rozdíly v účincích racemického a pravotočivého izomeru ketaminu u makaka	22
2.2.3.2. Vliv kombinace alfa2-agonista ketamin na chování a základní kardiorespirační parametry u makaka	25
2.2.3.3. Vliv kombinace alfa2 agonista-ketamin na chování a základní kardiorespirační parametry u makaka rhesus (Macaca mulatta).....	26
2.2.3.4. Vliv kombinace midazolam-ketamin na chování a základní kardiorespirační parametry u makaka	28
2.2.3.5. Vliv trojkombinace midazolam-medetomidin-ketamin na chování a základní kardiorespirační parametry.....	30
2.2.3.6. Vliv velmi nízkých dávek kombinace midazolam – medetomidin – ketamin na chování a základní kardiorespirační parametry u králíka	32
2.2.4. Opiody	37
2.2.4.1. Remifentanil 1ug/kg u králíka.....	38
2.2.4.2. Remifentanil 1ug/kg – hyaluronidáza u králíka	39
2.2.4.3. Remifentanil 3ug/kg u králíka.....	39
2.2.4.5. Sufentanil 1 µg/kg u králíka	41
2.2.4.6. Sufentanil 3 µg/kg u králíka	41
2.2.4.7. Sufentanil 3 ug/kg – hyaluronidáza 150 m.j.....	42
2.2.4.8. Fentanyl 10 µg/kg u králíka	42
2.2.5. Vliv úplně antagonistovatelné imobilizace na chování a základní kardiorespirační parametry u králíka	42

2.2.5.1. Piritramid 1 mg/kg – midazolam 0,25 mg/kg u králíka	42
2.2.5.2. Alfentanil 10 µg/kg – midazolam 0,05 mg/kg u králíka	43
2.2.5.3. Remifentanil 5 µg/kg – midazolam 0,08 mg/kg u králíka	43
2.2.6. Úplně antagonistická imobilizace u makaka rhesus (Macaca mulatta)	43
2.2.6.1. Medetomidin 50 µg.kg ⁻¹ i.m. - midazolam 0,25 mg.kg ⁻¹ - fentanyl 5 µg.kg ⁻¹ - hyáza 150 m.j.....	45
2.2.6.2. Remifentanil 3 µg/kg – medetomidin 10 µg/kg – midazolam 0,1 mg/kg.....	45
2.2.7. Vliv skopolaminu na chování a základní kardiorespirační parametry	45
2.2.7.1. Skopolamin 0,25 mg + sufentanil 1 µg/kg u králíka	46
2.2.7.2. Skopolamin 0,5 mg – sufentanil 1 µg/kg – efedrin 0,5 mg/kg u králíka.....	47
2.2.8. Vliv etomidátu a jeho kombinace s farmaky na chování a kardiorespirační parametry	47
2.2.8.1. Etomidát 1 mg/kg u králíka	48
2.2.8.2. Etomidát 0,3 mg/kg – remifentanil 2,5 µg/kg u králíka.....	48
2.2.8.3. Etomidát 0,3 mg/kg – midazolam 0,1 mg/kg u králíka.....	48
2.2.9. Vliv oxytocinu na chování a základní kardiorespirační parametry	49
2.2.9.1. Oxytocin intramuskulárně 5 m.j u králíka.....	49
2.2.9.2. Oxytocin 5 m.j nasálně u králíka.....	50
2.2.9.3. Oxytocin 5 m.j nasálně a midazolam 0,2 mg/kg i.m. u králíka	50
2.2.9.4. Oxytocin 5 m.j. i.m. u makaka	51
2.2.9.5. Oxytocin 5 m.j. – midazolam 0,25 mg/kg i.m. u makaka.....	51
3. Ovlivnění rychlosti nástupu účinku aplikovaných farmak.....	53
4. Stručný přehled nejdůležitějších experimentálních výsledků	59
5. Závěr.....	61

1. Úvod

Žijeme ve světě globalizace, náhlých klimatických i životních změn, výskytu nových infekčních nemocí i zvýšené agresivity. Přibývá teroristických činů a ohnisek neklidu v jednotlivých zemích světa. Z nejistoty základních životních hodnot vzrůstá úzkost a strach. Denně jsme svědky v novinách, rozhlasu i v televizi prudkého nárůstu různých kriminálních činů i zvýšení agresivního chování vůči policii i zdravotníkům. Vzrůstá i násilí ve školách. Každoročně stoupá počet použití střelných zbraní policisty a výsledkem je i samozřejmě zvýšený počet smrtelných nehod. Stoupá i počet lidí napadených agresivními zvířaty, především psy ale i býky. Z přelomu roku 2007/8 je znám případ tygřice ze zoo San Francisco, která zabila po svém útěku z výběhu 2 návštěvníky a případ gorily v holandské zoo, která po svém útěku těžce poranila 1 návštěvnici.

Policie a speciální zásahové jednotky jsou každodenně konfrontovány se skutečností jak účinně zasahovat proti teroristům a obecně agresivním osobám. Jak zajistit transport nebezpečné kriminální osoby např. letecky z jedné do druhé často několik tisíc km vzdálené země. Jak reversibilně zneškodnit agresivní zvíře.

Domnívám se, že anesteziologové mají velmi blízko k této problematice, protože pracují s vysoce účinnými farmaky, které často mění vědomí a mozkovou činnost a podstatně ovlivňují základní životní funkce tj. oběh a dýchání. Je dosud málo známo, že také anesteziolog byl součástí týmu izraelské tajné služby Mossad, který unesl začátkem 60.let 20.stolení z Argentiny do Izraele válečného zločince Adolfa Eichmana, který zajišťoval při transportu jeho sedaci.

Výzkum biochemických NLW (Non Lethal Weapons) byl však ve Spojených státech renovován v prosinci 1999 a pokračuje dále. Cílem je vyvinout nová chemická zneschopňující farmaka pro armádu a policii. Současný farmakologický výzkum dává naději na syntézu bezpečnějších imobilizujících farmak s velkou terapeutickou šíří a malým ovlivněním kardiopulsačních funkcí. V první fázi se jedná o vytipování vhodných farmak nebo jejich kombinací, včetně způsobů imobilizace, určení optimálního dávkování, nástupu účinku a jeho délky a terapeutické šíře. Ve druhé fázi pak jsou vytipovaná farmaka testována na primátech následovaném klinickými studiiemi u člověka k určení bezpečnosti a operačních charakteristik. Ve třetí fázi pak stanovit možné použití – kontrola davů, ochrana vyslanectví, použití v boji proti terorismu (rukojmi a dobývání zavřených prostor s teroristy) k zastavení motoristů a při vězeňských nepokojích. Hlavní část tohoto projektu se odehrává v Edgerwood Chemical biological center. Hlavním výzkumným pracovníkem je C. Parker Fergusson, který je autorem výzkumu imobilizačních farmak a kalmativ. V roce 2000 byly výsledky studie publikovány v dokumentu nazvaném „The Advantages and Limitations of Calmatives for Use as a Non-Lethal Technique“.

Vhodná kalmativa musí být vhodná pro tradiční a netradiční způsoby podání (intramuskulární, transdermální, inhalační atd.) Rychlý nástup účinku v sekundách, krátkou délku účinku v minutách, srovnatelné účinky u jednotlivců s podobnou hmotností a věkem,

reversibilní účinky rychlým metabolismem nebo podáním specifických antagonistů, nesmí být toxická pro oběť a nežádoucí účinky musí být krátkého trvání.

Jsou syntetizována farmaka s velmi říditelným účinkem, která jsou metabolicky fragilní.

Kromě opioidů remifentanilu je to metoxykarboxyl-etomidát a ultrakrátce působící benzodiazepiny. Všechna tato farmaka splňují rychlý nástup účinku a jeho rychlé odeznění s minimálním ovlivněním kardiopulmonálního systému. Zmíněná farmaka jsou tzv. soft-drugs, mají přítomnou esterickou vazbu v molekule, která zaručuje rychlý metabolismus a vyloučení s organismu.

Jsou syntetizována stále sofistikovanější farmaka, která jsou schopna selektivně ovlivnit pouze určité mozkové funkce (navodit anxiolýzu, amnézii, ztrátu agresivity). Je studována podrobně interakce receptorů a jejich subtypů s jednotlivými farmaky. Jsou studovány nové techniky při aplikaci farmak a zdokonalovány přístroje pro jejich aplikaci. Jsou studovány „imobilizace“, které používá v přírodě hmyz, např. kutilka s ponravou nebo vosy se sklípkanem.

1.1. Základní požadavky na farmaka používaná k imobilizaci zvířat a člověka

Hlavními předpoklady pro farmaka určená k sedaci, redukci agresivního chování i imobilizaci jsou:

- velká terapeutická šíře, protože nelze přesně určit hmotnost
- malé ovlivnění základních kardiopulmonálních parametrů
- rychle nastupující účinek
- rychlé psychomotorické zotavení
- vysoká biologická dostupnost při intramuskulární aplikaci
- možnost přípravy koncentrovaných roztoků
- možnost použití netradičních způsobů aplikace
- kompatibilita s ostatními farmaky
- malé nežádoucí účinky
- možnost použití specifických antagonistů

Tyto předpoklady splňují především disociativní anestetika. Proto jsou často používána v medicíně katastrof. V běžné praxi však jedno farmakon nespĺňuje všechny požadavky zde uvedené a proto se většinou používá kombinace farmak k zesílení žadoucích účinků a k redukci nežadoucích účinků.

1.2. Tradiční způsoby aplikace:

Intramuskulární aplikace. Volba vhodného místa

Na rychlosti nástupu účinku se kromě fyzikálně chemických vlastností daného farmaka podílí také volba aplikačního místa. Při aplikaci do přední končetiny zvířete nebo do m. deltoideus u

člověka je nástup účinku rychlejší než při aplikaci do zadní končetiny nebo do m. gluteus maximus. Kromě toho je dosaženo vyšších plasmatických koncentrací a tím i intenzivnějšího účinku. K dalšímu urychlení resorpce je ještě možné přidat hyaluronidázu nebo dimetylsulfoxid (DMSO).

Místa vhodná pro imobilizaci člověka jsou kromě m. deltoideus a m. gluteus maximus i oblast stehen a svalovina zad. Tomuto způsobu aplikace musí být přizpůsobena i délka jehly, aby nedošlo k perforaci tělesné dutiny.

Dálkové injekční systémy

K aplikaci farmak je v současné době k dispozici velká paleta distančních injekčních systémů. V zoologických zahradách se osvědčila narkotizační foukačka, která má svůj původ ve foukačkách jihoamerických indiánů z povodí Amazonky. Indiáni používají odedávna tyto až 5 metrů dlouhé foukačky z palmového dřeva k nehlučnému lovu savců i ptáků. Zvláště u menších a neklidných zvířat můžeme po určitém zácviku získat dobré výsledky. Na větší vzdálenost jsou k dispozici distanční imobilizační systémy na stlačený vzduch, které vyrábí firma Telinject z Německa (Vario IV puška, Vario 2V puška).

2. Experimentální práce

2.1. Materiál a metodika

2.1.1. Králíci

K této studii jsme použili celkem 200 králíků druhu činčily šedé hmotnosti 2,5 – 4,5 kg obojího pohlaví. Králíci byli drženi v individuálních klecích v místnosti s teplotou 20 – 22°C a vlhkosti 40 – 65 %. Dostávali standardní dietu a měli volný přístup k vodě. Experimenty na králíčích byly povoleny Etickou komisí pro pokusy na zvířatech při MZ ČR a Etickou komisí v IKEM.

Po 15 min. klidu k adaptaci na laboratorní prostředí jsme u každého králíka změřili základní kardiorespirační parametry – stupeň saturace hemoglobinu kyslíkem a tepovou frekvenci. Sonda pulsního oximetru byla umístěna v zátylku zvířete, kde byla malá plocha srsti vyholena. Krevní tlak jsme měřili oscilometricky neinvazivně manžetou na přední končetině zvířete přístrojem Memoprint (Medvet – Německo).

Výchozí vyšetření bylo provedeno před podáním farmak a dále v 1min. intervalech až do 20. min. Hodnotili jsme změny chování. Zaznamenali jsme první známky sedace, které se projeví snížením pohybu vibrissae, snížením tonu svalstva a změněným držetím těla. Postupně byla redukována odezva na poklep stropu dutiny nosní. Jako kritérium imobilizace jsme zvolili ztrátu reflexu polohy. Tu jsme testovali pokusy o obrácení zvířete do polohy na zádech v 1min. intervalech.

Farmaka jsme aplikovali po fixaci zvířete kovovou sondou s kulovitým zakončením, aby nedošlo k poranění oka. Známky iritace jsme hodnotili modifikovaným testem dle normy ČSN EN ISO 10993-10.

V každé pokusné skupině jsme statisticky hodnotili vývoj kardiorespiračních parametrů – výchozí hodnoty versus 1., 10., 20. min. od aplikace.

Mezi skupinami jsme srovnávali rychlost nástupu ztráty reflexu polohy a rovněž kardiorespirační parametry – výchozí hodnoty versus 1., 10., 20. min. od aplikace.

Před konjunktivální aplikací sufentanilu jsme si ověřili jeho vliv na chování a základní kardiorespirační parametry pomocí standardní intramuskulární aplikace.

K statistickému zhodnocení jsme použili ANOVA-test.



Obr. 1 Ztráta polohového reflexu u králíka

2.1.2. Makak

Testování účinku jednotlivých farmak a jejich kombinace jsme prováděli na makacích rhesus /*Macaca mulatta*/ obojího pohlaví, stáří 2–5 let, hmotnosti 3 – 5,5 kg chovaných v Biotestu s.r.o. v Konárovicích u Kolína. Kolonie asi 250 makaků je zde chována ve velkých klecích s venkovními výhledy. Po povolení etickou komisí pro pokusy na zvířatech v IKEM jsme testovali farmakon nebo kombinaci farmak vždy na 10 zvířatech v 21 denních intervalech. To nám umožnilo vzájemné srovnání účinku farmak u téhož jedince.

Poslední příjem potravy byl večer před pokusným dnem, voda byla k dispozici ad libitum až do začátku experimentu. Před začátkem experimentu jsme zkontrolovali funkčnost používaných přístrojů (pulsní oximetr, přístroj na měření krevního tlaku) a pokusná zvířata zvažili. Před imobilizací jsme podle způsobu chování zjistili, zda je klidné, neklidné nebo velmi neklidné a zaznamenali jsme hodnotní pořadí zvířete ve skupině. Zaznamenali jsme věk a pohlaví. Následně jsme vypočetli dávkování farmaka nebo jeho kombinace pro určité zvíře a připravili injekční stříkačku s roztokem anestetika.

Po odchycení do podběráku a manuální fixaci jsme jim aplikovali farmaka bukálně nebo nazálně. K netradičnímu způsobu aplikace jsme používali kovovou sondu s tupým zakončením. Ihned po aplikaci jsme zapojili stopky, abychom mohli celý průběh pokusu časově protokolovat. Zvíře jsme vypustili do malé klece, abychom mohli sledovat změny chování. Zaznamenali jsme první známky sedace, které se projeví poklesem očních víček a poklesem hlavy, určili jsme čas prvních známek ztráty koordinace pohybu – ataxie.

Zaznamenali jsme imobilizační čas (čas od aplikace k ztrátě reflexu polohy) a čas ztráty úchopového reflexu, který často přetrvává při imobilizaci. Dále jsme zaznamenali případné změny svalového tonu, výskyt nechtěných pohybů, velikost zornice, výraz očí. Sledovali jsme výskyt nežádoucích účinků dechové deprese, změny srdečního rytmu, zvracení, výskyt svědění.

Jakmile jsme opici vyjmuli z klece, připojili jsme měřicí přístroje a začali monitorovat srdeční frekvenci a stupeň saturace hemoglobinu kyslíkem, pulsním oximetrem a měřit nekrvavým oscilometrickým způsobem krevní tlak v 5 min. intervalech. Čidlo pulsního oximetru bylo umístěno na prstech nebo na horním rtu bukální sliznice pokusných zvířat.

Pozorovali jsme také barvu sliznic. Stlačením nepigmentované sliznice v dutině ústní jsme určovali tzv. kapilární plnicí čas a sledovali jsme, zda se prokrvení sliznice po uvolnění prstu obnoví do 2 sec. Tělesnou teplotu zvířete během imobilizace jsme odečítali z čipu zavedeného v temenní krajině zvířete.

Jednotlivá zvířata jsme nechali spontánně zotavit a zaznamenali první známky probouzení (např. mrkání očními víčky), zaujmutí prsní polohy, posazení a úplné obnovení kognitivních schopností (zvíře při vědomí, které reaguje na přiblížení ke kleci agresivním chováním). Při analýze výsledků jsme použili statistické metody. K deskriptivní analýze popsaných výsledků jsme použili aritmetického průměru všech měřených veličin a k tomu standardní odchylku, která je důležitým ukazatelem pro šíři rozptylu hodnot kolem aritmetického průměru. Hodnoty jsme uvedli do tabulek a některé z nich znázornili graficky. Ke zjištění statistických rozdílů mezi jednotlivými hodnotami v určité skupině zvířat a mezi skupinami jsme použili ANOVA test.

2.2. Experimenty na zvířatech

2.2.1. Benzodiazepiny

Základní charakteristika

Benzodiazepiny jsou v současnosti nejčastěji používaná psychofarmaka v anesteziologii a resuscitaci. V roce 1974 se na základě převážně elektrofyziologických studií ukázalo, že inhibiční účinek benzodiazepinů na CNS je způsoben selektivním zesílením aktivity gamaaminomáselné kyseliny v GABAergních synapsích. Kyselina gamaaminomáselná je nejdůležitějším inhibičním neurotransmiterem v CNS. 1/3 všech synapsí v mozku je GABAergních. Dalším mílovým kamenem k pochopení molekulárních mechanismů účinku byl objev specifických benzodiazepinových receptorů v CNS v roce 1977 (Möhler a Okada 1977, Squires a Braestrup 1977). Distribuce benzodiazepinových receptorů je nejvyšší v kůře mozkové a limbickém systému. Následuje kůra mozečku. Fylogeneticky bylo zjištěno, že se benzodiazepinové receptory vyskytují v CNS všech obratlovců s výjimkou paryb a kruhoústých.

V závislosti na dávce navozují benzodiazepiny anxiolytický, amnestický, centrálně svalově relaxační, sedativní, antikonvulzivní a hypnotický účinek. Na sedativním a hypnotickém účinku se podílejí jednak aktivity GABAergních inhibičních synapsí a jednak purinergní mechanismy. Benzodiazepiny také snižují hladinu noradrenalinu v CNS především v hlavním noradrenergním jádru locus coeruleus a tím dochází k anxiolýze.

Krevní tlak účinkem benzodiazepinů mírně klesá. Také srdeční frekvence se snižuje.

Benzodiazepiny mají antiarytmický a antifibrilační účinek. Ovlivnění dýchání je relativně malé a u zdravých jedinců při běžném dávkování klinicky nevýznamné.

Mezi hlavní zástupce benzodiazepinů patří diazepam, flunitrazepam a midazolam.

2.2.1.1. Midazolam u králíka

Experimentům jsme zvolili midazolam, který je ve vodě rozpustný s krátkým biologickým poločasem. Aplikovali jsme ho v následujících dávkách:

Midazolam 0,1 mg/kg
Midazolam 0,1 mg/kg - hyaluronidáza
Midazolam 0,2 mg/kg
Midazolam 1 mg/kg

Výsledky:

Midazolam 0,1 mg/kg

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo po $193,5 \pm 68,7$ sekundách.

Srdeční frekvence: Stoupla z výchozích $269,0 \pm 29,9$ tepů/min na $285,2 \pm 36,7$ tepů/min (v 5. minutě) a dále pozvolna klesala na $263,4 \pm 36,0$ tepů/min (v 10. minutě), $258,4 \pm 39,7$ tepů/min v 15. minutě a $248,8 \pm 39,8$ tepů/min ve 20. minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $98,4 \pm 1,0$ % na $97,9 \pm 1,2$ % v 5. minutě, dále mírně stoupla na $98,3 \pm 1,5$ % v 10. minutě, opět mírně klesla na $97,9 \pm 1,9$ % v 15. minutě a opět stoupla na $98,3 \pm 1,2$ % ve 20. minutě.

