



Makak rhesus (*Macaca mulatta*)
Rhesus macaque (*Macaca mulatta*)

Foto/Photo by V. Motyčka

Je účelná imobilizace primátů kombinací dvou disociativních anestetik?

Is it practical to immobilize primates with a combination of two dissociative anaesthetics?

LADISLAV HESS
PEM IKEM

Úvod

Při imobilizaci primátů je často používáno disociativní anestetikum ketamin (BRACK et al, 1995). Většinou je kombinován s alfa₂ agonisty xylazinem nebo nověji medetomidinem. Nástup účinku je rychlý a výborná je i kardiorepirační stabilita (Erdhardt et al, 2004).

Tiletamin je další přípravek ze skupiny disociativních anestetik. Je přibližně 2–3× anesteticky silnější než ketamin a jeho účinek je 2× tak dlouhý (Tiletamin Data Sheet). Je často kombinován s benzodiazepinem zolazepamem v preparátech Tilest, Telazol a další. Přiimobilizaci kočky nebo psa a také prasete byl ketamin kombinován s tiletaminem (Thurmon Smith 2007, Palmones et al. 2009).

Je otázka, zda je tato kombinace dvou disociativních anestetik výhodná. Proto jsme se rozhodli srovnat imobilizaci při použití různých anestetik u dvou skupin makaků rhesusů (*Macaca mulatta*). První skupina byla imobilizována kombinací tiletamin – zolazepam ve vyšší dávce spolu s hyázou, druhá skupina pak kombinací tiletamin – zolazepam – ketamin – hyáza. Zajímala nás rychlost nástupu účinku, kardiorepirační parametry v průběhu imobilizace a hlavně rychlost psychomotorického zotavení.

Materiál a metodika

Testování účinku jednotlivých farmak a jejich kombinací 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 zvážili. Zaznamenali jsme věk a pohlaví. Následně jsme vypočítali dávkování farmaka nebo jeho kombinace pro určité zvíře a připravili injekční stříkačku s roztokem anestetika.

Po odchycení do podběráku a manuální fixaci jsme zvířatům aplikovali farmaka do musculus deltoideus. První skupina byla imobilizována kombinací tiletamin – zolazepam (Zoletil-Virbac) ve vyšší dávce spolu s hyaluronidázou (Hylase Dessau), druhá skupina pak kombinací tiletamin – zolazepam – ketamin (Narketan-Vétoquinol) – hyáza. Ihned po aplikaci jsme zapnuli 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, poklesem hlavy a určili jsme čas prvních známek ztráty koordinace pohybu – ataxie.

Zaznamenali jsme imobilizační čas (čas od aplikace farmaka ke ztrátě reflexu polohy) a čas ztráty úchopového reflexu. 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 pokusné zvíře vyjmuli z klece, připojili jsme měřicí přístroje a začali monitorovat srdeční frekvenci a stupeň saturace hemoglobinu kyslíkem pulsním oximetrem (Nonin-USA) a měřit nekrvavým oscilometrickým způsobem (Memoprint, Německo) krevní tlak v 5min. intervalech. Čidlo pulsního oximetru bylo umístěno na prstech nebo na horním rtu bukalní sliznice zvířat.

Jednotlivá zvířata jsme nechali spontánně zotavit a zaznamenali jsme první známky pokusů o posazení v kleci.

Při analýze výsledků bylo použito statistické vyhodnocení. K deskriptivní analýze popsanych výsledků jsme použili aritmetického průměru všech měřených veličin a k tomu standardní odchylku, která je důležitým ukazatelem pro šíři rozptylu hodnot kolem aritmetického průměru. Ke zjištění statistických rozdílů mezi jednotlivými hodnotami v určité skupině zvířat a mezi skupinami jsme použili Anova test.

Výsledky

Tiletamin – zolazepam 3 mg/kg – hyaluronidáza (150 m.j.)

Nástup účinku byl za $47,1 \pm 11,6$ s, imobilizační čas byl $92,5 \pm 17,1$ s současně se ztrátou úchopového reflexu. Saturace hemoglobinu kyslíkem byla $95,4 \pm 3,6$ % ve 3. minutě a v průběhu imobilizace se držela na těchto hodnotách, takže byla v 10. minutě $95,8 \pm 2,9$ % a ve 20. minutě $96,3 \pm 2,3$ %. Tepová frekvence klesla z $183,3 \pm 19,3$ ve 3. minutě na $168,4 \pm 16,7$ tepů/min v 10. minutě a $152,5 \pm 14,8$ tepů/min ve 20. minutě. Systolický krevní tlak byl ve 3. minutě $127,9 \pm 7,6$ torrů a klesl na $113,5 \pm 6,3$ torrů v 10. minutě a $113,1 \pm 11,0$ torrů ve 20. minutě. Hodnoty diastolického krevního tlaku byly $75,5 \pm 5,5$ torrů (3. min) a klesly v 10. minutě na $65,6 \pm 8,4$ torrů a $65,6 \pm 5,2$ ve 20. minutě. Střední arteriální krevní tlak klesl z $94,0 \pm 5,4$ torrů ve 3. minutě na $82,3 \pm 6,3$ torrů v 10. minutě a $82,8 \pm 6,9$ torrů ve 20. minutě. K probuzení bez podání specifického antagonisty došlo v průměru za $81,9 \pm 7,6$ min.

Tiletamin – zolazepam 1 mg/kg – ketamin 1 mg/kg – hyaluronidáza (150 m.j.)

K nástupu účinku došlo za $61,6 \pm 12,3$ sekund, imobilizační čas byl $156,4 \pm 19,8$ s a ke ztrátě úchopového reflexu došlo za $172,9 \pm 35,4$ sekund. Saturace hemoglobinu kyslíkem klesla z $97,3 \pm 2,0$ % na $96,4 \pm 1,8$ % v 10. minutě a $95,7 \pm 3,0$ % ve 20. minutě. Tepová frekvence byla ve 3. minutě $171,4 \pm 12,0$ tepů/min a klesla na $156,6 \pm 11,0$ tepů/min v 10. minutě a $138,1 \pm 12,5$ tepů/min ve 20. minutě.

Systolický krevní tlak klesl z hodnot $117,3 \pm 11,98$ torrů na $107,0 \pm 7,4$ torrů v 10. minutě a na $106,7 \pm 7,2$ torrů ve 20. minutě. Diastolický krevní tlak klesl z výchozích $68,5 \pm 7,3$ torrů na $60,9 \pm 6,2$ torrů v 10. minutě a $59,0 \pm 5,3$ torrů ve 20. minutě. Střední arteriální tlak klesl z výchozích $86,0 \pm 8,1$ torrů ve 3. minutě na $77,4 \pm 6,7$ torrů v 10. minutě a $75,9 \pm 5,7$ torrů ve 20. minutě. K probuzení bez podání specifického antagonisty došlo v průměru za $29,4 \pm 6,6$ min ($p < 0,001$).

Diskuse

Výsledky ukázaly, že kombinace nízkých dávek tiletaminu a ketaminu vedla k uspokojivé imobilizaci s malým ovlivněním kardiopulsačních parametrů.

Samotný tiletamin – zolazepam v dávce 1 mg/kg vede v kombinaci s hyázou pouze k silné sedaci s úplnou ztrátou agresivity, samotný ketamin v dávce 1 mg/kg i.m. pouze k malým změnám chování s mírnou sedací (zde nepublikováno). Kombinace obou farmak v uvedeném dávkování vede tedy k efektivní imobilizaci. Patrně se zde uplatňuje aditivní účinek obou disociativních anestetik.

Nástup účinku byl u tiletaminu – zolazepamu spolu s hyázou skoro 2× rychlejší než u kombinace tiletamin – zolazepam – ketamin – hyáza. Obě indukce však byly rychlé, v prvním případě 1 minuta 25 s, ve druhé skupině v průměru 2,5 minuty. Velké rozdíly však byly v rychlosti zotavení. Makakové začali zvedat hlavu při aplikaci samotného Zoletilu v průměru za 80 minut. Při kombinaci tiletamin – zolazepam (Zoletil) – ketamin za pouhých 35 minut. Kardiopulsační parametry byly srovnatelné.



Zolazepam v kombinaci s tiletaminem vede ke svalové relaxaci. Celkový pohled.
Zolazepam combined with tiletamine leads to muscle relaxation. Overall view.