Systolický krevní tlak: Velmi mírně klesl z výchozích $115,5 \pm 22,2$ torrů na $115,2 \pm 15,8$ torrů v 10. minutě, $114,4 \pm 19,0$ torrů v 15. minutě a dále klesl na $109,9 \pm 14,4$ torrů ve 20. minutě.

Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Midazolam 0,1 mg/kg – hyaluronidáza

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo po $72,5 \pm 14,9$ sekundách a přetrvávala více než 20 min v 8 případech, v 1 případě trvala do 17. min a v 1 případě do 18. min.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $255,2 \pm 25,3$ tepů/min na $239,2 \pm 18,7$ tepů/min (v 5. minutě) a dále pozvolna klesala na $232,8 \pm 15,6$ tepů/min (v 10. minutě). Od 10. min se držela přibližně na stejné úrovni, takže byla v 15. minutě $234,0 \pm 21,2$ tepů/min a $235,9 \pm 21,2$ tepů/min ve 20. minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $98,8 \pm 0,7$ % na $98,2 \pm 0,9$ % v 5. minutě a v dalších minutách se držela přibližně na stejné úrovni, takže byla $98,4 \pm 1,4$ % v 10. minutě, v 15. minutě $98,5 \pm 0,9$ % a ve 20. minutě $98,5 \pm 0,9$ %.

Systolický krevní tlak: Stoupl z výchozích $105,9 \pm 15,7$ torrů na $118,4 \pm 12,4$ torrů v 5. minutě a pak mírně stoupl na $112,1 \pm 13,1$ torrů v 15. minutě a $115,3 \pm 12,7$ torrů ve 20. minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Midazolam 0,2 mg/kg

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo po $108,0 \pm 50,7$ sekundách. Ztráta reflexu polohy trvala ve všech případech více než 20 minut.

Srdeční frekvence: Stoupla z výchozích $253,3 \pm 20,1$ tepů/min na $266,9 \pm 16,0$ tepů/min v 5. minutě, aby dále opět mírně klesla na $255,1 \pm 19,6$ tepů/min v 10 minutě, $250,0 \pm 20,2$ tepů/min v 15 minutě a $248,6 \pm 23,5$ tepů/min ve 20 minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Výchozí saturace byla $99,0 \pm 0,8$ % a v průběhu celých 20 minut se držela nad 98%.

Systolický krevní tlak: Velmi mírně klesl z výchozích $120,1 \pm 14,1$ torrů na $118,7 \pm 12,5$ torrů ve 3 minutě, pak byl $110,2 \pm 17,2$ torrů v 10 minutě a dále klesl na $105,9 \pm 12,7$ torrů ve 20 minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Midazolam 1 mg/kg

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo po $134,0 \pm 23,5$ sekundách.

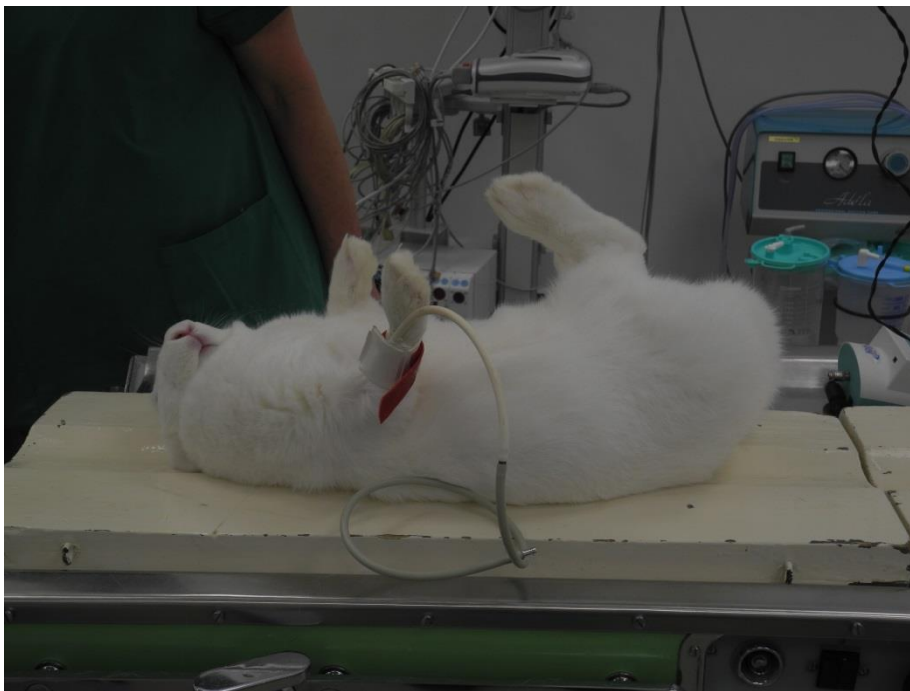
Srdeční frekvence: Se zvýšila z výchozích $256,4 \pm 24,9$ tepů/min na $265,8 \pm 35,5$ tepů/min (v 5. minutě), dále pak klesala na $258,5 \pm 40,2$ tepů/min (v 10. minutě) a $252,7 \pm 37,9$ tepů/min v 15. minutě a dále mírně klesala až na $247,4 \pm 35,6$ tepů/min ve 20. minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Z výchozích $98,2 \pm 1,3$ % se snížila na $97,2 \pm 2,8$ % v 10. minutě a dalších 10 minut se v podstatě neměnila a byla ve 20. minutě $97,7 \pm 3,3$ %

Systolický krevní tlak: Stoupl z výchozích $115,5 \pm 24,8$ torrů na $121,3 \pm 15,5$ torrů v 5. minutě a dále mírně klesal na $116,8 \pm 28,2$ torrů v 15. minutě a $113,9 \pm 23,3$ torrů ve 20. minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Výsledky:

Z výsledků pokusů je patrné, že midazolam již v dávce 0,1 mg/kg i.m. vede k rychlé ztrátě reflexu polohy v průměrném čase něco přes 3 minuty. Nejrychlejší čas byl 80 sec, nejdelší čas 330 sec. Uvedená dávka odpovídá dávkování běžně používanému u člověka. Při kombinaci s hyaluronidázou došlo k výraznému urychlení ztráty reflexu polohy, ke kterému došlo průměrně již za 1 min 12 sec se směrodatnou odchylkou 15 sec. Při zvýšení dávky midazolamu na 1 mg/kg čili 10-ti násobně došlo ke zkrácení imobilizačního času na 2 a čtvrt minuty při zachované kardiorepirační stabilitě. Při zvýšení dávky na 2 mg/kg již nedošlo ke zkrácení imobilizačního času, který se pohyboval okolo hranice 3,5 min. I při tomto dávkování byla význačná kardiorepirační stabilita.



2.2.1.2. Flumazenil u králíka

Vliv flumazenilu na chování a základní kardiopulsační parametry u králíka

Jak plyne z četných pokusů na zvířatech i z klinických studií prokázali někteří autoři agonistické účinky flumazenilu. Jiní to popírají nebo tvrdí, že tyto účinky jsou malé a nemají prakticky klinický význam.

V pokusech na králících jsme se proto rozhodli testovat vliv flumazenilu v nízké dávce 0,1 mg i.v. (odpovídá 20-25 ug/kg) a vysoké dávky flumazenilu 0,1 mg/kg i.m. na chování a základní kardiopulsační parametry.

Výsledky:

Flumazenil 0,1 mg i.m.

Flumazenil v dávce 0,1 mg i.m. vedl k postupnému nástupu sedace, králík byl klidný, byl schopen držet hlavu nad podložkou a měl pouze mírné snížení svalového tonu.

Ztráta reflexu polohy činila více než 20 minut ve 4 případech, v 6 případech byla vyznačena ztráta reflexu polohy do 7-19 minut (7, 9, 11, 2x 18, a 19 minut).

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo po $160,5 \pm 81,1$ sekundách.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $262,3 \pm 21,6$ tepů/min na $259,3 \pm 22,7$ tepů/min v 1. minutě a dále stoupala na $283,3 \pm 17,6$ tepů/min v 5. minutě. Na této úrovni se držela stále, takže v 15. minutě byla $289,7 \pm 15,0$ tepů/min a ve 20. minutě byla $292,8 \pm 14,9$ tepů/min ($p < 0,01$). Saturace hemoglobinu kyslíkem: Se držela z výchozích $99,2 \pm 0,7$ % prakticky v průběhu celého pokusu nad 99 %.

Systolický krevní tlak: Klesl z výchozích $119,7 \pm 15,4$ torrů na $115,5 \pm 12,2$ torrů v 5. minutě a pak velmi mírně klesl na $113,9 \pm 5,8$ torrů ve 20. minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Flumazenil 0,1 mg/kg i.m.

Flumazenil v dávce 0,1 mg/kg i.m vedl k výrazné sedaci. Králík byl opět klidný a schopný držet hlavu nad podložkou. Pouze v jednom případě trvala ztráta reflexu polohy déle než 20. minut, v ostatních případech byla od 13-19. minuty.

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo po $158,5 \pm 93,0$ sekundách.

Srdeční frekvence: Stoupla z výchozích $272,1 \pm 25,9$ tepů/min na $289,9 \pm 24,6$ tepů/min v 5. minutě, v 10. minutě byla $287,6 \pm 23,3$ tepů/min ($p < 0,01$). V 15. minutě byla $283,6 \pm 24,5$ tepů/min a a do ve 20. minuty mírně klesla na $277,0 \pm 24,1$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Se držela z výchozích $99,2 \pm 0,9$ % prakticky v průběhu celého pokusu okolo 99 %.

Systolický krevní tlak: Klesl z výchozích $123,3 \pm 16,1$ torrů na $117,9 \pm 9,8$ torrů v 5. minutě a dále se držel prakticky na stejných hodnotách, takže byl $117,7 \pm 10,7$ torrů ve 20. Minutě ($p < 0,01$). Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.



Obr. č. 9

Po aplikaci flumazenilu dochází pouze k mírné sedaci.



Obr. č. 10

V průběhu 3 minut dochází u králíka po aplikaci flumazenilu ke ztrátě reflexu polohy.

Diskuze

Z výsledků vyplývá, že flumazenil v nízké dávce 0,1 mg i.m. i ve vysoké dávce 0,1 mg/kg i.m. vedl ve všech případech ke ztrátě reflexu polohy. Imobilizační čas byl v podstatě stejný při nízké i při vysoké dávce. Je však zajímavé, že ztráta reflexu polohy trvala déle při nízké dávce než vysoké. Také po sarmazenilu došlo k vývoji sedace a ke ztrátě reflexu polohy. Srdeční frekvence při nízké dávce flumazenilu stoupla o 30 tepů/min. při vyšší dávce nejprve stoupla v 7-9. minutě o 20 tepů/min., aby postupem času klesala k výchozím hodnotám. U člověka vede samotná aplikace flumazenil k poklesu srdeční frekvence (Neave a spol. 2001). Saturace hemoglobinu kyslíkem byla ve všech případech nezměněna. Také krevní tlaky se v průběhu pokusu v podstatě nezměnily.

V další sérii pokusu jsme se zabývali kombinací flumazenilu s midazolamem.

2.2.1.3. Midazolam u makaka

Vliv midazolamu na chování a základní kardiorespirační parametry

Benzodiazepiny působí ve vyšším dávkování výraznou sedací, která je takřka neovlivnitelná zevními podněty. Zajímalo nás, zda midazolam v dávce 1 mg/kg způsobí úplnou imobilizaci a jeho vliv na základní kardiorespirační parametry.

Midazolam 1 mg/kg i.m.

Nástup účinku byl za $113,3 \pm 56,4$ sekund, imobilizační čas byl $564,4 \pm 318,7$ sekund v 9 případech, v jednom případě došlo pouze k silné sedaci. Ztráta úchopového reflexu byla za $427,0 \pm 224,7$

sekund. Makak byl ve všech případech silně sedován s úplnou ztrátou agresivního chování.

Na dotykový podnět se sedace nezměnila. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $97,6 \pm 1,8$

% ve 3.minutě a stoupla na $97,7 \pm 1,5$ % v 10. minutě, aby se v dalších minutách držela přibližně na stejné úrovni, takže byla ve 20.minutě $97,4 \pm 1,8$ %. Tepová frekvence klesla z výchozích $203,0 \pm 24,3$ tepů/min ve 3.minutě na $195,7 \pm 19,1$ tepů/min v 5.minutě, $185,9 \pm 19,3$ tepů/min ve 10.minutě a $169,6 \pm 16,9$ tepů/min ve 20.minutě. Systolický krevní tlak byl ve 3.min $116,9 \pm 4,6$ torrů a klesl v 10.min na $105,5 \pm 6,8$ torrů a v dalších minutách dále klesl, takže byl ve 15.minutě $101,8 \pm 6,6$ torrů a ve 20.minutě $99,8 \pm 8,5$ torrů. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Diskuze

Nástup účinku byl patrný již za necelé 2 min., imobilizační čas byl $9,5 \text{ min} \pm 6 \text{ min}$ (velká směrodatná odchylka). Saturace hemoglobinu kyslíkem byla vyrovnaná nad 97 %. Tepová frekvence v průběhu pokusu pozvolně klesala k parametrům charakteristickým pro makaka. Také systolický krevní tlak poklesl. Midazolam v uvedené dávce působí tedy imobilizaci s výbornými kardiorespiračními parametry.

2.2.1.4. Flumazenil u makaka

Vliv flumazenilu na chování a základní kardiorespirační parametry u makaka rhesus

U 5 makak rhesus obojího pohlaví ve věku 2-3 let, hmotnosti 3,7 - 6,5 kg jsme studovali účinky flumazenilu aplikovaného i.m. Po vyjmutí primáta z pytle jsme aplikovali flumazenil v dávce 0,1 mg/kg i.m. do obou m. deltoideus. V průběhu pokusu byl makak lehce fyzicky přidržován na stole a sledovali jsme neinvazivně saturaci hemoglobinu kyslíkem, srdeční frekvenci a měřili krevní tlak. Hodnotili jsme nástup sedace (celkové zklidnění, nástup svalové relaxace, zavírání očí).

Výsledky:

Sedace nastupuje za 2 minuty od aplikace plně vyznačena je v 8-10 minutě. Opice leží klidně na stole s mírným fyzickým držením, střídavě zavírá oči. Nevyrušována pospává. Srdeční frekvence je zpočátku vysoká okolo 200 tepů/min., pak postupně klesá až k 180 tepů/min ve 20 minutě. Krevní tlak se nemění oproti výchozím hodnotám. Saturace hemoglobinu kyslíkem není oproti výchozím hodnotám prakticky ovlivněna.

Závěr

Na primátech makak rhesus, na agilních a živých opicích lze sledovat výrazné sedativní účinky flumazenilu v dávce 0,1 mg/kg i.m.. To opět svědčí pro parciální agonistický účinek flumazenilu.



Midazolam v dávce 1 mg/kg i.m. působí výraznou sedací s výbornou kardiorespirační stabilitou.



Flumazenil v dávce 0,1 mg/kg i.m. působí výraznou sedací se ztrátou agresivity u makaka rhesus.

2.2.2. Alfe-2-sympatomimetika

2.2.2.1. Medetomidin u králíka

Vliv medetomidinu na chování a základní kardiorespirační parametry

Medetomidin patří k nejčastěji užívaným alfa₂ agonistům. Působí charakteristickou sedací ovlivnitelnou zevními podněty. Zajímalo nás proto, zda medetomidin v dávce 50 ug/kg i.m. je schopen vyvolat úplnou imobilizaci a vliv na základní kardiorespirační parametry.

Výsledky:

Medetomidin 50 µg/kg

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo za $266,3 \pm 111,3$ sekund v 8 případech z 10.

Srdeční frekvence: Výchozí hodnoty byly $263,1 \pm 19,3$ tepů/min a poklesly na $243,8 \pm 28,1$ v 5.minutě. Pokles dále pokračoval na $221,7 \pm 35,9$ tepů/min v 10.minutě a $198,3 \pm 45,3$ tepů/min ve 20.minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Zůstávala v průběhu celé imobilizace nad 98 %.

Systolický krevní tlak: Stoupl z výchozích $108,2 \pm 22,8$ torrů na $124,5 \pm 15,6$ torrů v 5.minutě a dále klesal, takže ve 20.minutě byl $113,1 \pm 20,8$ torrů. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.2.2. Dexmedetomidin u králíka

Dexmedetomidin 25 µg/kg

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo za $230,0 \pm 116,5$ sekund v 7 případech z 10.

Srdeční frekvence: Výchozí hodnoty byly $267,4 \pm 37,8$ tepů/min a poklesly na $253,5 \pm 41,6$ v 5.minutě. Pokles dále pokračoval na $234,8 \pm 39,9$ tepů/min v 10.minutě a $210,4 \pm 39,3$ tepů/min ve 20.minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Se držela okolo 98 %.

Systolický krevní tlak: Klesl z výchozích $106,6 \pm 14,2$ torrů na $103,8 \pm 17,5$ torrů v 5.minutě a dále pozvolna klesal na $103,2 \pm 22,9$ torrů v 15.minutě a $100,0 \pm 15,9$ torrů ve 20.minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Diskuze

Výsledky překvapivě ukázaly, že v ekvipotentní dávce nepůsobí dexmedetomidin větší pokles srdeční frekvence než racemický medetomidin.

2.2.2.3. Medetomidin u makaka

Výsledky:

Medetomidin 50 µg/kg

Nástup účinku byl za $169,0 \pm 161,2$ s, imobilizační čas byl $396,0 \pm 172,2$ s. K imobilizaci však pouze došlo v 5 případech z 10. Pouze v 5 případech došlo ke ztrátě úchopového reflexu za $366,0 \pm 197,5$ s. Makak byl ve všech případech silně sedován s úplnou ztrátou agresivního chování. Na dotykový podnět se však sedace změlčila a makak otevřel oči.

Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $96,0 \pm 2,0$ % ve 3. minutě a stoupla na $97,1 \pm 2,0$ % v 10. minutě a ve 20. minutě byla $97,4 \pm 1,7$ %.

Tepová frekvence klesla ze $135,9 \pm 25,2$ tepů/min ve 3. minutě na $134,2 \pm 22,1$ tepů/min v 5. minutě a $131,8 \pm 18,5$ tepů/min v 10. minutě a $130,9 \pm 21,4$ tepů/min ve 15. minutě a na $126,7 \pm 18,0$ tepů/min ve 20. minutě.

Systolický krevní tlak byl ve 3. min $127,7 \pm 17,5$ torrů, v 10. minutě $114,3 \pm 10,5$ torrů a v dalších minutách se držel na stejných hodnotách, takže byl ve 20. minutě $114,7 \pm 13,5$ torrů. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Diskuze

Výsledky ukázaly, že medetomidin v uvedené dávce způsobí úplnou imobilizaci pouze v 50ti % případů, v ostatních případech bylo dosaženo silné sedace, makak při nevyrušování zavíral oči, ale byl schopen reagovat na podněty z okolí, kdy došlo k výraznému změlčení sedace. Tepová frekvence se mírně snížila, stejně tak i systolický krevní tlak.



Po intramuskulární aplikaci medetomidinu dochází velmi rychle k výrazné sedaci.



Tato sedace je však poměrně velmi snadno ovlivnitelná zevními podněty.

2.2.3. Farmaka vhodná k navození sedace, redukce agresivního chování a imobilizace:

Disociativní anestetika

Představují nejvýznamnější skupinu farmak z hlediska použití v medicíně katastrof a pro zvláštní účely. Jsou to deriváty cyklohexaminu a první člen této skupiny, fencyklidin, byl syntetizován koncem 50. let. V současné době je hlavním představitelem ketamin. Ten tvoří dva zrcadlové izomery, pravotočivý a levotočivý izomer. Pravotočivý izomer (S+ketamin) je 1,5 – 1,7x silnější než běžně užívaný racemát R. Má také 2x rychlejší plazmatickou clearanci a proto jeho účinek rychleji odeznívá.

Disociativní anestetika vyvolávají širokou škálu změn v chování. Mají analgetické, amnestické, anestetické, antikonvulzivní a psychomimetické účinky. Navozují zvláštní stav, který se nazývá disociativní anestezie.

Klinicky dochází k disociaci mezi ovlivněním stavu vědomí a vnímáním bolesti. Ztráta vědomí není srovnatelná s účinkem ostatních celkových anestetik a přibližuje se halucinatorním stavům. Člověk nebo zvíře mají často v anestezii otevřené oči a jsou ve stavu podobnému transu. Svalová relaxace je minimální nebo není vyjádřena vůbec.



Typický obraz disociativní anestézie ketaminem u člověka. Široce otevřené oči s nepřítomným pohledem, polykací pohyby a bezděčné pohyby končetin.

Co je to disociativní stav?

Na rozdíl od ostatních farmak používaných k sedaci a analgezií nepozorujeme u ketaminu kontinuum velikosti dávky a účinku. Disociativní stav po ketaminu má práh přibližně 1-1,5 mg/kg i.v. a 3-4 mg/kg i.m. Když je jednou dosažen disociativní práh přidání ketaminu nezvyšuje nebo neprohlubuje sedaci, jak je tomu v případě sedativ nebo inhalačních anestetik. U všech těchto farmak platí, že se zvyšující se dávkou se prohlubuje sedace a vzniká nebezpečí respirační deprese. Na rozdíl od nich má ketamin klinicky důležitý účinek na integritu dýchacích cest a respiraci v rámci klinicky podávaných dávek za použití standardních metod.

Nejlépe je definován účinek ketaminu takto: transu podobný kataleptický stav charakterizovaný hlubokou analgezií a amnézií se zachováním protektivních reflexů dýchacích cest, spontánní respirace a kardiopulmonální stability. Ketamin se tedy principálně odlišuje od ostatních anestetik i farmak, která slouží k navození sedace analgezie. Má celou řadu unikátních rysů, které ho odlišují od ostatních farmak. (Green Krauss 2000).

Disociativní anestetika ovlivňují četné neurotransmitterové systémy např. serotonergní, dopaminergní i opioinergní. Váží se na N-methyl-D-aspartát (NMDA) - receptor centrálních

neuronů, který obsahuje PCP (phencyclidinové vazebné místo). Z těchto důvodů neexistuje specifický antagonist, jako nespecifický antagonist se používá fyzostigmin. Dýchání je účinkem disociativních anestetik ovlivněno poměrně málo. Při rychlé intravenózní aplikaci však může dojít k výskytu krátkodobé apnoe. Disociativní anestetika působí lehkou stimulaci srdce a krevního oběhu. Dochází ke zvýšení krevního tlaku a srdeční frekvence. Jak dokázali Ivankovich a spol. (1974), je tato stimulace centrálního původu - centrální stimulace sympatiku. Toxicita ketaminu je velmi malá a terapeutická šíře velká. Také intramuskulární aplikace ketaminu má velkou biologickou dostupnost - 93 %. Nástup účinku je rychlý.



Za 10 – 15 minut po aplikaci pravotočivého izomeru ketaminu v dávce 3,5 mg/kg i.m. je schopen makak opět zvednout hlavu. Je však patrná výrazná disociativní analgosedace s úplnou ztrátou agresivity.

Při testování samotného ketaminu u králíků jsme pozorovali časté známky excitace a kývavé pohyby hlavou, proto jsme od testování samotného ketaminu u králíka ustoupili. Následující výsledky byly získány v pokusech na primátech.

2.2.3.1. Rozdíly v účincích racemického a pravotočivého izomeru ketaminu u makaka

Při srovnávání účinku jsme aplikovali S+ketamin v dávce 3,5 mg/kg a racemický ketamin v dávce 6 mg/kg, dále S+ketamin v dávce 6,5 mg/kg a srovnávali s racemickým ketaminem v dávce 10 mg/kg. Dále jsme podali S+ketamin v dávce 10 mg/kg, který srovnáváme s racemickým ketaminem v dávce 20 mg/kg

ketamin R 6 mg/kg

ketamin R 10 mg/kg

ketamin R 20 mg/kg
ketamin R 20 mg/kg – hyáza
pravotočivý izomer ketaminu 3,5 mg/kg
pravotočivý izomer ketaminu 6,5 mg/kg
pravotočivý izomer ketaminu 10 mg/kg

Výsledky

Racemický ketamin (6 mg/kg)

Nástup účinku byl za $80,6 \pm 25,1$ s, imobilizační čas byl $198,5 \pm 58,6$ s a ztráta úchopového reflexu $221,5 \pm 73,6$

s. Saturace hemoglobinu kyslíkem se pohybovala od $96 \pm 2,0$ % ve 3.minutě do $99,0 \pm 1,4$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla ze $155,0 \pm 40,4$ na $147,5 \pm 29,1$ tepů/min ve 20. minutě. K probuzení došlo v průměru za $19,3 \pm 2,7$ min.

Pravotočivý izomer ketaminu (3,5 mg/kg)

Nástup účinku byl za $104,0 \pm 57,9$ s, imobilizační čas byl $210,0 \pm 74,8$ s a ztráta úchopového reflexu $239,0 \pm 65,4$

s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila 96 % ve 3.minutě a $97,9 \pm 1,9$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla ze $164,5 \pm 13,4$ na $156,2 \pm 19,4$ tepů/min ve 20. minutě. K probuzení došlo v průměru za $18,9 \pm 2,9$ min.

Racemický ketamin (10 mg/kg)

Nástup účinku byl za $74,5 \pm 9,6$ s, imobilizační čas byl $141,0 \pm 33,9$ s a ztráta úchopového reflexu $156,5 \pm 53,0$

s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $97,4 \pm 1,8$ % ve 3.minutě a $98,5 \pm 1,4$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence se snížila ze $125,5 \pm 31,4$ na $116,8 \pm 16,7$ tepů/min ve 20. minutě. K probuzení došlo v průměru za $35,8 \pm 10,2$ min.

Pravotočivý izomer ketaminu (6,5 mg/kg)

Nástup účinku byl za $54,0 \pm 14,3$ s, imobilizační čas byl $122,5 \pm 40,8$ s a ztráta úchopového reflexu $161,5 \pm 49,8$

s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $97,8 \pm 2,0$ % ve 3.minutě a $97,7 \pm 2,8$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence se snížila ze $203,7 \pm 23,8$ ve 3.minutě na $172,5 \pm 28,8$ tepů/min ve 20. minutě. K probuzení došlo v průměru za $23,7 \pm 10,2$ min.

V 50 % případů došlo k probuzení před uplynutím 20 minut (v 15. a 18.minutě).

Pravotočivý izomer ketaminu (10 mg/kg)

Nástup účinku byl za $43,8 \pm 11,5$ s, imobilizační čas byl $116,8 \pm 38,2$ s a ztráta úchopového reflexu $131,8 \pm 36,5$ s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $94,0 \pm 2,0$ % ve 3.minutě a $96,9 \pm 3,2$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence se snížila ze $184,0 \pm 25,9$ ve 3.minutě na $156,6 \pm 22,6$ tepů/min ve 20. minutě. K probuzení došlo v průměru za $49,0 \pm 15,9$ min.

Racemický ketamin (20 mg/kg)

Nástup účinku byl za $40,0 \pm 13,5$ s, imobilizační čas byl $89,5 \pm 35,6$ s a ztráta úchopového reflexu $96,5 \pm 31,5$ s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $95,3 \pm 2,1$ % ve 3.minutě a stoupla na $94,4 \pm 4,1$ % v 10. minutě a ve 20.minutě byla $93,9 \pm 3,1$ %. Tepová frekvence klesla z výchozích $184,9 \pm 25,9$ ve 3.minutě na $167,1 \pm 24,9$ v 10.minutě a $160,9 \pm 24,1$ tepů/min v 15. minutě a $155,4 \pm 22,5$ tepů/min ve 20.minutě. Systolický krevní tlak byl ve 3.min $123,2 \pm 18,3$ torrů, v 10.min $116,9 \pm 21,3$ torrů a ve 20.minutě $122,6 \pm 23,9$ torrů. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně. K probuzení došlo v průměru za $57,3 \pm 24,8$ min.

Racemický ketamin (20 mg/kg) - hyáza

Nástup účinku byl za $38,0 \pm 14,9$ s, imobilizační čas byl $94,3 \pm 43,9$ s a ztráta úchopového reflexu $140,0 \pm 67,7$ s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $97,4 \pm 2,0$ % ve 3.minutě a $98,8 \pm 1,3$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence postupně klesala ze $192,4 \pm 22,0$ ve 3.minutě, $178,5 \pm 24,5$ v 10.minutě na $171,4 \pm 25,6$ tepů/min ve 20. minutě. Systolický krevní tlak se v podstatě nezměnil. Stejně tak diastolický i střední. K probuzení došlo v průměru za $48,3 \pm 10,5$ min.

Diskuze:

Ketamin a S+ketamin

Samotný ketamin je dosud používán k imobilizaci primátů v širokém rozmezí 4 – 40 mg.kg-1 i.m. v závislosti na velikosti zvířete (Joslin, 2003). Pro primáty hmotnosti 10 – 30 kg se doporučuje ketamin v dávkách 10 – 15 mg.kg-1 i.m. U kosmanů se uvádí ketamin v dávce 20 mg.kg-1 i.m. stejně tak Lumb a Jones (1996) uvádějí k anestézii primátů ketamin v dávkách

8 – 10 mg.kg-1 i.m. Indukční čas je 4 – 8 minut, délka účinku 20 – 40 minut a psychomotorické zotavení trvá 60 – 180 minut. K prodloužení imobilizace je možné podat poloviční dávku i.m. nebo třetinovou i.v.

Výsledky ukazují, že rychlost nástupu účinku u racemického ketaminu a imobilizační čas, stejně tak ztráta úchopového reflexu je v závislosti na dávce. Kardiorespirační parametry jsou v podstatě stejné u všech dávkování racemického ketaminu. Rozdíly v psychomotorickém zotavení mezi oběma skupinami byly delší statisticky významně teprve při podání vyšších dávek S+ketaminu a racemátu.

Výhodou S+ketaminu je nižší dávkování a tedy menší zátěž organismu anestetiky a o něco rychlejší psychomotorické zotavení v důsledku 2x vyšší plazmatické clearance. Imobilizační dávka u racemického ketaminu se pohybuje mezi 4-5 mg/kg, u S+ketaminu okolo 3 mg/kg i.m. při nižších dávkách již okolo 2 mg u R ketaminu a 1,5 mg u S+ketaminu dochází u makaka ke ztrátě agresivního chování. Výsledky jsou srovnatelné se situací u člověka, kde k anestézii je udáván S+ketamin v dávce 2,5 mg/kg i.m. a R ketamin v dávce 4 mg/kg i.m.

2.2.3.2. Vliv kombinace alfa2-agonista ketamin na chování a základní kardiorespirační parametry u makaka

Úvod

Xylazin je dosud nejčastěji užívaný alfa2 agonista v kombinaci s ketaminem k imobilizaci primátů (Olberg 2007). Nástup účinku je rychlý, délka účinku krátká. Xylazin výrazně redukuje dávku ketaminu, zvyšuje analgézii a výrazně prodlužuje délku účinku. Terapeutická šíře je velká.

Xylazin je podáván v kombinaci s ketaminem v různém dávkování. Wiesner v mnichovském Tier parku připravil v polovině 70. let tzv. Hellabrunnskou směs, která obsahuje v 1 ml 125 mg xylazinu a 100 mg ketaminu u primátů podává ketamin v dávce 2 mg/kg spolu s xylazinem v dávce 2,5 mg/kg. Jiní autoři se snažili snížit dávku xylazinu a proto podávají ketamin v dávce 5 mg/kg spolu s xylazinem v dávce 1 mg/kg (Rietschel 1999). Nejmenší účinné dávkování je xylazin v dávce 0,25 mg spolu s ketaminem v dávce 2,5 mg/kg (Naccarato, Hunter 1979).

Výsledky

Ketamin (5 mg/kg) – xylazin (1 mg/kg)

Nástup účinku byl za $65,5 \pm 10,4$ s, imobilizační čas byl $147,5 \pm 37,2$ s. a ztráta úchopového reflexu $178,7 \pm 70,4$ s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $95,4 \pm 2,1$ % ve 3.minutě a $95,6 \pm 2,8$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla ze $137,9 \pm 18,6$ na $100,8 \pm 16,6$ tepů/min ve 20. minutě. K probuzení bez podání specifického antagonisty došlo v průměru za $93,0 \pm 20,4$ min., s podáním specifického antagonisty za $4,6 \pm 1,8$ min.

Ketamin (2,5 mg/kg) – xylazin (0,5 mg/kg) – medetomidin (25 µg/kg) - hyaluronidáza (150 m.j.)

K nástupu účinku došlo v průměru za $43,8 \pm 9,9$ s. Imobilizační čas byl $118,2 \pm 56,1$ s., a ke ztrátě úchopového reflexu došlo za $137,2 \pm 61,2$ s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $94,4 \pm 5,1$ % ve 3.minutě a $96,2 \pm 2,0$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla ze $120,3 \pm 18,1$ na $92,7 \pm 16,0$ tepů/min ve 20. minutě.

K probuzení bez podání specifického antagonisty došlo v průměru za $26,0 \pm 5,3$ min, s podáním specifického antagonisty za $3,1 \pm 0,8$ min.

Diskuze

Od sedmdesátých let minulého století to byl především thiazinový derivát xylazin (Rompun Bayer). Nacaranto a Hunter (1979) studovali vliv různého dávkování obou farmak na rychlost indukce, délku anestézie a rychlost psychomotorického zotavení. Ketamin dávali od 2,5 mg.kg⁻¹ až do 20 mg.kg⁻¹, xylazin od 0,25 mg.kg⁻¹ do 2 mg.kg⁻¹. Čím vyšší byly dávky xylazinu, tím kratší byla indukce. Anestézie však byla delší s prodlouženým psychomotorickým zotavením. Svalová relaxace byla výborná. Při kombinaci ketaminu v dávce 10 mg.kg⁻¹ i.m. dosahovala anestézie délky v průměru 1,5 hodiny, při dávce xylazinu 2 mg.kg⁻¹ i.m. dosahovala anestézie v průměru 130 minut. Při xylazinu v dávce 0,5 mg.kg⁻¹ i.m. 85 minut.

V poslední sérii pokusů jsme prokázali, že lze kombinovat i dva alfa₂ agonisty xylazin a medetomidin, kdy je možno redukovat dávkování obou farmak. Xylazin a medetomidin mají různou chemickou strukturu (derivát thiazinu a derivát imidazolu) a proto je možné, že ovlivňují v rozdílné míře různé populace alfa₂ adrenergických nebo imidazolových receptorů.

2.2.3.3. Vliv kombinace alfa₂ agonista-ketamin na chování a základní kardiorespirační parametry u makaka rhesus (Macaca mulatta)

Úvod

Až do začátku 90. let 20. století byl k anestézii primátů používán nejprve ketamin samotný nebo v kombinaci s xylazinem (Göltenboth 1990). Dnes je stále častěji používán vysoce specifický alfa₂ agonista medetomidin (Jalanka, 1990). Specifika účinku pro alfa₂ receptory je 1:1620, u xylazinu pouze 1:220. Proto je xylazin považován za smíšeného agonistu alfa₂ i alfa₁ adrenergických receptorů.

Cílem výzkumu bylo testovat kombinaci medetomidin-ketamin a její vliv na chování a základní kardiorespirační parametry u opice makak rhesus. Dále jsme sledovali rychlost psychomotorického zotavení bez podání specifického antagonisty atipamezolu a po jeho aplikaci. K urychlení nástupu účinku jsme podali akcelerátor hyaluronidázu. Získané výsledky jsme srovnávali s výsledky získanými s kombinací pravotočivého izomeru ketaminu a dexmedetomidinu.

Medetomidin 50 µg/kg - ketamin 3 mg/kg

Dexmedetomidin 25 µg/kg – ketamin racemát 3 mg/kg

Dexmedetomidin 25 µg/kg - S+ketamin 2 mg/kg

Dexmedetomidin 25 µg/kg - S+ketamin 2 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Medetomidin –s+ketamin

Výsledky:

Medetomidin 50 µg/kg - ketamin 3 mg/kg

Nástup účinku je za $83,1 \pm 34,3$ sekund, imobilizační čas je $170,8 \pm 78,1$ s a ztráta úchopového reflexu $175,8 \pm 77$ s. Saturace hemoglobinu kyslíkem se pohybovala v průběhu imobilizace nad 93 %, tepová frekvence postupně klesala z výchozích $133,8 \pm 17,6$ na $109,4 \pm 14$ tepů/min ve 20. minutě. Opice se probouzely za $47,2 \pm 9,3$ minuty. V průběhu imobilizace došlo k výrazné svalové relaxaci. Nepozorovali jsme výskyt nežádoucích účinků (zvracení, bradykardie).

Dexmedetomidin 25 µg/kg – ketamin racemát 3 mg/kg

Nástup účinku byl za $54,4 \pm 9,4$ s, imobilizační čas byl $134,0 \pm 67,7$ a ztráta úchopového reflexu za $158,6 \pm 61,5$ s. Saturace hemoglobinu kyslíkem byla v průběhu imobilizace mezi 94 -97 %. Tepová frekvence se zvýšila ze $117,4 \pm 12,8$ tep/min ve 3. minutě na $122,4 \pm 16,6$ tep/min v 5. minutě, v dalších minutách klesala až na $107,0 \pm 11,8$ tep/min ve 20. minutě. K probouzení došlo v průměru za $75,7 \pm 10,1$ minut (spontánní zotavení). Rozdíly oproti první skupině jsou statisticky významné.

Dexmedetomidin 25 µg/kg - S+ketamin 2 mg/kg

Nástup účinku byl za $54,4 \pm 10,1$ s, imobilizační čas byl $122,9 \pm 37,6$ a ztráta úchopového reflexu za $132,5 \pm 37,9$ s. Rozdíly oproti první skupině jsou statisticky vysoce významné. Saturace hemoglobinu kyslíkem byla v průběhu imobilizace nad 94 %. tepová frekvence se snížila ze $123,9 \pm 14,7$ tepů za minutu na $107,7 \pm 14,9$ tepů za minutu. K probouzení došlo v průměru za $59,2 \pm 12,9$ minut. Rozdíly oproti první skupině jsou statisticky významné.

Dexmedetomidin 25 µg/kg - S+ketamin 2 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Nástup účinku byl za $58,2 \pm 19,6$ s, imobilizační čas byl $114,6 \pm 36,7$ a ztráta úchopového reflexu za $124,1 \pm 43,6$ s. Saturace hemoglobinu kyslíkem byla v průběhu imobilizace mezi 93 -95 %. Tepová frekvence stoupla z $122,2 \pm 16,6$ tep/min ve 3. minutě na $129,3 \pm 22,6$ tep/min v 5. minutě a dále klesala na $116,9 \pm 19,5$ v 10. minutě a $108,5 \pm 17,4$ tep/min v 15. minutě až na $101,3 \pm 17,8$ ve 20. minutě. K probouzení došlo v průměru za $50,5 \pm 10,2$ minut (spontánní zotavení) a za $4,2 \pm 1,4$ min po aplikaci atipamezolu.

Medetomidin –s+ketamin

Nástup účinku byl za $61,5 \pm 18,2$ s, imobilizační čas byl $145,3 \pm 54,7$ a ztráta úchopového reflexu za $146,5 \pm 53,9$ s. Saturace hemoglobinu kyslíkem klesla z výchozích $98,1 \pm 1,7$ na $96,9 \pm 1,9$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla z výchozích $137,1 \pm 14,6$ tep/min ve 3. minutě na $121,9 \pm 11,4$ tep/min v 10. minutě a $105,0 \pm 17,3$ tep/min ve 20. minutě. Spontánní probuzení nastalo v průměru za $59,5 \pm 19,2$ min.

Diskuse

Velkou předností této kombinace je rychlý nástup účinku a výrazná redukce dávky ketaminu a tím i jeho nežádoucích účinků. V mnohém ohledu působí obě skupiny farmak protichůdně. Ketamin má kardiostimulační účinek a zvyšuje krevní tlak a srdeční frekvenci. Alfa2 agonisté mají naopak centrální sympatolytický účinek, kdy dochází k poklesu srdeční frekvence a

krevního tlaku. Ketamin zvyšuje svalový tonus, alfa2 agonisté ho centrálním mechanismem snižují. Obě farmaka v klinickém dávkování podstatně neovlivňují dýchání. Výsledkem je anestezie s výraznou svalovou relaxací, kardiovaskulární stabilitou a malým ovlivněním dýchání. Alfa2 agonistickou komponentu této kombinace lze po uplynutí určité doby od aplikace antagonistovat specifickým antagonistou atipamezolem.

Výsledky experimentu jasně prokázaly, že anestezie kombinace alfa2 agonista-ketamin je kardiorespiračně vysoce stabilní s rychlým nástupem účinku a velmi dobrou říditelností. Tato říditelnost spočívá v možnosti použití specifických antagonistů benzodazepinů – flumazenil nebo alfa2 agonistů – atipamezol. Díky výraznému synergickému účinku všech tří farmak je možno významně zredukovat dávkování ketaminu, který jediný nemá vzhledem k ovlivnění řady neurotransmiterových systémů antagonistu.

2.2.3.4. Vliv kombinace midazolam-ketamin na chování a základní kardiorespirační parametry u makaka

Ketamin – midazolam

Úvod

Hlavními nežádoucími účinky ketaminu jsou psychomimetické účinky. Proto je kombinován s různými farmaky, které redukují výskyt psychomimetických příznaků. Nejčastěji k této indikaci jsou používány benzodiazepiny. Ve veterinární medicíně jsou to alfa2 agonisté, u kterých bylo dokázáno, že redukují výskyt psychomimetických účinků i u lidí. (Levänen a spol. 1995). Naším hlavním cílem bylo zjistit, jaký vliv má kombinace midazolam – ketamin na chování, imobilizační čas a základní kardiorespirační parametry a srovnat tyto hodnoty s účinkem při kombinaci alfa2 agonista – ketamin. V pilotních pokusech jsme zjistili, že midazolam neredukuje podstatně dávku ketaminu nutnou k imobilizaci. Proto jsme zvolili dávkování ketaminu 5 mg/kg a midazolamu 1 mg/kg. Ve druhé sérii pokusů jsme zdvojnásobili dávku ketaminu, redukovali dávku midazolamu na 50 % a přidali hyaluronidázu. Zajímala nás redukce nástupu účinku a imobilizační čas.

Materiál a metodika

V pokusech na primátech o hmotnosti 2,5 – 3,9 kg obojího pohlaví jsme po vyjmutí z pytle aplikovali u 10 jedinců směs midazolamu v dávce 1 mg/kg spolu s ketaminem v dávce 5 mg/kg a u dalších 10 jedinců midazolam v dávce 0,25 mg/kg spolu s ketaminem v dávce 10 mg/kg a hyaluronidázou v dávce 150 m.j.

Další podrobnosti viz výše.

Výsledky:

U první série jsme pozorovali nástup účinku za $63,9 \pm 14,9$ sekund, imobilizační čas byl $20,38 \pm 61,4$ sekund a ke ztrátě úchopového reflexu došlo za $247,5 \pm 74,6$ sekund.

Midazolam 1 mg/kg – ketamin 5 mg/kg

Nástup účinku byl za $63,9 \pm 14,9$ s, imobilizační čas byl $203,8 \pm 61,4$ s. a ztráta úchopového reflexu $247,5 \pm 74,6$

s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $95,5 \pm 0,7$ % ve 3.minutě a $95,9 \pm 3,3$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla z výchozích $189,5 \pm 26,2$ tep/min ve 3.minutě na $172,6 \pm 12,9$ tepů/min ve 10. minutě až na $153,9 \pm 11,4$ ve 20.minutě. Spontánní probuzení nastalo v průměru za $52,0 \pm 14,3$ min, po podání specifického antagonisty (sarmazenil 1 mg i.m.) došlo v průměru za $4,8 \pm 2,1$ min.

Ve dvou případech jsme podali flumazenil v dávce 0,1 mg. V této dávce nedošlo k urychlení zotavení.

Midazolam 0,25 mg/kg – ketamin 10 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Nástup účinku byl za $36,1 \pm 5,2$ s, imobilizační čas byl $69,5 \pm 15,4$ s. a ztráta úchopového reflexu $172,4 \pm 17,0$

s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $96,0 \pm 2,7$ % ve 3.minutě a $95,1 \pm 1,9$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla z výchozích $138,4 \pm 14,0$ tep/min ve 3.minutě na $123,8 \pm 14,3$ tepů/min ve 10. minutě a $112,0 \pm 12,8$ ve 20.minutě. K probuzení po podání specifického antagonisty došlo v průměru za $2,6 \pm 0,4$ min.

Midazolam 0,25 mg/kg – S+ketamin 5 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Nástup účinku byl za $58,0 \pm 36,1$ s, imobilizační čas byl $142,0 \pm 90,1$ s. a ztráta úchopového reflexu $163,0 \pm 99,9$

s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $96,8 \pm 1,8$ % ve 3.minutě a $98,8 \pm 2,4$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla z výchozích $180,7 \pm 18,8$ tep/min ve 3.minutě na $177,8 \pm 20,8$ tepů/min ve 10. minutě až na $158,3 \pm 19,1$ ve 20.minutě. Spontánní probuzení nastalo v průměru za $24,7 \pm 4,7$ min, po podání specifického antagonisty (sarmazenil 1 mg i.m.) došlo v průměru za $3,6 \pm 2,1$ min.

Diskuze

Výsledky potvrdily, že midazolam neredukuje dávku ketaminu nutnou k dosažení anestézie. Midazolam – ketamin však ve srovnání se samotným ketaminem nevedl ke zkrácení imobilizačního času, došlo pouze k prohloubení hypnotického účinku v průběhu imobilizace. Také v pokusech na myších jsme zjistili, že midazolam nebo ketamin působí snížení agresivního chování, ale jejich kombinace je naopak zvýší. Stejně tak v pokusech ultrazvukové vokalizace u potkanů jsme dospěli k podobným výsledkům. Midazolam i ketamin snížily trvání ultrazvukové vokalizace, ale jejich kombinace vrátila délku jejího trvání na výchozí úroveň. Můžeme se tedy domnívat, že při kombinaci dochází k určitému antagonistickému účinku obou farmak.

Nedá se tedy říci, že kombinace midazolam – ketamin je z farmakologického hlediska vysoce výhodná. Rovněž oxid dusný, který má výrazné NMDA antagonistické účinky má se sedativy aditivní až infraaditivní účinek. Teprve podání alfa2 agonistů v nízkých dávkách zaručí stabilní vliv této trojkombinace na chování a základní kardiopulsační parametry.

2.2.3.5. Vliv trojkombinace midazolam-medetomidin-ketamin na chování a základní kardiopulsační parametry

Úvod

Kombinace alfa2 agonista – ketamin je často používána ve veterinární medicíně u nejrůznějších druhů zvířat. Jak bylo uvedeno v předchozí kapitole, účinky kombinace alfa2 agonista – ketamin jsou často protichůdné. Výsledkem je anestézie s výbornou kardiopulsační stabilitou. Midazolam je často kombinován s ketaminem k potlačení jeho psychostimulačních a sympatomimetických účinků.

V našem experimentu nás zajímalo, jak kombinace midazolamu s medetomidinem ovlivní dávkování ketaminu a jak ovlivní chování a základní kardiopulsační parametry. Při použití pravotočivých izomerů ketaminu a dexmedetomidinu jsme upravili dávkování farmak, aby jejich účinky byly ekvipotentní.

Výsledky – primáti:

Medetomidin 50 µg/kg – midazolam 0,25 mg/kg – ketamin 1 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Nástup účinku za 52,4 ± 17,6 sec, imobilizační čas byl 121,5 ± 52,8 sec a ztráta úchopového reflexu 121,5 ± 52,8

s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila 95,0 ± 4,7 % ve 3.minutě, v 10.minutě 96,0 ± 2,7 % a 95,3 ± 3,9 % ve 20. minutě. Tepová frekvence stoupla z výchozích 121,1 ± 13,4 tep/min ve 3.minutě na 126,5 ± 15,6 v 5.minutě a dále klesala 118,8 ± 16,6 tep/min v 10.minutě a 113,1 ± 15,1 tep/min ve 20. minutě. Spontánní probuzení nastalo za 90,7 ± 12,7, po aplikaci atipamezolu za 7,1 ± 2,3 min.

Medetomidin 50 µg/kg – midazolam 0,5 mg/kg – ketamin 1 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Nástup účinku za 49,0 ± 14,2 sec, imobilizační čas byl 126,5 ± 46,0 sec, a ztráta úchopového reflexu 128,5 ± 45,6

s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila 93,4 ± 4,3 % ve 3.minutě, v 10.minutě 95,7 ± 3,4 % a 95,5 ± 3,4 % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla z výchozích 128,6 ± 17,6 tep/min ve 3.minutě na 112,5 ± 14,5 v 10.minutě a dále klesala na 101,8 ± 12,0 tep/min ve 20. minutě. Systolický krevní tlak klesl ze 129,4 ± 5,2 torrů ve 3. minutě na 119,3 ± 7,7 torrů ve 10.minutě až na 116,8 ± 5,4 ve 20.minutě. Diastolický krevní a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Spontánní probuzení za 78,0 ± 14,1 min, po aplikaci atipamezolu za 2,7 ± 3,1 min.

Medetomidin 5 µg/kg – midazolam 0,25 mg/kg – S+ketamin 2 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Nástup účinku za $66,0 \pm 20,0$ sec, imobilizační čas byl $211,0 \pm 165,1$ sec, a ztráta úchopového reflexu $238,0 \pm 158,1$

s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $96,7 \pm 1,5$ % ve 3.minutě, v 10.minutě $98,1 \pm 2,0$ % a $97,6 \pm 2,3$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla z výchozích $146,7 \pm 11,3$ tep/min ve 3.minutě na $141,5 \pm 17,0$ v 10.minutě a dále klesala na $125,2 \pm 16,9$ tep/min ve 20. minutě. Systolický krevní tlak klesl ze $111,5 \pm 7,3$ torrů na ve 3. minutě na $102,7 \pm 13,5$ torrů ve 10.minutě až na $93,8 \pm 9,1$ ve 20.minutě. Diastolický krevní a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Spontánní probuzení za $51,0 \pm 11,8$ min, po aplikaci atipamezolu za $4,7 \pm 0,6$ min.

Medetomidin 5 µg/kg – midazolam 0,1 mg/kg – ketamin 3 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Nástup účinku za $68,0 \pm 25,1$ sec, imobilizační čas $235,5 \pm 164,2$ sec, vynikající respirační stabilita, tepová frekvence poklesl z $153,0 \pm 18,0$ tep/min ve 3.minutě na $117,9 \pm 13,8$ tep/min ve 20.minutě. Spontánní probuzení ve 3 případech po 20-25 minutách, po aplikaci atipamezolu v průměru za $5,7 \pm 2,5$ min.

Medetomidin 50 µg/kg – midazolam 0,25 mg/kg – ketamin 10 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Nástup účinku za $41,6 \pm 10,7$ sec, imobilizační čas $74,6 \pm 12,0$ sec, výborná respirační stabilita, tepová frekvence poklesl z $131,8 \pm 16,2$ tep/min ve 3.minutě na $112,3 \pm 10,4$ tep/min ve 20.minutě. Psychomotorické zotavení po atipamezolu 1-2 mg za $3,3 \pm 1,8$ min.

Medetomidin 50 µg/kg – midazolam 1 mg/kg – ketamin 5 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Nástup účinku za $52,5 \pm 22,8$ sec, imobilizační čas $82,0 \pm 21,5$ sec, vynikající respirační stabilita, pokles tepové frekvence $110,8 \pm 13,7$ tep/min ve 3.minutě na $94,3 \pm 16,4$ tep/min ve 20.minutě. Zotavení po aplikaci atipamezolu za $5,1 \pm 0,6$ min.

Medetomidin 50 µg/kg – midazolam 0,5 mg/kg – ketamin 0,5 mg/kg

Nástup účinku za $76,8 \pm 21,9$ sec, imobilizační čas byl $212,0 \pm 83,6$ sec, a ztráta úchopového reflexu $214,5 \pm 81,4$

s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $95,6 \pm 4,2$ % ve 3.minutě a pak klesla do 5.minuty na $92,8 \pm 4,2$ %, v 10.minutě byla $95,3 \pm 3,3$ % a $96,0 \pm 3,1$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla z výchozích $117,2 \pm 24,5$ tep/min ve 3.minutě na $107,9 \pm 17,8$ v 10.minutě a dále klesala až na $101,4 \pm 12,4$ tep/min ve 20. minutě. Systolický krevní tlak klesl ze $125,0 \pm 17,9$ torrů na ve 3. minutě na $112,3 \pm 8,0$ torrů v 10.minutě na $110,1 \pm 9,6$ ve 20.minutě. Diastolický krevní a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Spontánní probuzení za $78,5 \pm 14,5$ min, po aplikaci atipamezolu spolu s flumazenilem za $3,9 \pm 1,9$ min.

Diskuze

Výsledky ukázaly výrazný synergický účinek všech aplikovaných farmak, je známo, že benzodiazepiny mají s alfa2 agonisty výraný synergický účinek (Salonen a spol. 1992).

V našem pokusu jsme dosáhli výrazné redukce dávky ketaminu až na 1 mg/kg i.m. a u pravotočivého izomeru dokonce na 0,5 mg/kg i.m. to je skutečně velmi nízké dávkování s minimálními nežádoucími účinky. Tato trojkombinace byla s úspěchem použita u kočky (Ebner a spol. 2007) nebo u fretky (Schernthaner a spol. 2008). Henke a spol. 2007 použili tuto trojkombinaci s úspěchem k anestézii malého hmyzožravce tanreka (*Echinops telfairi*). Curio a spol. 2004 srovnával kombinaci xylazin – midazolam – ketamin a medetomidin – midazolam – ketamin u sibiřských tygrů. My jsme opakovaně použili trojkombinaci midazolam – medetomidin – ketamin při imobilizaci lidoopů v pražské a liberecké zoo. Midazolam jsme však aplikovali per os v ovocné šťávě jako premedikaci a kombinaci medetomidin – ketamin jsme pak aplikovali za 20 – 30 minut foukačkou.

2.2.3.6. Vliv velmi nízkých dávek kombinace midazolam – medetomidin – ketamin na chování a základní kardiorespirační parametry u králíka

Úvod

Kombinace midazolam – medetomidin – ketamin se nám osvědčila při imobilizaci jak králíka, tak i primátů druhu makak rhesus. Trojkombinace zredukovala výrazně dávkování všech tří farmak a tím i výskyt nežádoucích účinků. Dávka ketaminu, který není specifickým antagonistou tak může být snížena na minimum a proto tato kombinace představuje skoro úplně antagonistovatelnou imobilizaci.

V pokusech na králících jsme se pokusili zodpovědět otázku, jaké nejnižší dávky všech tří farmak vedou ke ztrátě reflexu polohy a k imobilizaci, jaký je imobilizační čas a ovlivnění základních kardiorespiračních parametrů. Dále jsme chtěli zjistit, zda přidání hyaluronidázy neovlivní příznivě čas imobilizace.

Výsledky:

Medetomidin 5 µg/kg - midazolam 0,25 mg/kg – S+ketamin 1,5 mg/kg

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo za $224,5 \pm 108,0$ sekund.

Srdeční frekvence: Z výchozích $260,7 \pm 26,7$ tepů/min klesla na $246,3 \pm 24,7$ tepů/min v 5. minutě a $226,4 \pm 21,1$ tepů/min. Dále již pokles prakticky nepokračoval a ve 20. minutě byla srdeční frekvence $223,8 \pm 31,0$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Se pohybovala v průběhu celé imobilizace mezi 96 – 97 %.

Systolický krevní tlak: Se mírně snížil, což bylo klinicky nevýznamné. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly stejně.

Medetomidin 5 µg/kg - midazolam 0,25 mg/kg – S+ketamin 1,5 mg/kg – hyaluronidáza 150 m.j.

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo za $165,0 \pm 57,0$ sekund.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $244,5 \pm 29,6$ tepů/min na $208,5 \pm 37,4$ tepů/min v 5.minutě a $189,0 \pm 28,6$ tepů/min v 10.minutě. Pokles dále pokračoval až na $176,1 \pm 36,5$ tepů/min ve 20.minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Se v průběhu imobilizace pohybovala mezi 97 – 98 %.

Systolický krevní tlak: Se mírně snížil, což bylo klinicky nevýznamné. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly stejně.

Medetomidin 5 µg/kg - midazolam 0,08 mg/kg – S+ketamin 0,5 mg/kg

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo za $213,0 \pm 126,3$ sekund.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $277,5 \pm 23,9$ tepů/min na $244,9 \pm 29,4$ tepů/min v 5.minutě a $221,0 \pm 26,9$ tepů/min v 10.minutě a dále již prakticky neklesala a byla ve 20.minutě $216,4 \pm 17,1$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Se v průběhu imobilizace pohybovala mezi 96 – 98 %.

Systolický krevní tlak: V průběhu imobilizace prakticky nezměnil, stejně tak i diastolický a střední arteriální tlak.

Diskuze

Výsledky ukázaly, že kombinace midazolam – medetomidin – ketamin má rychlý nástup účinku se stabilními kardiopulsačními parametry. Imobilizační čas je závislý jednak na velikosti dávkování a jednak na přidavku hyaluronidázy. Je zajímavé, že přidání tohoto akceleratoru vedlo k výraznějšímu poklesu srdeční frekvence než bez něho. Pokusy prokázaly, že tato kombinace v dávkování vhodném pro člověka již vede ke ztrátě reflexu polohy u králíka a že výsledky zjištěné u něho jsou aspoň z části aplikovatelné na člověka.

2.2.3.7. Nejnižší dávky anestetik nutné k imobilizaci makaka rhesus

Úvod

Navzdory rychlému vývoji na poli molekulární biologie a počítačové technologie a vývoji alternativních testů např. na tkáňových kulturách mohou být data o farmakologickém účinku farmak na centrální nervový systém získána pouze v pokusech na živém zvířeti. Injikovaná

farmaka ovlivňují všechny biologické systémy a napodobují klinickou situaci. To činí farmakologii in vivo neoddiskutovatelnou. Studie na intaktním zvířeti jsou požadovány k určení, zda účinky zjištěné in vitro je možno přenést do situace in vivo. Molekulární biologie a farmakologie in vitro jsou proto doplňkovými metodami při testování farmak. Jedním ze základních problémů při testování je přenos dat získaných na zvířatech na člověka. Ve většině případů jsou určité rozdíly mezi výsledky získanými v pokusech na zvířeti a člověku. Různé živočišné druhy se liší v distribuci a afinitě receptorů a v metabolismu a farmakokinetice podaných farmak. Je otázkou nakolik data získaná z testování farmak používaných v anesteziologii lze přenést na člověka (Booij a spol. 2009). Za tímto účelem jsme se rozhodli použít trojkombinaci farmak v dávkách, které bychom použili u člověka a sledovali nástup účinku, imobilizační čas a základní ovlivnění kardiorepiračních funkcí.

Materiál a metodika

Výsledky:

Medetomidin 5 µg/kg – midazolam 0,1 mg/kg – ketamin 3 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Nástup účinku byl za $68,0 \pm 25,1$ sec, imobilizační čas $235,5 \pm 164,2$ sec, ztráta úchopového reflexu $237,5 \pm 162,3$ sec. Saturace hemoglobinu kyslíkem stoupla z výchozích $95,5 \pm 3,7$ % ve 3.minutě na $97,0 \pm 2,2$ % v 10.minutě, aby se v dalším průběhu držela přibližně na stejných hodnotách, takže byla ve 20.minutě $96,6 \pm 2,7$ %. Tepová frekvence klesla z $153,0 \pm 18,0$ tep/min ve 3.minutě na $141,2 \pm 19,2$ tep/min v 5.minutě a $124,5 \pm 13,5$ tepů/min v 15.minutě a $117,9 \pm 13,8$ tep/min ve 20.minutě. Systolický krevní tlak klesl z výchozích $115,0 \pm 18,7$ torrů na $105,8 \pm 21,1$ torrů v 10.minutě a na $100,8 \pm 13,8$ torrů ve 20.minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně. Spontánní probuzení bylo v průměru za $22,0 \pm 2,8$ min, po aplikaci atipamezolu v průměru za $5,7 \pm 2,5$ min.

2.2.3.8. Vliv atipamezolu na rychlost psychomotorického zotavení a ovlivnění kardiovaskulárních parametrů

Úvod

K antagonizování účinku alfa₂ agonistů zejména xylazinu byli nejdříve používáni nespecifičtí antagonisté yohimbin a tolazolin. Jejich účinek kolísal v závislosti na druhu zvířete. Většinou byl vysoký výskyt nežádoucích účinků. Hingerle 2004 testovala u paviána pláštíkového (*Papio hamadryas*) při antagonizování Hellabrunnské směsi nespecifického antagonistu yohimbin. Jeho účinky srovnávala se specifickým antagonistou alfa₂ agonistů atipamezolem a oběhovým stimulans etilefrinem. Zotavení po aplikaci atipamezolu bylo nejrychlejší a mělo nejmenší výskyt nežádoucích účinků. Ve všech případech kdy používáme při anestézii alfa₂ agonisty podáváme specifického antagonistu atipamezol – výhradně intramuskulárně. Při intravenózní aplikaci totiž často dochází ke vzniku tachykardia hypotenze. U vybraných typů

anestézie s alfa₂ agonistickou komponentou nás proto zajímalo, jaké změny chování a ovlivnění základních kardiorepiračních parametrů přinese aplikace atipamezolu v 5násobné dávce než byla aplikace alfa₂ agonisty.

Materiál a metodika

Účinek atipamezolu jsme sledovali u těchto kombinací:

Medetomidin 50 mg/kg – ketamin 3 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Dexmedetomidin 25 mg/kg – ketamin 2 mg/kg

Dexmedetomidin 25 mg/kg – S+ketamin 2 mg/kg

Medetomidin 520 mg/kg – midazolam 0,25 mg/kg – ketamin 3 mg/kg – hyáza 150 m.j.

Atipamezol jsme vždy aplikovali v 5násobné dávce než alfa₂ agonistu do m.deltoideus a v minutových intervalech sledovali změny v chování a ovlivnění kardiorepiračních parametrů.

Průběh pokusu viz výše.

Výsledky

Průměrná tepová frekvence před aplikací atipamezolu u kombinace **medetomidin 50 mg/kg – ketamin 3 mg/kg – hyáza 150 m.j.** byla $101,6 \pm 12,2$ tepů/min. V první minutě stoupla frekvence na $135,2 \pm 18,6$ tepů/min, ve 2.minutě byla $135,3 \pm 17,5$ tepů/min, ve 3.minutě $142,6 \pm 18,5$ tepů/min, ve 4.minutě $157,5 \pm 19,5$ tepů/min a v 5.minutě $140,5 \pm 19,6$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem stoupla z výchozích $90,6 \pm 2,8$ % před aplikací atipamezolu na $92,3 \pm 3,6$ % v 1.minutě, dále ve 2.minutě $93,8 \pm 2,6$ %, ve 3.minutě $93,5 \pm 2,8$ %, ve 4.minutě $95,6 \pm 2,6$ % a $94,8 \pm 2,7$ % v 5.minutě.

K probuzení došlo v průměru za xy

Průměrná tepová frekvence před aplikací atipamezolu u kombinace **dexmedetomidin 25 mg/kg – ketamin 2 mg/kg** byla $100,5 \pm 10,8$ tepů/min. V první minutě stoupla frekvence na

121,5 ± 16,2 tepů/min, ve 2.minutě byla 132,3 ± 17,8 tepů/min, ve 3.minutě 139,3 ± 19,2 tepů/min, ve 4.minutě 142,8 ± 19,1 tepů/min a v 5.minutě 146,5 ± 19,6 tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem stoupla z výchozích 94,2 ± 3,1 % před aplikací atipamezolu na 96,5 ± 3,1 % v 1.minutě, dále ve 2.minutě 96,2 ± 2,6 %, ve 3.minutě 97,7 ± 2,8 %, ve 4.minutě 97,7 ± 2,3 % a 97,3 ± 2,7 % v 5.minutě.

K probuzení došlo v průměru za xy

Průměrná tepová frekvence před aplikací atipamezolu u kombinace **dexmedetomidin 25 mg/kg – S+ketamin 2 mg/kg** byla 99,3 ± 13,8 tepů/min. V první minutě stoupla frekvence na 119,5 ± 18,2 tepů/min, ve 2.minutě byla 129,0 ± 18,1 tepů/min, ve 3.minutě 134,6 ± 19,2 tepů/min, ve 4.minutě 139,3 ± 15,6 tepů/min a v 5.minutě 152,2 ± 19,7 tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem klesla z výchozích 95,2 ± 4,2 % před aplikací atipamezolu na 91,5 ± 3,6 % v 1.minutě a dále stoupala a byla ve 2.minutě 92,3 ± 2,6 %, ve 3.minutě 93,7 ± 2,8 %, ve 4.minutě 96,3 ± 2,7 % a 96,6 ± 2,7 % v 5.minutě.

K probuzení došlo v průměru za xy

Průměrná tepová frekvence před aplikací atipamezolu u kombinace **medetomidin 520 mg/kg – midazolam 0,25 mg/kg – ketamin 3 mg/kg – hyáza 150 m.j.** byla 106,7 ± 14,2 tepů/min. V první minutě stoupla frekvence na 127,5 ± 18,8 tepů/min, ve 2.minutě byla 142,5 ± 17,6 tepů/min, ve 3.minutě 148,2 ± 18,1 tepů/min, ve 4.minutě 153,2 ± 19,5 tepů/min a v 5.minutě klesla na 140,3 ± 22,8 tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem stoupla z výchozích 93,25 ± 4,6 % před aplikací atipamezolu na 94,5 ± 3,2 % v 1.minutě, dále ve 2.minutě 94,5 ± 2,3 %, ve 3.minutě 95,2 ± 2,8 %, ve 4.minutě 94,8 ± 2,6 % a 95,3 ± 2,8 % v 5.minutě.

K probuzení došlo v průměru za xy

V průměru u všech sledovaných kombinací byla tepová frekvence před aplikací atipamezolu tj. ve 20.minutě 102,3 ± 12,7 tepů/min. V první minutě stoupla tepová frekvence na 125,4 ± 18,8 tepů/min, ve 2.minutě byla 135,1 ± 17,6 tepů/min, ve 3.minutě 141,4 ± 18,1 tepů/min, ve 4.minutě 147,5 ± 19,5 tepů/min a v 5.minutě 140,5 ± 19,7 tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem stoupla z výchozích 93,4 ± 4,6 % před aplikací atipamezolu na 93,8 ± 3,7 % v 1.minutě, dále ve 2.minutě 94,2 ± 2,6 %, ve 3.minutě 95,1 ± 2,8 %, ve 4.minutě 95,6 ± 2,6 %, v 5.minutě 95,6 ± 2,8 % a 95,8 ± 1,9 % v 6.minutě (hodnocen průměr ze 6 údajů) a 97,4 ± 2,9 % v 7.minutě (hodnocen průměr ze 5 údajů).

K probuzení došlo v průměru za xy

2.2.3.8.9. Synergický účinek čtyř kombinace a její vliv na chování a základní kardiopirační parametry

Řada farmak má mezi sebou synergický účinek, který můžeme vhodně využít k redukci možných nežádoucích účinků vyššího dávkování farmak. Benzodiazepiny a alfa2 agonisté se vzájemně výrazně potencují a redukuje výrazně dávku ketaminu. V pokuse jsme proto použili čtyřkombinaci S+ketamin-dexmedetomidin-midazolam a přidali opioid remifentanil. Zajímá nás opět vliv na chování a základní kardiopirační parametry.

S+ ketamin 0,5 mg/kg – dexmedetomidin 10ug/kg – midazolam 0,05 mg/kg – remifentanil 1 ug/kg

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo v 9 případech z 10 za $262,2 \pm 91,2$ sekund.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $227,8 \pm 31,0$ tepů/min na $220,0 \pm 42,8$ tepů/min v 5.minutě a dále klesla takže v 10 minutě byla $207,3 \pm 35,7$ tepů/min, a dále pozvolna klesala naa byla v 15 minutě $196,4 \pm 31,3$ tepů/min. a ve 20.minutě $190,4 \pm 23,0$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $98,7 \pm 0,8\%$ na $98,1 \pm 0,8\%$ v 5 minutě a v dalším průběhu se držela mezi 97 – 98 %, takže byla ve 20 minutě $98,4 \pm 0,7\%$.

Systolický krevní tlak: Z výchozích $112,5 \pm 10,1$ torrů nejprve stoupl na $118,4 \pm 13,6$ torrů ve 3 minutě, aby v dalším průběhu mírně klesl, takže e byl v 10 minutě $116,8 \pm 14,2$ torrů, v 15 minutě $111,2 \pm 15,4$ torrů a ve 20 minutě $111,9 \pm 10,7$ torrů. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Diskuze

Ke ztrátě reflexu polohy došlo za $4,5 \pm 1,5$ min. Srdeční frekvence se výrazně snížila (vliv dexmedetomidinu). Systolický krevní tlak nejprve mírně stoupl a pak klesl k výchozím hodnotám. Saturace hemoglobinu kyslíkem byla v průběhu pokusu stabilní. Kombinace čtyř farmak v tak nízkých dávkách, které sami nevedou ke ztrátě reflexu polohy, tak vedla k imobilizaci s vynikajícími kardiopiračními parametry.

2.2.4. Opiody

Opioidní analgetika působí v CNS modifikaci vnímání bolestivých podnětů, vzestup prahu pro bolest a změny v reakci na bolest. Kromě toho mají v závislosti na dávce a druhu opioidu různě vyjádřeny centrálně sedativně hypnotické účinky.

Na začátku 70. let se pomocí radioaktivně značených derivátů morfinu prokázala přítomnost specifických opiátových receptorů.

Opioidy se váží v CNS na specifické opiátové receptory. Různé účinky opioidů jsou zprostředkovány různými populacemi opiátových receptorů. Vazbou na μ opiátové receptory jsou zprostředkovány analgezie, dechová deprese, bradykardie, mióza, obstipace, i vznik návyku. Vazbou na kappa opiátové receptory dochází ke vzniku sedace, analgezie bez dechové deprese. Tímto mechanismem působí analgezie agonisté – antagonisté např. pentazocin, nalbufin, butorfanol nebo z části také tramadol. Také sedace navozená nalbufinem je vyvolána interakcí z kappa opiátovými receptory.

Hlavními projevy účinku opioidů na mozkovou kůru jsou analgezie a změny nálady (zklidnění, vzácně excitace), euforie, někdy dysforie. Již nízké dávky opioidů vyvolávají zklidnění, které po vyšším dávkování přechází v útlum a ospalost.

Při použití ultrapotentních derivátů fentanylu – sufentanilu a carfentanilu dochází u zvířat k úplné ztrátě agresivity již při relativně nízkých dávkách. To jsme opakovaně pozorovali zejména u primátů především u agresivních malp a opic makak rhesus.

Carfentanil je v současnosti nejsilnější známý opioid. Je asi 10.000 krát silnější než morfin až 20 – 32 krát silnější než fentanyl. Jeho terapeutická šíře je 10.000. Je používán především při imobilizaci velkých zvířat v afrických rezervacích i ZOO. (Wiesner, von Hegel 1985).

Výrazným znakem imobilizace carfentanilem byla dechová deprese a svalová rigidita. Proto je kombinován s neuroleptiky.

Opice, které byly vystaveny nebulizovanému carfentanilu měly již za 30 s. výraznou dechovou depresi a vyžadovaly částečnou podporu ventilace. Psi za stejných podmínek se stali ataktickými již po 2 minutách a ulehli do polohy na boku po 4 minutách od zahájení vdechování carfentanilu. Respirační deprese nebyla u nich klinicky významná.

V klinickém testování na dobrovolnících je další derivát fentanylu sufentanil (Sufenta – Janssen). Je 7 – 10 analgeticky silnější než fentanyl a má velmi vysokou afinitu k μ opiátovým receptorům (Hess 1995). Farmakokinetický profil je příznivější než u fentanylu. V klinické studii u dobrovolníků vedl v dávce 3 μ g x kg-1 i.m. k výrazné dechové depresi, která vyžadovala aplikaci specifického antagonisty. Přehled dosažených výsledků s imobilizace sufentanilem je předmětem části této práce.

Remifentanil (Ultiva GlaxoWellcome) je nejnovější derivát fentanylu. Má ve své molekule esterickou vazbu, která ho předurčuje k unikátním farmakokinetickým vlastnostem. Je totiž štěpen plasmatickými a tkáňovými esterázami. Jeho biologický poločas je pouhých 8 – 20 minut. Context sensitive half time tj. čas za který klesne plasmatická hladina daného farmaka na 50% po 3 hodinové infuzi, je pouhé 3 – 4 minuty.

2.2.4.1. Remifentanil 1 μ g/kg u králíka

Vliv na CNS: K ztrátě reflexu polohy došlo v průměru za $948,0 \pm 214,3$ sec.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $247,0 \pm 20,1$ tepů/min na $245,2 \pm 15,6$ tepů/min v 1. minutě, aby stoupla na $262,1 \pm 17,9$ tepů/min ve 2 minutě a dále pak klesala, takže v 5

minutě $249,9 \pm 22,6$, v 10 minutě $244,2 \pm 25,2$ a dále se držela přibližně na stejné úrovni, takže v 15 minutě byla $251,8 \pm 29,1$ tepů/min a $251,5 \pm 29,2$ tepů/min ve 20 minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Se z výchozích $98,7 \pm 0,8$ % držela v průběhu celého experimentu nad 98% a od 10 minuty nad 99%.

Systolický krevní tlak: Stoupl z výchozích $123,9 \pm 18,9$ torrů na $127,9 \pm 13,7$ torrů ve 3. Minutě, aby dále mírně klesl, takže byl ve 5 minutě $117,0 \pm 18,5$ torrů, v 15 minutě $117,6 \pm 12,9$ torrů a ve 20 minutě $123,7 \pm 17,6$ torrů.

Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.4.2. Remifentanil 1ug/kg - hyaluronidáza u králíka

Vliv na CNS: K ztrátě reflexu polohy došlo v průměru za $143,0 \pm 61,5$ sec. Konec ztráty reflexu polohy byl v průměru za 15 min. Nejnižší hodnota byla 7 minut a ve 3 případech trvala ztráta reflexu polohy více jak 20 min.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $247,5 \pm 18,0$ tepů/min na $240,3 \pm 25,7$ tepů/min v 5. minutě a dále klesala, takže byla v 10. min $238,6 \pm 28,4$ tepů/min. od 10. min se držela na prakticky stejných hodnotách, takže v 15 minutě byla $240,2 \pm 18,7$ tepů/min a ve 20. minutě $240,7 \pm 22,7$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $99,0 \pm 0,6$ % na $97,3 \pm 1,3$ % v 5 minutě a dále mírně stoupala, takže v 10 minutě byla $98,5 \pm 0,8$ %, v 15 minutě byla $98,3 \pm 0,9$ % a ve 20 minutě $98,5 \pm 0,9$ %.

Systolický krevní tlak: Klesl z výchozích $111,5 \pm 16,1$ torrů na $105,7 \pm 10,0$ torrů v 5. minutě, aby dále mírně stoupl, takže byl v 10 minutě $108,6 \pm 13,4$ torrů, v 15 minutě $115,2 \pm 12,8$ torrů a ve 20 minutě $115,2 \pm 9,8$ torrů.

Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.4.3. Remifentanil 3ug/kg u králíka

Vliv na CNS: K ztrátě reflexu polohy došlo v průměru za $143,0 \pm 84,7$ sec. Konec ztráty reflexu polohy byl v průměru za $14,8 \pm 14,1$ min. Nejnižší hodnota byla 5 minut, ve 4 případech byla rovných 20 minut.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $271,6 \pm 34,0$ tepů/min na $244,8 \pm 39,0$ tepů/min v 5. minutě a dále se držela na těchto hodnotách do 10 minuty, kdy byla $244,8 \pm 37,8$ tepů/min. Pak mírně opět stoupala, takže v 15 minutě byla $262,3 \pm 29,8$ a ve 20 minutě $271,8 \pm 36,0$.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $99,0 \pm 0,9 \%$ na $97,0 \pm 2,1\%$ v 5 minutě. V dalších minutách se držela přibližně na této úrovni, takže v 10 minutě byla $97,3 \pm 2,2\%$, dále stoupala a byla v 15 minutě $98,4 \pm 1,4 \%$ a ve 20 minutě $98,5 \pm 1,0\%$.

Systolický krevní tlak: Stoupl z výchozích $119,5 \pm 8,3$ torrů na $128,0 \pm 10,7$ torrů ve 3. minutě, aby dále mírně klesl, takže byl ve 5 minutě $120,2 \pm 7,7$ torrů, v 15 minutě $115,2 \pm 10,2$ torrů a ve 20 minutě $115,2 \pm 10,2$ torrů a ve 20 minutě $120,9 \pm 12,1$ torrů.

Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.4.4. Remifentanil 3ug/kg – hyaluronidáza u králíka

Vliv na CNS: K ztrátě reflexu polohy došlo v průměru za $94,0 \pm 21,7$ sec. Konec ztráty reflexu polohy byl v průměru za $15,3 \pm 3,2$ min. Nejnižší hodnota byla 12 minut, nejvyšší 23 minut.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $242,6 \pm 16,7$ tepů/min na $223,7 \pm 11,1$ tepů/min v 5. minutě a dále klesala, takže byla v 10. min $218,6 \pm 7,1$ tepů/min. od 10. min opět stoupala, takže v 15 minutě byla $221,3 \pm 11,4$ tepů/min a ve 20. minutě $237,2 \pm 21,3$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $99,2 \pm 0,7 \%$ na $97,7 \pm 1,8 \%$ v 5 minutě. V dalších minutách se držela přibližně na této úrovni, takže v 10 minutě byla $97,9 \pm 1,4 \%$, v 15 minutě byla $98,0 \pm 1,3 \%$ a ve 20 minutě $97,9 \pm 0,5 \%$.

Systolický krevní tlak: Klesl z výchozích $106,6 \pm 14,0$ torrů na $104,5 \pm 10,7$ torrů v 5. minutě, aby dále mírně stoupl, takže byl v 15 minutě $109,5 \pm 14,6$ torrů a ve 20 minutě $117,5 \pm 15,8$ torrů.

Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Sufentanil je nejsilnější analgetikum používané v humánní anesteziologii ve většině případů intravenózně. V našich pokusech jsme podali sufentanil v dávce 3 ug/kg. Ke ztrátě reflexu polohy došlo ve všech případech za $5 \text{ min} \pm 4 \text{ min}$. Ztráta reflexu polohy trvala více než 20 minut, pouze ve 2 případech do 17. minuty. Srdeční frekvence byla do 10. minuty prakticky nezměněna, teprve později výrazně klesala, takže byla ve 20. minutě o 80 tepů nižší než výchozí hodnoty. Také saturace hemoglobinu kyslíkem zpočátku pouze mírně klesla a od 10. minuty byl pokles zřetelnější, takže ve 20. minutě byl u průměrné hodnoty 93 %. Systolický krevní tlak mírně klesl.

Nástup účinku byl tedy poměrně rychlý s výraznějším poklesem srdeční frekvence a saturace hemoglobinu kyslíkem, ale bez klinického významu. Nicméně i zde jsme pozorovali v reakci na oběh a dýchání značné interindividuální rozdíly a proto musíme být i při nazální aplikaci sufentanilu opatrní.

2.2.4.5. Sufentanil 1 µg/kg u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo v 6 případech z 10 po $930,0 \pm 312,3$ sekundách.

Srdeční frekvence: Se snižovala z výchozích $259,5 \pm 37,0$ tepů/min na $239,0 \pm 38,3$ tepů/min (v 5. minutě), $185,7 \pm 54,4$ tepů/min (v 10. minutě), dále pak stoupala na $191,8 \pm 35,4$ tepů/min ve 20. minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $98,6 \pm 0,8$ % na $97,8 \pm 1,4$ % ve 20. minutě.

Systolický krevní tlak: Klesl z výchozích $109,7 \pm 11,8$ torrů na $106,5 \pm 9,6$ torrů v 5. minutě, dále pak stoupl na $108,5 \pm 13,1$ torrů ve 20. minutě. Diastolický tlak stoupl z výchozích $66,9 \pm 8,9$ torrů na $69,3 \pm 7,4$ torrů (5. minuta), až na $70,7 \pm 10,0$ torrů (10. minuta), ve 20. minutě klesl na $66,2 \pm 15,7$ torrů. Střední arteriální tlak stoupl z výchozích $82,5 \pm 7,3$ torrů na $83,2 \pm 7,5$ torrů (5. minuta) až na $86,2 \pm 8,8$ (10. minuta) ve 20. minutě klesl na $80,2 \pm 13,7$ torrů.

V předchozích pokusech jsme zjistili, že sufentanil již v dávce 3 µg/kg vede v mnohých případech k výrazné dechové depresi a bradykardii. Proto jsme se rozhodli zkusit nejprve aplikovat specifického antagonistu naloxon a po nástupu jeho účinku podat sufentanil v pětinasobné dávce než jsme dosud použili. Zajímalo nás, zda předchozí podání naloxonu ovlivní imobilizační čas a jak ovlivní naloxon kardiorepirační parametry.

2.2.4.6. Sufentanil 3 µg/kg u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo po $231,4 \pm 98,8$ sekundách.

Srdeční frekvence: Se snižovala z výchozích $243,9 \pm 20,4$ tepů/min na $168,0 \pm 57,0$ tepů/min (v 5. minutě), $136,9 \pm 36,8$ tepů/min (v 10. minutě), dále pak stoupala až na $186,4 \pm 31,2$ tepů/min ve 20. minutě. Ve 2 případech z 10 došlo k poklesu srdeční frekvence pod 100 tepů/min., v 5. a 6. minutě to bylo v jednom případě, ale v dalších 3 případech se pohybovala tepová frekvence okolo 120 tepů/min. V 8. minutě klesala srdeční frekvence pod 120 tepů/min. v 6 případech a v 1 případě pod 100 tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $98,9 \pm 1,2$ % na $97,6 \pm 2,2$ % ve 20. minutě. V průměru od 7. do 9. minuty došlo k poklesu saturace hemoglobinu kyslíkem po 90 % ve 2 případech, ve 12. minutě to bylo také ve 2 případech.

Celkem v 6 případech z 10 jsme podali naloxon v dávce 0,1 mg ve 4. – 11. minutě od aplikace sufentanilu. Aplikace specifického antagonisty vedla k odeznění dechové deprese a k úpravě srdeční frekvence.

2.2.4.7. Sufentanil 3 ug/kg – hyaluronidáza 150 m.j.

K ztrátě reflexu polohy došlo v průměru za 1,45 min ± 20 sec. Ztráta reflexu polohy trvala v 8 případech více jak 20 min, v ostatních 2 do 18.min. Srdeční frekvence se do 5.min od výchozích hodnot prakticky nezměnila, pak následoval pokles v průměru o 15 tepů/min v 10.min, o 40 tepů/min v 15.min a o 50 tepů/min ve 20.min. Saturace hemoglobinu kyslíkem klesla z výchozích 99 % na 97 % v 5.min a pak pokles pokračoval, takže v 10.min byla saturace 96,5%, v 15.min 94 % a ve 20.min 93,8 %. Pokles saturace hemoglobinu kyslíkem byl velmi individuální a u některých zvířat krátkodobě poklesl i pod 90 %. Naopak u jiných králíků se trvale držel nad 96 %. V 1 případě došlo ve 20.min k apnoe, která byla řešena podáním naloxonu v dávce 0,4 mg i.m. Systolický krevní tlak poklesl v průměru o 10 torrů.

2.2.4.8. Fentanyl 10 µg/kg u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo po 110,0 ± 42,4 sekundách.

Srdeční frekvence: Se snížila z výchozích 259,4 ± 19,8 tepů/min na 256,3 ± 19,1 tepů/min (v 5. minutě), 240,9 ± 22,7 tepů/min (v 10. minutě), 236,6 ± 20,7 tepů/min v 15. minutě a 235,3 ± 21,5 tepů/min ve 20.minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Stoupla z výchozích 98,2 ± 1,3 % na 98,7 ± 0,9 % ve 20. minutě. V průběhu celé imobilizace se držela na 97,5 %.

Systolický krevní tlak: Stoupl z výchozích 111,8 ± 11,1 torrů na 115,9 ± 14,8 torrů ve 3.minutě a dále klesal na 113,2 ± 14,4 torrů v 10.minutě, aby opět stoupl na 118,7 ± 9,3 torrů ve 20.minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.5. Vliv úplně antagonistovatelné imobilizace na chování a základní kardiopirační parametry u králíka

Úvod

Úplně antagonistovatelná imobilizace představuje jednu z imobilizačních technik, kdy všechny farmakologické komponenty jsou antagonistovatelné účinkem specifických antagonistů. V pokusech na králících jsme testovali 2 varianty úplně antagonistovatelné imobilizace – jednu s ultrapotentním derivátem fentanyle sufentanilem a druhou s agonistou-antagonistou butorfanolem, a sledovali vliv na chování, ztrátu reflexu polohy a základní kardiopirační parametry.

Výsledky

2.2.5.1. Piritramid 1 mg/kg – midazolam 0,25 mg/kg u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo po 107,5 ± 45,4 sekundách.

Srdeční frekvence: Se z výchozích $231,9 \pm 17,4$ tepů/min v průběhu celé imobilizace prakticky neměnila a byla v 10.minutě $231,3 \pm 18,9$ tepů/min, 15.minutě $225,9 \pm 22,1$ tepů/min a ve 20.minutě $225,9 \pm 24,6$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $99,0 \pm 0,9$ % na $97,5 \pm 1,8$ % v 5.minutě a dále mírně stoupla na $98,3 \pm 1,2$ % v 10.minutě a v dalším průběhu se vždy držela nad 97,5 %.

Systolický krevní tlak: Stoupl z výchozích $100,0 \pm 21,9$ torrů na $110,7 \pm 14,5$ torrů v 5. minutě a dále pozvolna klesal, takže byl v 15.minutě $108,8 \pm 16,9$ torrů a ve 20.minutě $104,3 \pm 13,8$ torrů. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.5.2. Alfentanil 10 µg/kg - midazolam 0,05 mg/kg u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo po $109,0 \pm 59,6$ sekundách.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $264,4 \pm 23,7$ tepů/min na $256,9 \pm 43,0$ tepů/min v 5.minutě a dále klesala na $249,5 \pm 42,1$ tepů/min v 10.minutě a v dalších minutách mírně stoupala až na $254,8 \pm 40,9$ tepů/min v 15.minutě a $254,6 \pm 38,0$ tepů/min ve 20.minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Se držela z výchozích $98,8 \pm 1,1$ % v průběhu celé imobilizace stále nad 97 % a byla ve 20.minutě $98,0 \pm 1,4$ %.

Systolický krevní tlak: Klesl z výchozích $118,5 \pm 20,6$ torrů na $110,8 \pm 15,7$ torrů v 5. minutě na $108,5 \pm 13,4$ torrů v 10.minutě a dále mírně stoupl na $112,2 \pm 24,7$ torrů ve 20.minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.5.3. Remifentanil 5 µg/kg - midazolam 0,08 mg/kg u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo po $165,5 \pm 74,7$ sekundách.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $215,3 \pm 29,7$ tepů/min na $155,9 \pm 48,0$ tepů/min v 5.minutě a dále klesala na $130,4 \pm 43,0$ tepů/min v 10.minutě. Od 10.minuty nastal pozvolný vzestup na $160,6 \pm 30,2$ tepů/min v 15.minutě a $178,2 \pm 30,6$ tepů/min ve 20.minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $98,7 \pm 1,1$ % na $95,4 \pm 2,4$ % v 5.minutě, do 13.minuty se udržovala ve velmi nízkém rozmezí 95-96 % a od té doby stoupala, takže v 15.minutě byla $96,4 \pm 1,6$ % a $97,6 \pm 1,2$ % ve 20.minutě.

Systolický krevní tlak: Klesl z výchozích $123,8 \pm 19,5$ torrů na $110,1 \pm 9,2$ torrů v 5. minutě, a pak pozvolna stoupl až byl ve 20.minutě $114,7 \pm 11,3$ torrů. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.6. Úplně antagonistická imobilizace u makaka rhesus (Macaca mulatta)

Úvod

Hlavním trendem v současné anesteziologii je použití receptorově specifických farmak s krátkým biologickým poločasem. Mezi tato farmaka patří především benzodiazepiny (midazolam), alfa₂ agonisté (medetomidin a dexmedetomidin) a opioidy (fentanyl a jeho deriváty). U všech jmenovaných skupin farmak jsou specifickí antagonisté – pro benzodiazepiny flumazenil, pro alfa₂ agonisty atipamezol a pro opioidy naloxon, naltrexon nebo nalmefen. Alfa₂ agonisté a midazolam se vzájemně výrazně potencují a mají synergický hypnotický účinek (Salonen a spol., 1992). Rovněž opioidy a benzodiazepiny se výrazně potencují v oblasti sedativního a hypnotického účinku (Kissin a spol., 1990).

Butorfanol je ve veterinárních textech charakterizován jako typický opioidní agonista-antagonista, který má agonistické účinky na kappa receptorech a slabé agonistické nebo antagonistické účinky na μ receptorech. Je často používán k analgosedaci psů a koček.

Zajímalo nás proto, zda butorfanol v kombinaci s medetomidinem a midazolamem navodí úplně antagonizovatelnou imobilizaci bez podstatného ovlivnění kardiorepiračních funkcí.

V roce 2002 publikoval Erhardt a spol. své zkušenosti s plně antagonizovatelnou anestézií různých druhů laboratorních zvířat – králíka, potkana, myši, křečka, morčete, pískomila, činčily i holuba. Vzhledem k vysoké citlivosti primátů i člověka na dechovou depresi po opioidech však zůstává otázkou zda také plně antagonizovatelná imobilizace je vhodná i pro primáty bez podstatnější dechové deprese.

Z těchto důvodů jsme se rozhodli studovat trojkombinaci medetomidin-midazolam-fentanyl a medetomidin – midazolam – butorfanol u opic makak rhesus.

Materiál a metodika

Výzkum byl proveden na 30 opicích druhu makak rhesus (*Macaca mulatta*), obojího pohlaví, stáří 1 – 3 roky, hmotnosti 2,4 – 4,6 kg, chovaných v Biotestu Konárovice, s.r.o. Opice jsme odchyťovali do podběráku a umístili jednotlivě v pytli. Po vyjmutí z pytle jsme aplikovali 20 makakům trojkombinaci medetomidin v dávce 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ i.m., midazolam v dávce 0,25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a fentanylu v dávce 5 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ v jedné injekční stříkačce a 10 makakům trojkombinaci medetomidin 50 mg/kg – midazolam 0,25 mg/kg – butorfanol 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ spolu s hyázou do m. deltoideus. Po aplikaci jsme opice vypustili k pozorování změn chování do malé klece.

Ve 20. minutě imobilizace jsme podali u první trojkombinace specifického antagonistu alfa₂ agonistů atipamezol (Antisedan Pfizer) v celkové dávce 1 mg. U druhé trojkombinace jsme aplikovali naloxon v dávce 0,2 mg spolu s atipamezolem v dávce 1 mg a sarmazenilem v celkové dávce 0,5 mg i.m. a sledovali jejich vliv na tepovou frekvenci, dýchání a rychlost psychomotorického zotavení.

Výsledky

2.2.6.1. Medetomidin 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ i.m. - midazolam 0,25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ - fentanyl 5 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ - hyáza 150 m.j.

Nástup účinku byl za $73,0 \pm 16,0$ s, imobilizační čas byl $268,5 \pm 116,1$ s. a ztráta úchopového reflexu $287,5 \pm 126,5$ s. Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $94,3 \pm 3,4$ % ve 5.minutě, $93,6 \pm 3,9$ % v 10.minutě a $93,6 \pm 4,2$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence klesla z výchozích $117,1 \pm 13,3$ tepů/min ve 5.minutě na $112,0 \pm 12,6$ tepů/min ve 10. minutě až na $106,2 \pm 11,4$ tepů/min ve 20.minutě.

Systolický krevní tlak klesl ze $116,0 \pm 10,2$ torrů na ve 5. minutě na $111,5 \pm 14,4$ torrů ve 10.minutě až na $105,1 \pm 8,0$ torrů ve 20.minutě. Diastolický krevní a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Spontánní probuzení nastalo v průměru za $52,8 \pm 33,3$ min, po podání specifického antagonisty atipamezolu (1mg) došlo v průměru za $3,1 \pm 1,4$ min. Přidání sarmazenilu v celkové dávce 1 mg neurychlilo průběh zotavení.

2.2.6.2. Remifentanil 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ - medetomidin 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ - midazolam 0,1 mg/kg

Nástup účinku byl za $288,0 \pm 133,6$ sekund. V 9 případech z 10 byla dosažena výrazná sedace s úplnou ztrátou agresivity a makak byl pouze minimálně fyzicky přidržován. V jednom případě došlo k imobilizaci za 480 sekund. K ztrátě úchopového reflexu v 9 případech nedošlo a v 1 případě za 480 sekund.

Saturace hemoglobinu kyslíkem činila $96,3 \pm 1,6$ % ve 3.minutě, $96,0 \pm 3,1$ % v 5. minutě, $96,3 \pm 2,8$ % ve 10. minutě, $96,9 \pm 2,6$ % v 15. minutě, $98,8 \pm 1,1$ % ve 20. minutě.

Tepová frekvence klesla z výchozích $150,8 \pm 25,9$ tepů/min ve 3. minutě na $148,0 \pm 19,3$ tepů/min ve 5. minutě a dále klesala takže byla $137,2 \pm 20,9$ tepů/min v 10. minutě, $130,4 \pm 21,6$ tepů/min ve 15.minutě a $124,7 \pm 18,5$ tepů/min ve 20. minutě.

Systolický krevní tlak klesl ze $130,9 \pm 9,5$ torrů ve 3. minutě na $121,5 \pm 6,7$ torrů ve 5.minutě a dále klesal, takže byl $114,5 \pm 13,7$ torrů ve 10.minutě, $110,8 \pm 10,1$ torrů ve 15.minutě, opět mírně stoupl na $113,8 \pm 8,8$ torrů ve 20. minutě. Diastolický krevní a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

V 7 případech nebylo zapotřebí podat specifických antagonistů a ve 3 případech k urychlení zotavení podali atipamezol v dávce 0,5-1 mg i.m.

2.2.7. Vliv skopolaminu na chování a základní kardiorespirační parametry

Úvod

Skopolamin je klasickým příkladem anticholinergního psychedelika. Váže se na acetylcholinové receptory a blokuje tak účinek acetylcholinu. Jako droga má skopolamin dlouhodobou a barvitou historii. Ve vysokých koncentracích ho najdeme spolu s druhou anticholinergní látkou atropinem v lilkovitých rostlinách, a sice v rulíku zlomocném (*Atropa belladonna*), v durmanu obecném (*Datura stramonium*) v mandragoře (*Mandragora*

officinarum) a blínu černém (*Hyoscamus niger*). Traviči středověku používali rulík zlomocný jako mnohostranně použitelný výchozí materiál pro přípravu smrtelných nápojů. Skutečně druhové označení *Atropa* značí bohyni *Atropos*, která v české mytologii přestřihávala vlákno života. Po staletí byl atropin používán i zneužíván. Tyto alkaloidy byly součástí čarodějnických mastí. Výtažky z těchto rostlin vyvolávaly u mnohých lidí přesvědčení, že mohou létat. Další složky morfin a marihuana vedly k zintenzivnění účinku. V 50. letech byl skopolamin používán jako tzv. sérum pravdy při výsleších. Člověk ovlivněný skopolaminem totiž často ztrácí autokritiku a psychickou kontrolu. Dochází k sedaci a k ospalosti a amnestickému účinku. Proto jsou dosud v mnoha zemích připravovány omamné nápoje s obsahem atropin a skopolamin obsahujících listů. Ve vyšších dávkách a u starých lidí může dojít až ke stavům zmatenosti a halucinacím.

Dříve byl skopolamin často používán v anesteziologii jako premedikace. V anglosaských zemích byl s oblibou kombinován s morfinem. U dětí byl často používán kombinovaný preparát *Benarcos*, který obsahoval vedle skopolaminu také oxykodon a efedrin. Byly používány také čípky, které obsahovaly skopolamin, efedrin, oxykodon a alkaloid spartein. Primář Otakar Bořík s otorhinolaryngologického oddělení nemocnice v Karlových Varech používal s oblibou různá farmaka nazálně, mezi jiným také skopolamin již od 50. let 20. století. Skopolamin kapal do nosu jako premedikaci zejména u malých dětí např. před tonsilektomií. Dítě bylo většinou euforické, omámené s výraznou sedací a na průběh výkonu si nepamatovalo. Protože se zabýval také farmacií, dovedl připravit skopolamin s různými podpůrnými substancemi, které urychlovaly nebo zpomalovaly jeho vstřebávání nazální cestou. Skopolamin byl také oblíbenou součástí imobilizačních směsí při imobilizaci velkých druhů zvířat např. nosorožců, protože potencuje účinek téměř všech centrálně působících farmak.

Dominantní účinky skopolaminu jsou především v oblasti CNS. Dochází k sedaci s pocitem únavy, omámení, apatie. Je přítomen silný euforický účinek. Někdy naopak dochází ke stavům excitace, zejména u starých osob. Z periferních účinků můžeme jmenovat zvýšení srdeční frekvence a poruchy akomodace a suché sliznice.

V našich experimentech jsme testovali vliv skopolaminu aplikovaného intramuskulárně nebo konjunktiválně na chování a základní kardiopulsační parametry u králíka. Zajímala nás především kombinace s novějšími farmaky, která nebyla dosud se skopolaminem testována.

2.2.7.1. Skopolamin 0,25 mg + sufentanil 1 µg/kg u králíka

Vliv na CNS: První známky účinku pozorujeme již během 1 – 2 minut od aplikace (stupeň II – III). Ke ztrátě reflexu polohy došlo ve všech případech za $340,0 \pm 101,0$ sekund (stupeň V).

Srdeční frekvence: Stoupla z výchozích $241,4 \pm 31,3$ na $256,3 \pm 31,4$ tepů/min, pak mírně poklesla na $250,9 \pm 55,4$ tepů/min v 10. minutě ($p < 0,01$). V následujících minutách došlo k mírnému poklesu na $242,4 \pm 28,2$ tepů/min.

Systolický krevní tlak: Stoupl z výchozích $112,8 \pm 19,3$ na $116,2 \pm 17,8$ torrů ($p < 0,05$) a v dalších minutách se držel na této úrovni. Střední arteriální tlak jevil zcela nepatrné rozdíly od výchozích hodnot.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $98,1 \pm 1,2 \%$ na $94,8 \pm 3,2 \%$ ($p < 0,05$). V dalším průběhu až do 20. minuty nepoklesla saturace pod 93 %.

Komentář: Skopolamin významně posílil imobilizační potenciál sufentanilu, protože ve všech případech došlo ke ztrátě reflexu polohy. Kromě toho vedl svým vagolytickým účinkem ke zvýšení srdeční frekvence. Působil tím proti vagomimetickému účinku sufentanilu. Výsledkem je velmi vyrovnaná srdeční frekvence v průběhu celé imobilizace. Vidíme to pěkně ve srovnání s podáním samotného sufentanilu ve stejné dávce.

2.2.7.2. Skopolamin 0,5 mg – sufentanil 1 ug/kg – efedrin 0,5 mg/kg u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo ve všech případech za $190,0 \pm 82,4$ sekund. Ztráta reflexu polohy trvala v 7 případech více jak 20 min a ve 3 případech do 13 – 16.min

Srdeční frekvence: Z výchozích $252,5 \pm 32,6$ tepů/min se prakticky neměnila, takže byla v 5.minutě $248,6 \pm 37,0$ tepů/min. V dalších minutách začala pozvolna klesat, takže byla v 10.min $232,2 \pm 47,5$ tepů/min a v 15.minutě $225,7 \pm 54,7$ tepů/min a ve 20.min $219,7 \pm 45,2$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Klesla z výchozích $99,3 \pm 0,7 \%$ na $96,8 \pm 1,3 \%$ a dále mírně stoupala, takže byla v 10.min $97,2 \pm 1,6 \%$, v 15.min $96,4 \pm 1,8 \%$ a ve 20.min $97,1 \pm 1,0\%$.

Systolický krevní tlak: Stoupl z výchozích $109,8 \pm 14,4$ torrů na $112,1 \pm 12,1$ torrů v 5.min, aby dále klesl, takže byl v 10.min $104,1 \pm 13,9$ torrů, v 15.min $106,8 \pm 12,2$ torrů a ve 20.min $106,2 \pm 14,8$ torrů. Podobně se choval střední arteriální tlak i diastolický krevní tlak.

2.2.8. Vliv etomidátu a jeho kombinace s farmaky na chování a kardiopulsační parametry

Úvod

Etomidát je nebarbiturové krátkodobě působící hypnotikum používané v ambulantní anesteziologii. Jeho methylovaný derivát metomidát byl používán ve veterinární medicíně kromě i.v. také intramuskulárně nebo intraperitonálně. Do narkotizační lázně je používán k sedaci a anestezii akvariálních ryb (Kilgore a spol. 2009, Hansen a spol. 2003). Protože metomidát podobně jako etomidát je účinným inhibitorem enzymu 11- β hydroxylázy je užíván jako radionosič v pozitronové emisní tomografii k diagnóze adrenokortikálního adenomu (Burton a spol. 2010). Jeho hypnotická potence je asi 2x menší než etomidátu. V pokusech na králících nás zajímalo, zda samotný etomidát a při kombinaci s farmaky bude vést ke ztrátě reflexu polohy a jeho vliv na základní kardiopulsační parametry.

Výsledky

2.2.8.1. Etomidát 1 mg/kg u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo za $144,0 \pm 77,3$ sekund.

Srdeční frekvence: Stoupla z výchozích $268,0 \pm 29,5$ tepů/min na $271,6 \pm 23,9$ tepů/min v 5.minutě, dále pak klesala na $258,1 \pm 22,8$ tepů/min v 10.minutě, $245,5 \pm 26,3$ tepů/min v 15.minutě a $239,6 \pm 18,6$ tepů/min ve 20.minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Z výchozích $98,5 \pm 1,1$ % se v průběhu celé imobilizace udržovala nad 98 % a ve 20.minutě byla $98,9 \pm 0,7$ %.

Systolický krevní tlak: Stoupl z výchozích $109,2 \pm 16,8$ torrů na $125,8 \pm 8,8$ torrů ve 3.minutě, aby v dalších minutách klesl na $117,2 \pm 11,9$ torrů v 15.minutě a pak stoupl na $127,5 \pm 17,7$ torrů ve 20.minutě. Diastolický krevní tlak také zpočátku stoupl z výchozích $61,7 \pm 13,2$ torrů na $71,7 \pm 13,0$ torrů ve 3.minutě a dále mírně klesl a ve 20.minutě byl $53,4 \pm 12,8$ torrů. Střední arteriální stoupl z výchozích $78,6 \pm 12,1$ torrů na $90,6 \pm 9,0$ torrů ve 3.minutě a pak pozvolna klesal a ve 20.minutě byl $78,9 \pm 8,1$ torrů.

2.2.8.2. Etomidát 0,3 mg/kg - remifentanil 2,5 µg/kg u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo za $126,5 \pm 46,9$ sekund.

Srdeční frekvence: Stoupla z výchozích $266,2 \pm 20,2$ tepů/min na $272,3 \pm 19,6$ tepů/min v 5.minutě, dále pak klesala na $255,6 \pm 19,8$ tepů/min v 10.minutě, $248,9 \pm 16,2$ tepů/min v 15.minutě a $244,8 \pm 21,1$ tepů/min ve 20.minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Z výchozích $98,8 \pm 0,9$ % se v průběhu celé imobilizace udržovala nad 98 % a ve 20.minutě byla $99,0 \pm 0,7$ %.

Systolický krevní tlak: Klesl z výchozích $120,6 \pm 21,4$ torrů na $118,2 \pm 23,7$ torrů v 5.minutě, $117,4 \pm 18,5$ torrů v 15.minutě a $110,0 \pm 21,9$ torrů ve 20.minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.8.3. Etomidát 0,3 mg/kg - midazolam 0,1 mg/kg u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo za $138,5 \pm 48,7$ sekund.

Srdeční frekvence: Stoupla z výchozích $263,7 \pm 19,5$ tepů/min na $267,9 \pm 20,1$ tepů/min v 5.minutě a dále klesala na $254,9 \pm 21,2$ tepů/min v 10.minutě, $247,9 \pm 19,9$ tepů/min v 15.minutě až na $246,6 \pm 19,1$ tepů/min ve 20.minutě.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Z výchozích $98,8 \pm 0,8 \%$ se v průběhu celé imobilizace udržovala nad 98% a ve 20.minutě byla $98,8 \pm 0,8 \%$.

Systolický krevní tlak: Stoupl z výchozích $122,2 \pm 16,7$ torrů na $136,8 \pm 24,0$ torrů v 5.minutě a dále klesal na $114,6 \pm 17,3$ torrů v 10.minutě a opět stoupl na $128,7 \pm 27,6$ torrů ve 20.minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Diskuze

Etomidát se ukázal jako hypnotikum s vynikající kardiorespirační stabilitou. Nástup účinku byl velmi rychlý a imobilizační časy samotného etomidátu nebo v kombinaci s různými farmaky se pohybovaly v průměru okolo 2 minut. Srdeční frekvence se v prvních minutách po aplikaci etomidátu mírně zvýšila, aby v dalších minutách mírně klesala. U všech kombinací etomidátu s farmaky jsme zaznamenali pouze mírný pokles srdeční frekvence.

Zajímavě se choval krevní tlak. Po aplikaci samotného etomidátu se nejprve zvýšil, aby pak pozvolna klesal. Je to pravděpodobně způsobeno stimulací alfa₂ adrenergických receptorů etomidátem (citace). Také ve zmíněných kombinacích bylo toto zvýšení více či méně patrné. Závěrem se dá říci, že etomidát a jeho kombinace s farmaky představuje velmi výhodnou kombinaci k imobilizaci s rychlými imobilizačními časy a vynikající kardiorespirační stabilitou.

2.2.9. Vliv oxytocinu na chování a základní kardiorespirační parametry

Oxytocin je neuropeptid, který má periferní hormonální účinky na dělohu a mléčnou a mléčnou žlázu a centrální účinky, kde působí jako neuromediátor. Právě jeho centrální účinky jsou předmětem interdisciplinárního výzkumu. Bylo zjištěno, že oxytocin zvyšuje empatii, má anxiolytický účinek a působí antistresově. Zvyšuje důvěru a upevňuje emoční vazbu mezi matkou a dítětem a pohlavními partnery. Z tohoto důvodu jsme se rozhodli testovat oxytocin u králíka a makaka rhexus a sledovat jeho vliv na chování a základní kardiorespirační parametry.

Výsledky

2.2.9.1. Oxytocin intramuskulárně 5 mj u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo pouze ve 2 případech z 10 v průměru za $420,0 \pm 60,0$ sekund. Ztráta reflexu polohy trvala v prvním případě do 19 minut od aplikace a ve druhém případě do 12 minut od aplikace.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $272,1 \pm 18,3$ tepů/min na $262,5 \pm 26,1$ tepů/min v 1.minutě, aby v dalším průběhu stoupla na $276,8 \pm 26,2$ tepů/min v 5.minutě a dále se držela prakticky na stejné úrovni na $272,9 \pm 24,3$ tepů/min v 10.minutě a $269,3 \pm 20,0$ v 15. Minutě a dále se prakticky neměnila, takže byla ve 20.minutě $260,3 \pm 21,2$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Se z výchozích $98,5 \pm 0,9 \%$ prakticky neměnila, takže v 10. minutě byla na $97,7 \pm 1,2 \%$ a ve 20. minutě byla $98,3 \pm 0,6 \%$.

Systolický krevní tlak: Z výchozích $120,7 \pm 11,7$ torrů prakticky neměnil, takže byl na $119,0 \pm 12,5$ torrů ve 5. minutě a na $121,2 \pm 7,6$ torrů v 15. minutě a na $117,4 \pm 6,8$ torrů v 20. minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.9.2. Oxytocin 5 mj nasálně u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo ve 6 případech z 10 v průměru za $225,0 \pm 106,9$ sekund. Ztráta reflexu polohy trvala do 13 – 16 minut od aplikace.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $253,8 \pm 29,6$ tepů/min na $218,5 \pm 18,2$ tepů/min v 1. minutě, aby v dalším průběhu stoupla na $252,4 \pm 24,1$ tepů/min v 5. minutě a dále se držela prakticky na stejné úrovni na $255,6 \pm 28,9$ tepů/min v 10. minutě a $253,6 \pm 22,4$ v 15. Minutě a dále se prakticky neměnila, takže byla ve 20. minutě $251,0 \pm 21,5$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Se z výchozích $98,4 \pm 0,7 \%$ prakticky neměnila, takže v 10. Minutě byla na $98,1 \pm 1,0 \%$ a ve 20. minutě byla $98,0 \pm 0,6 \%$.

Systolický krevní tlak: Z výchozích $120,4 \pm 16,4$ torrů klesl na $120,1 \pm 7,4$ torrů ve 5. minutě a na $115,5 \pm 10,6$ torrů v 10. minutě, aby v dalším průběhu stoupl na $122,0 \pm 12,5$ torrů v 20. minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.9.3. Oxytocin 5 mj nasálně a midazolam 0,2 mg/kg i.m. u králíka

Vliv na CNS: Ke ztrátě reflexu polohy došlo v 9 případech z 10 v průměru za $113,3 \pm 19,9$ sekund. V sedmi případech trvala ztráta reflexu polohy více než 20 minut. V jednom případě do 13 minut a v jednom případě do 18 minut od aplikace.

Srdeční frekvence: Klesla z výchozích $251,2 \pm 36,1$ tepů/min na $224,0 \pm 31,9$ tepů/min v 1. minutě, aby v dalším průběhu stoupla na $251,8 \pm 26,3$ tepů/min v 5. minutě a $249,1 \pm 34,0$ tepů/min v 10. minutě, aby se v dalším průběhu neměnila, takže byla $249,1 \pm 27,6$ v 15. minutě a 20. minutě $249,1 \pm 22,7$ tepů/min.

Saturace hemoglobinu kyslíkem: Se z výchozích $98,2 \pm 1,0 \%$ prakticky neměnila, takže v 10. minutě byla na $98,2 \pm 1,0 \%$ a ve 15. minutě byla $97,8 \pm 1,5 \%$ a ve 20. minutě byla $98,2 \pm 1,2 \%$.

Systolický krevní tlak: Z výchozích $126,8 \pm 14,5$ torrů mírně poklesl, takže byl na $119,2 \pm 10,0$ torrů ve 5. minutě a na $116,8 \pm 13,8$ torrů v 15. minutě a na $117,6 \pm 13,3$ torrů v 20. minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Diskuse

Z pokusu, že oxytocin má u králíka sedativní účinky. Kardiorespirační parametry byly ovlivněny nevýznamně. Je zajímavé, že při intramuskulární aplikaci bylo dosaženo ztráty reflexu polohy jen ve dvou případech z deseti. Při nasální aplikaci naproti tomu v šesti případech z deseti. Při nasální aplikaci došlo k ztrátě reflexu polohy v průměru za 3,5 minuty, při i.m. aplikaci v průměru za 6-8 minut. To dokazuje, že při parenterální aplikaci prostupuje oxytocin špatně hematoencephalickou bariérou. Naopak při nasální aplikaci prostupuje čichovou sliznicí a podél čichového nervu zkrze lamina cribiformis přímo do mozku. Také u makaka rhexus působí nasální aplikace výrazně anxiolyticky a sedativně. Makak je zcela klidný s minimálním fyzickým držením. Také zde byla i.m. aplikace při ovlivnění chování méně úspěšná.

Zajímavá je kombinace oxytocinu s midazolamem. Předpokládali jsme synergický účinek v oblasti sedace. Naše pokusy to však nepotvrdily - oxytocin - midazolam se vzájemně nepotencují. Pravděpodobně je to způsobeno odlišným mechanismem účinku obou farmak na úrovni receptorů. To může představovat i výhodu, protože po nasální premedikaci oxytocinem můžeme i.v. aplikovat midazolam bez obav o výraznou potenciaci sedace a případně negativní ovlivnění kardiorespiračních parametrů. V současné době testujeme i vztah mezi oxytocinem a opioidy (remifentanil) a alfa2 agonisty (dexmedetomidin).

Oxytocin ve spreji by se mohl uplatnit při panickém chování davu při požáru nebo jiných ohrožení.

2.2.9.4. Oxytocin 5 m.j. i.m. u makaka

Nástup účinku byl patrný na $300,0 \pm 128,3$ sec. Imobilizace byla dosažena pouze v 1 případě. V ostatních případech byla dosažena sedace s častou ztrátou agresivity. Ve 3 případech jsme však pozorovali agresivní chování. Ke ztrátě reflexu polohy došlo pouze ve 2 případech za $360,0 \pm 60,0$ sec. V ostatních případech byl reflex zachován, případně mírně oslaben. Saturace hemoglobinu kyslíkem stoupla z výchozích $97,8 \pm 1,8$ % ve 3.minutě na $98,6 \pm 1,2$ % v 5.minutě, aby v dalších minutách se držela přibližně na stejných hodnotách, takže byla v 15.minutě $97,8 \pm 2,0$ % a ve 20.minutě $98,4 \pm 1,1$ %. Tepová frekvence klesla z výchozích $256,3 \pm 22,4$ tepů/min ve 3.minutě na $249,0 \pm 24,6$ tepů/min v 10.minutě a na $232,3 \pm 33,1$ tepů/min ve 20.minutě. Systolický krevní tlak stoupl z výchozích $108,7 \pm 10,2$ torrů ve 3.minutě na $116,3 \pm 9,8$ torrů v 10.minutě a dále opět mírně klesl, takže byl ve 20.minutě $112,7 \pm 7,7$ torrů. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

2.2.9.5. Oxytocin 5 m.j. - midazolam 0,25 mg/kg i.m. u makaka

Nástup účinku byl patrný za $160,0 \pm 35,5$ sec. K úplné imobilizaci došlo pouze v 1 případě za 360 sec. V ostatních případech byl makak silně sedován, občas zavíral oči a byla úplná ztráta agresivity. Z bezpečnostních důvodů byl pouze lehce přidržován na podložce.

Ke ztrátě úchopového reflexu došlo ve 8 případech za $363,8 \pm 145,8$ s. Saturace hemoglobinu kyslíkem stoupla z výchozích $97,7 \pm 1,9$ % ve 3.minutě na $98,3 \pm 1,2$ % v 10. minutě a $98,6 \pm 1,1$ % ve 20.minutě. Tepová frekvence klesla z výchozích $214,8 \pm 21,2$ ve 3.minutě na $206,8 \pm 17,0$ tepů/min ve 10. minutě až na $198,0 \pm 23,6$ tepů/min ve 20.minutě. Systolický

krevní tlak klesl z výchozích $127,6 \pm 16,4$ torrů ve 3.minutě na $118,3 \pm 9,8$ torrů v 10.minutě na $115,3 \pm 11,9$ torrů ve 20. minutě. Diastolický a střední arteriální tlak se chovaly podobně.

Na rychlost nástupu účinku po intramuskulární aplikaci mají vliv rozmanité faktory – např. místo aplikace velikost injikovaného objemu nebo přídavek akcelérátoru. V následujícím textu uvádíme vliv volby místa aplikace a přidáním hyaluronidázy na rychlost nástupu účinku u makaka rhesus.

3. Ovlivnění rychlosti nástupu účinku aplikovaných farmak

3.1. Místo aplikace

V anesteziologii se nejčastěji setkáváme s aplikací farmak do m. gluteus maximus. K účelům premedikace jsou takto podávána anticholinergika, benzodiazepiny i opioidy. K plnému rozvinutí účinku se počítá s 30 minutami. V medicíně katastrof se při nemožnosti intravenózního přístupu podávají farmaka také intramuskulárně. Zde při navození analgezie, event. bazální anestézie hraje důležitou roli především časový faktor. Opět se k aplikaci využívá především krajina hýždí.

V rámci řešení výzkumného úkolu „farmakologické non lethal weapons“ jsme na opicích makak rhesus srovnávali rychlost nástupu účinku a indukční čas při aplikaci do m. maximus gluteus a m. deltoideus.

Medetomidin 25 ug/kg – ketamin 3 mg/kg m.deltoideus

Medetomidin 25 ug/kg – ketamin 3 mg/kg m.gluteus maximus

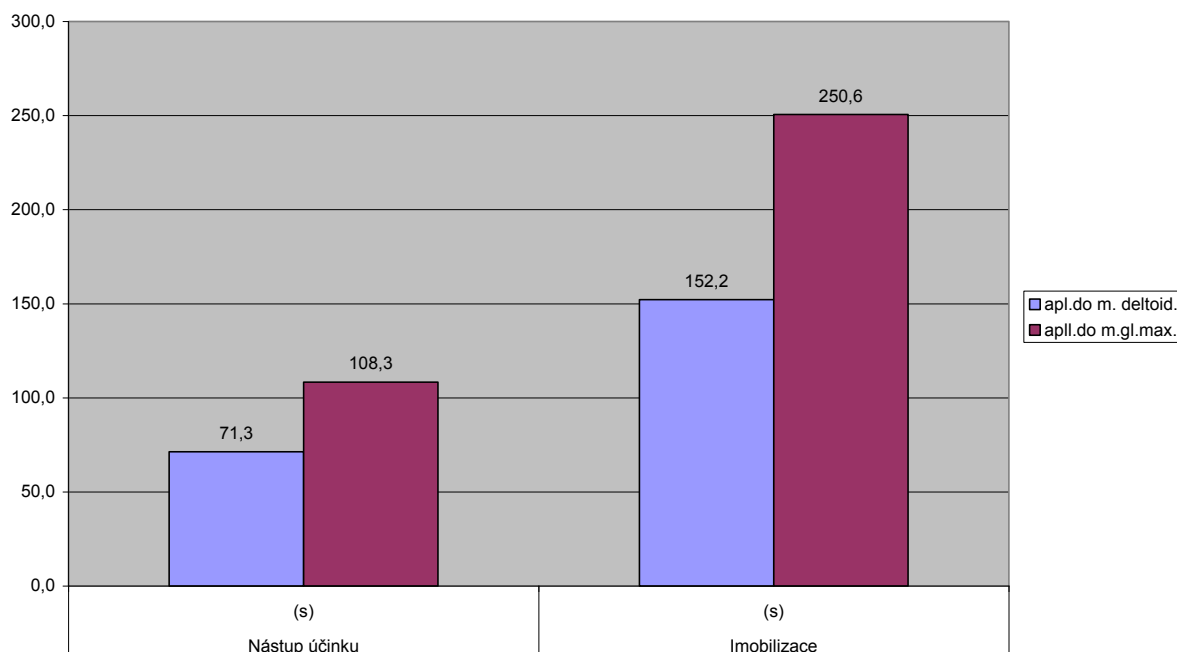
Výsledky

Ukazuje tabulky č. 1. U první skupiny 10 opic byl nástup účinku za $108,3 \pm 51$ sekund a čas imobilizace $254,4 \pm 85$ sekund. U druhé skupiny 10 opic jsou uvedené hodnoty $71,3 \pm 11,7$ s a $152,7 \pm 95,6$ s. Rozdíly mezi oběma skupinami jsou vysoce statisticky významné.

U první skupiny byl na začátku imobilizace ještě přítomen úchopový reflex po dobu 15 – 45 s, který postupně vyhasínal. Stejně tak pozvolna nastupovala úplná svalová relaxace.

Průběh srdeční frekvence a saturace hemoglobinu kyslíkem se v průběhu imobilizace nelišil mezi oběma skupinami. Stejně tak tomu bylo i při psychomotorickém zotavení. Probuzení zvířat v obou skupinách nastalo v průměru za 33 s od aplikace.

Čas nástupu účinku(s) při apl.ketamin 3mg/kg + medetomidin 25g/kg do m. deltoideus a m. gl. max.



Diskuse

Získané výsledky ukazují, že volba místa pro intramuskulární injekci je důležitá z hlediska rychlosti nástupu účinku i z hlediska intenzity účinku. Po injekci dexmedetomidinu v dávce $1,5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ do m. gluteus maximus byl vrchol plazmatické koncentrace $0,34 \pm 0,1 \text{ ng}$ dosažen za $1,6 \pm 1,7$ hodin (Scheinin a spol. 1992). Naproti tomu jestliže byl dexmedetomidin v dávce $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$ injikován do m. deltoideus, byl vrchol plazmatické koncentrace $0,81 \pm 0,27 \text{ ng.ml}^{-1}$ dosažen za $13 \pm 18 \text{ min}$ (rozmezí 2-60min) (Dyck a spol. 1993).

Evans a spol. 1975 měřili průtok krve svaly v jednotlivých oblastech těla ve vztahu k absorpci látky. Krevní průtok svaly za klidového stavu měřili izotopem xenonu 133. Zjistili, že průtok m. deltoideus je výrazně vyšší – $11,6 \cdot 100\text{g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ než průtok m. gluteus maximus – $9,6 \cdot 100\text{g}^{-1}.\text{min}^{-1}$. Průtok je tedy o 19 % vyšší a tím je tedy ovlivněna rychlost absorpce farmak a maximální plazmatické koncentrace po intramuskulární aplikaci.

Virkilla a spol. 1993 studovali farmakokinetiku alfentanilu injikovaného v dávce $12,5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ do m. deltoideus nebo m. gluteus maximus jako premedikace 15 minut před peribulbárním blokem. Zjistili statisticky výrazně vyšší plazmatickou koncentraci alfentanilu po injekci do m. deltoideus. Pouze alfentanil injikovaný do tohoto svalu redukoval bolest (hodnocenou vizuální analogovou škálou) spojenou s peribulbárním blokem.

Grabinski a spol. 1983 zjistili dvaapůlkrát vyšší plazmatickou hladinu metadonu po injekci do m. deltoideus než do m. gluteus maximus.

Kentala a spol. 1998 srovnávali farmakokinetiku kombinace skopolaminu v dávce 6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ spolu s morfinem v dávce 200 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ aplikovanou do m. deltoideus s aplikací do m. gluteus maximus. Špičková plazmatické koncentrace skopolaminu byla po injekci do m. deltoideus 2,2 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a byla dosažena po 17 minutách. Odpovídající hodnoty po injekci do m. gluteus maximus byly 1,6 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ resp. 19 minut. Podstatně vyšší byly plazmatické koncentrace při aplikaci morfinu do m. deltoideus 71 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ vs. 49 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Maximální sedativní účinek byl dosažen při aplikaci do paže za 60 minut a do svalů hýždě teprve za 120 – 160 minut. Autoři uzavírají, že farmakokinetické parametry a klinické účinky intramuskulárně aplikované kombinace skopolamin-morfin jsou více předvídatelné při injekci do m. deltoideus.

Všechny tyto práce tedy ukazují, že při injekci do m. deltoideus dochází nejen k zrychlení nástupu účinku, ale i jeho vyšší intenzitě. To také odpovídá výsledkům našich pokusů. Po injekci kombinace medetomidin-ketamin do m. deltoideus vidíme rychlý nástup imobilizace s rychlým vyhasnutím úchopového reflexu a nástupem plné svalové relaxace. Naproti tomu při injekci do m. gluteus maximus je nástup účinku pozdější a také pozvolna vyhasíná úchopový reflex a nastupuje svalová relaxace.

Podobné zkušenosti byly popsány i při použití svalových relaxancií. Kuntze 1967 popisuje, že nejprve nastupuje účinek suxametonie při injekci do přední končetiny zvířete a pak do končetiny zadní. Experimentálně prokázal, že když injikoval suxametonium do svaloviny ocasu byl nástup účinku svalové relaxace zřetelně opožděn a bylo potřeba vyšší dávkování.

V našich zemích je stále zvykem podávat premedikaci intramuskulárně do m. gluteus maximus. Resorpce z této oblasti je pomalá, a u některých farmak např. diazepamu i nespolehlivá. Tato studie ukazuje, že je výhodná aplikace do m. deltoideus. Zejména v medicíně katastrof i v akutní medicíně tak dosáhneme nejen rychlejšího nástupu účinku, ale i jeho vyšší intenzitu.

3.2. Vliv různých akceleratorů na průběh imobilizace a rychlost psychomotorického zotavení

Vliv hyaluronidázy (Hylase – Dessau) na rychlost nástupu imobilizace u makaka rhesus (*Macaca mulatta*)

K imobilizaci a anestézii opic se v současné době nejčastěji používá ketamin a jeho kombinace s alfa₂ agonisty xylazinem nebo medetomidinem (Göltenboth 1990, Young a spol. 1999). Předností je rychlý nástup účinku, dobrá kardiovaskulární stabilita a klinicky nevýznamné ovlivnění dýchání (Hess 1999).

Při vývoji non lethal weapons je důležitá právě rychlost nástupu účinku při intramuskulární aplikaci. K urychlení resorpce jsou používána různá farmaka např. dimetylsulfoxid (Harthoorn 1978) nebo hyaluronidáza. Tento enzym rozpouští mezibuněčnou hmotu štěpením kyseliny hyaluronové a urychluje tak průnik farmaka do tkání (Wacon 1993). Účinek hyaluronidázy tj. její enzymatická aktivita v tkáních trvá nejméně 12 hodin, ačkoli její biologický poločas je krátký (Farr a spol. 1997).

V experimentální studii na opici makak rhesus jsme se rozhodli testovat vliv hyaluronidázy na rychlost nástupu imobilizace při kombinaci medetomidin.ketamin.

Materiál a metodika

Výzkum byl proveden celkem na 25 opicích druhu makak rhesus (*Macaca mullata*), obojího pohlaví stáří 2-5 let, hmotnosti 3,3-6,2 kg chovaných v BioTestu Konárovice. Opice jsou zde chovány v chovných skupinách s venkovními výběhy a mají standardní dietu. Před pokusem nedostali 12 hodin potravu, přístup k vodě byl volný. Experimenty byly schváleny Etickou komisí pro pokusy na zvířatech v IKEM.

Opice jsme odchyťovali do podběráku. První skupině 12 zvířat jsme aplikovali medetomidin (Domitor – Farnos Group) v dávce $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ i.m. spolu s ketaminem (Ketanest Parke Davis) v dávce $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ i.m. a hyaluronidázu (Hylase – Dessau) v dávce 150 m.j. do m. deltoideus. U kontrolní skupiny 13 opic jsme aplikovali obě anestetika ve stejné dávce bez přídavku hyaluronidázy.

Zajímala nás především rychlost nástupu účinku u obou pokusných skupin. Ta byla charakterizována nástupem psychomotorické sedace s ataxií. Dále jsme zaznamenali čas ulehnutí zvířete do polohy na boku nebo na zádech (tzv. imobilizační čas). U každé opice jsme monitorovali saturaci hemoglobinu kyslíkem a tepovou frekvenci pulzním oximetrem (prstová sonda). Zaznamenali jsme délku účinku a čas probuzení. Rovněž jsme sledovali výskyt nežádoucích účinků (deprese dýchání, výskyt bradykardie, excitační projevy).

Statisticky jsme mezi oběma skupinami opic hodnotili rozdíly v nástupu účinku, imobilizačním čase a základních hemodynamických a respiračních parametrech a rychlosti psychomotorického zotavení. K statistickému zhodnocení jsme použili test Mann-White.

Výsledky

U první skupiny 12 opic jsme pozorovali první známky účinku v průměru za 50 ± 10 sekund a imobilizační čas činil v průměru 109 ± 20 sekund. U druhé skupiny opic byly patrné známky účinku za 84 ± 35 sekund a čas imobilizace byl 170 ± 81 sekund. Rozdíly mezi oběma skupinami byly statisticky vysoce významné ($p < 0,01$).

Nástup účinku při kombinaci s hyaluronidázou je nejen rychlejší, ale i předvídatelný. Imobilizační čas má v této skupině menší směrodatnou odchylku. Úchopový reflex, který mizí při kombinaci s hyaluronidázou velmi rychle, u kontrolní skupiny přetrvává i na začátku imobilizace. Stejně tak je tomu i se svalovou relaxací. U kontrolní skupiny bez hyaluronidázy jsme občas na začátku imobilizace pozorovali částečně zachovaný svalový tonus končetin. Naproti tomu u makaků s hyaluronidázou jsme od počátku imobilizace pozorovali výbornou svalovou relaxaci.

Saturace hemoglobinu kyslíkem se pohybovala v první skupině zvířat mezi 91-93 %. U tří zvířat jsme zaznamenali pokles saturace hemoglobinu kyslíkem pod 90 % ve třetí minutě imobilizace (nejnižší hodnota byla 86 %). V průběhu imobilizace však došlo během prvních 10 minut ke spontánní úpravě a hodnoty saturace hemoglobinu kyslíkem až na jedno zvíře byly nad 90 %. V kontrolní skupině se pohybovala saturace hemoglobinu kyslíkem okolo 94 %.

Ve třetí minutě imobilizace jsme nezaznamenali žádný případ poklesu saturace hemoglobinu pod 90 %. Rozdíly mezi oběma skupinami nejsou statisticky významné.

Pokud se podařilo změřit výchozí srdeční frekvenci při odchytu a před aplikací farmaka pohybovala se okolo 200 tepů za minutu. Po podání farmak rychle klesala v obou skupinách a v 10. minutě imobilizace byla $120 \pm 15,6$ tepů za minutu v první skupině a $130 \pm 18,9$ tepů za minutu v kontrolní skupině. Rozdíly nebyly statisticky významné.

Statisticky významné rozdíly jsme našli v rychlosti probouzení. V první skupině s hyaluronidázou se opice probouzely v průměru za 79 ± 31 minut a v kontrolní skupině za $46,6 \pm 10,1$ minut. Rozdíly mezi oběma skupinami jsou statisticky vysoce významné.

Souhrn

Na opicích makak rhesus (*Macaca mulatta*) byl studován vliv enzymu hyaluronidázy Dessau na rychlost nástupu účinku a imobilizační čas při kombinaci ketamin – medetomidin. Hyaluronidáza redukuje nástup účinku o 66 %, imobilizační čas o 55 % oproti kontrolní skupině bez tohoto enzymu. Získané výsledky jsou vysoce statisticky významné.

Saturace hemoglobinu kyslíkem byla nižší ve skupině s hyaluronidázou, ale rozdíly nejsou statisticky významné. Nebyly zjištěny rozdíly v ovlivnění kardiovaskulárního systému. Statisticky významný rozdíl byl v rychlosti psychomotorického zotavení mezi oběma skupinami. Delší imobilizace ve skupině s hyaluronidázou je patrně způsobena vyšší plazmatickou hladinou a intenzivnějším klinickým účinkem. Získané výsledky se mohou uplatnit v medicíně katastrof i při vývoji non-lethal-weapons.

Diskuse

Výsledky jsou uvedeny souhrmně v tabulkách 1 a 2. Získané výsledky ukazují, že hyaluronidáza zkrátí čas imobilizace o 66 % a imobilizační čas o 55 %. Důležité jsou také

první známky účinku, kdy již dochází k podstatnějšímu ovlivnění chování. Rychlost nástupu účinku je již skoro srovnatelná s intravenózní aplikací. Vždyť nástup hypnotického účinku thiopentalu trvá 30 – 45 sekund (Hering, Schütler 2001). V ovlivnění respirace nebyly nalezeny mezi oběma skupinami statisticky významné rozdíly. Avšak u zvířat ve skupině s hyaluronidázou byla saturace hemoglobinu kyslíkem v průměru nižší. Ihned po nástupu imobilizace klesly u některých zvířat hodnoty saturace hemoglobinu kyslíkem pod 90 %. V dalších minutách imobilizace se však rozdíly mezi oběma skupinami rychle upravily a neměly klinický význam. Rozdíly v saturaci hemoglobinu kyslíkem jsou patrně způsobeny rychlejším nástupem účinku vlivem hyaluronidázy, zvýšením plazmatické koncentrace farmak a tím větším ovlivněním respiračních parametrů.

Ovlivnění tepové frekvence však bylo mezi oběma skupinami srovnatelné. Účinku na tepovou frekvenci dominuje sympatolytický a parasympatolytický účinek medetomidinu, který překryje zcela sympatomimetický účinek ketaminu (Hess 2002)

Důležitá je i volba vhodného místa aplikace. Jak pokusy na zvířatech, tak klinické studie ukázaly, že při aplikaci do m. deltoideus je rychlost nástupu účinku větší než při aplikaci do m. gluteus maximus. Je dosaženo i vyšší plazmatické koncentrace farmak i vyšší intenzity účinku. Bylo to prokázáno např. při aplikaci dexmedetomidinu. Při aplikaci farmak do m. deltoideus a přidáním hyaluronidázy je možno zkrátit čas imobilizace na minimum.

Zajímavé jsou zjištěné rozdíly v rychlosti psychomotorického zotavení. Ve skupině opic s hyaluronidázou trvala imobilizace déle a rozdíl oproti kontrolní skupině je statisticky vysoce významný. Vysvětlení patrně spočívá v dosažení vyšší plazmatické hladiny farmak a tím i vyšší intenzitě klinického účinku. Výraznější klinické účinky pak odeznívají déle.

Získané poznatky by se mohly uplatnit v medicíně katastrof a při vývoji farmakologických non-lethal weapons.

4. Stručný přehled nejdůležitějších experimentálních výsledků

Prioritním výsledkem projektu je **intramuskulární aplikace remifentanilu**. V literatuře nejsou dosud žádné zmínky o tomto způsobu aplikace. V pokusech na králících jsme provedli analýzu dávky versus účinek. Testovali jsme remifentanil v dávkách 1, 2, 3, 4, 5, 10 a 15 ug/kg i.m. Nástup účinku byl po 2-3 minutách, délka účinku 20-30 minut. Remifentanil měl při tomto způsobu aplikace větší terapeutickou šíři než při intravenózní aplikaci

Navrhované dávkování u člověka je 3-4 ug/kg i.m.

Z dalších opioidů jsme testovali **sufentanil**, který má hypnosedativní účinek. V dávkách 1 ug/kg vedl u makaka rhesus k výrazné ztrátě agresivity. V pokusech na králících jsme zjistili, že bezpečná dávka 1-2 ug/kg i.m., 3 ug/kg i.m. vedli již k podstatnému ovlivnění kardiorepiračních funkcí.

S+ketamin – pravotočivý izomer ketaminu. V pokusech na opicích makak rhesus jsme zjistili disociační práh, který ležel mezi 2,5-3,5 ug/kg i.m. S+ketamin je vhodný pro dosažení disociativní psychomotorické sedace v medicíně katastrof i např. u těžce ošetřitelných dětí u stomatologii.

Kombinace alfa2agonista - ketamin. Tuto kombinaci jsme testovali v různém dávkování zejména u makaka rhesus. V závislosti na dávce jsme dosáhli stavu úplné ztráty agresivity, výbornou manipulovatelností zvířete až po imobilizaci. Navrhované dávkování u člověka – dexmedetomidin 2 ug/kg – ketamin 3 mg/kg i.m. např. při převazu popálených, k tomu možno přidat nízké dávky midazolamu 0,025 mg/kg i.m.

Trojkombinace alfa2 agonista benzodiazepin – ketamin. V pokusech na králících i opicích makak rhesus jsme prokázali výborný účinek této trojkombinace na základní kardiorepirační parametry. Tato trojkombinace by se mohla uplatnit s výhodou v medicíně katastrof, protože všechny farmakologické složky se vzájemně doplňují a mezi alfa2agonistou a benzodiazepinem je výrazný synergický účinek, který podstatně redukuje dávku ketaminu a tím případný výskyt psychomimetických účinků.

Flumazenil

Samotný flumazenil má po intramuskulární aplikaci u králíka i makaka sedativní účinek již při běžném klinickém dávkování. Může být použit s výhodou u silně anxiózních pacientů i.v. nebo i.m. V poslední době bylo prokázáno, že při kombinaci s morfinem zesiluje flumazenil jeho analgetické účinky.

Etomidát

Je nejsilnější hypnotikum používané v anesteziologii při intramuskulárním podání působí již od velmi nízkých dávek silnou psychomotorickou sedací u králíka i makaka. Zajímavá je kombinace etomidát – remifentanil a etomidát – midazolam event. trojkombinace etomidát-remifentanil-midazolam bez ovlivnění kardiopulmonálních parametrů.

Oxytocin, vazopresin

Působí sedací i při intramuskulární aplikaci. Celkový účinek je však slabší než při podání nosem. Jak jsme zjistili v pokusech na králících, oxytocin nepotencuje sedativní účinek midazolamu!

Ovlivnění nástupu účinku zvoleným místem

V pokusech na opicích makak rhesus jsme prokázali při kombinaci medetomidin-ketamin výrazné urychlení nástupu účinku při injekci do m.deltoideus než při m.gluteus maximus. Také přidání hyázy vede k výraznému urychlení resorpce a tím urychlení nástupu účinku.

Hodnocení dosažení vedlejších neplánovaných výsledků:

Nespecifičtí antagonisté

Prokázali jsme, že psychomotorické zotavení lze urychlit intramuskulárním podáním nespecifických antagonistů např. etilefrinu, efedrinu, cirkulačního agonisty doxapramu, flumazenilu nebo naloxonu.

Opioidy a současná aplikace specifických antagonistů

V pokusech na králících jsme prokázali, že velmi vysoké dávky opioidů s velmi nízkými dávkami specifických antagonistů vedou k velmi rychlé imobilizaci bez ovlivnění kardiopulmonálních parametrů.

5. Závěr

Projekt naplnil očekávané přínosy a dopady v oblasti bezpečnosti a cílů stanovených Programem. Výsledkem experimentálních metod na zvířatech v rámci aplikovaného výzkumu jsou podklady pro inovace postupů analgosedace a anestezie v humánní medicíně katastrof a při mimořádných situacích.

Pokusy na zvířatech potvrdily naši hypotézu v zadání projektu. Výsledky z pokusu na zvířatech jsou již implementovány v klinické praxi u člověka v podmínkách medicíny katastrof, akutní medicíny a při premedikaci malých dětí (viz přílohy – Smlouvy o využití). Řešením projektu byla tedy jasně naplněna priorita resortního programu - akutní medicína - rozvoj traumatologie a resuscitace.

Nové způsoby aplikace tradičních látek představují v současnosti významnou cestu dalšího výzkumu. Jsou výhodné pro osoby, u kterých se používají: jsou méně invazivní, přinášejí menší rizika a komplikace ve srovnání s parenterálními způsoby podání, mohou být i levnější a přitom poskytují srovnatelný či někdy i lepší účinek. Jsou výhodné pro uživatele: jejich použití je snazší v krizových situacích, nástup je rychlý, titrace účinku je možná a po schválení mohou být podávána i nelékařskými zdravotnickými pracovníky. Konečně při současných globálních hrozbách jsou výhodné i pro společnost: v případě hromadných neštěstí či katastrof umožňují po záchviku použití i nezdravotnickými pracovníky integrovaného záchranného systému.

Experimenty probíhaly na králících a opicích druhu makak rhesus chovaných v Biotestu Konárovice, a.s. V rámci projektu jsme testovali nejprve farmaka již používaná anesteziology v tradičních způsobech aplikace, jako je fentanyl, midazolam nebo ketamin, ale věnovali jsme se i výzkumu uplatnění netradičních látek (skopolamin), alfa-2-sympatomimetika. Kromě nejčastěji používané nazální aplikace a vzácněji bukové aplikace jsme zaměřili svoji pozornost na konjunktivální aplikaci farmak. Zde nás zajímalo kromě rychlosti nástupu účinku a ovlivnění kardiorespiračních parametrů i možnost iritace spojivky.

Jak již bylo uvedeno výše, dosažené výsledky experimentů jsou zvláště při konjunktivální aplikaci zcela originální. Experimentální výsledky s netradičními způsoby aplikace představují pestrou paletu nových možností využití anestetik v blízké budoucnosti. Některá farmaka, např. remifentanyl začíná být testován na základě našich výsledků v klinice nazálně nebo sublinguálně, podobně jako je to u hormonu oxytocinu (viz příloha smluv o využití). Samozřejmě na prvním místě je jejich uplatnění v akutní medicíně, v záchranné službě, na oddělení urgentních příjmů i v medicíně katastrof. Po jejich ověření pak mohou být využívány v případě potlačení agresivního chování a ke zklidnění panické reakce.