Foto/Photo by L. Hess



Kardiorespirační parametry (saturace hemoglobinu kyslíkem a tepová frekvence zůstávají při kombinaci telazolu s ketaminem v nízkých dávkách ve fyziologických mezích
Cardiorespiratory parameters (haemoglobin oxygen saturation and pulse rate) remain within physiological limits with a combination of Telazol and ketamine at low doses

Foto/Photo by L. Hess



Charakteristický znak disociativní anestezie – oči zůstávají otevřené i v průběhu imobilizace
characteristic feature of dissociative anaesthesia – the eyes remain open during immobilization Foto/Photo by L. Hess

U větších druhů primátů, včetně lidoopů, je nezanedbatelný i objem injikovaného roztoku. Při podání ketaminu v dávce 5 mg/kg spolu s medetomidinem v dávce 25 ug/kg je u 60kg šimpanze objem 4 ml, při kombinaci tiletaminu s ketaminem je to pouhých 2,2 ml, tedy přibližně polovina. Při kombinaci s ketaminem se výrazně redukovala jeho dávka a tím i délka účinku.

Zbývá vysvětlit, v čem spočívá pozitivní účinek kombinace dvou disociativních anestetik, přesná odpověď ale není zatím známa. Hlavním místem působení obou disociativních anestetik jsou NMDA receptory (N-metyl-D-aspartát) z excitačním neurotransmiterem glutamátem. NMDA receptory zprostředkují celou řadu fyziologických funkcí, mimo jiné se podílejí na mechanismech učení a paměti. Jako většina receptorů mají i tyto receptory různé subjednotky a proto různé druhy disociativních anestetik se váží s různou afinitou na tyto subjednotky. Výsledkem jsou různé klinické účinky (Sinner, Graf 2008).

Na základě těchto výsledků lze při imobilizaci primátů doporučit kombinaci dvou disociativních anestetik.

Souhrn

K anestezii primátů jsou často používána disociativní anestetika, zejména ketamin. Většinou je kombinován s alfa₂ agonisty xylazinem nebo nověji medetomidinem. Nástup účinku je rychlý, výhodou je výborná kardiorepirační stabilita. Při imobilizaci lidoopů je však nutno aplikovat vysoký objem látky. Naskýtá se proto použití dalšího disociativního anestetika tiletaminu, který je 2–3× anesteticky silnější než ketamin. Je kombinován s benzodiazepinem zolazepamem v preparátu Tilest nebo Telazol a účinek je nejméně 2x delší než u ketaminu. Otázkou je proto vzájemná kombinace dvou disociativních anestetik tiletaminu a ketaminu. Proto jsme se rozhodli srovnat imobilizaci u dvou skupin makaků rhesusů (*Macaca mulatta*) za použití různých kombinací anestetik. První skupina byla imobilizována kombinací tiletamin – zolazepam ve vyšší dávce spolu s hyázou, druhá skupina byla imobilizována kombinací tiletamin – zolazepam – ketamin – hyáza. Zajímala nás rychlost nástupu účinku, kardiorepirační para-

metry v průběhu imobilizace a hlavně rychlost psychomotorického zotavení. Farmaka jsme aplikovali do musculus deltoideus po odchycení do podběráku a manuální fixaci. Ihned po vypuštění do malé klece jsme sledovali změny chování, zaznamenali první známky sedace a také první známky zhoršení koordinace pohybu – ataxie. Zaznamenali jsme imobilizační čas (čas od aplikace anestetika k ztrátě reflexu polohy) a čas ztráty úchopového reflexu (často přetrvává při imobilizaci). Jakmile jsme makaka 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 5minutových intervalech. Čidlo pulsního oximetru bylo umístěno na prstech nebo na horním rtu bukalní sliznice pokusných zvířat. U jednotlivých zvířat jsme zaznamenávali první známky probouzení, zaujmutí prsní polohy, pokusy o zvednutí hlavy a posazení. K analýze výsledků jsme použili statistickou metodu – ANOVA test. Nástup účinku byl u samotného tiletaminu – zolazepamu spolu s hyázou skoro 2× rychlejší než u kombinace tiletamin – zolazepam – ketamin– hyáza. Obě indukce však byly rychlé, v prvním případě 1 minuta 25 sec., ve druhé skupině v průměru 2,5 minuty. Velké rozdíly však byly v rychlosti zotavení. Makakové začali zvedat hlavu při aplikaci samotného Zoletilu v průměru za 80 minut; při kombinaci tiletamin – zolazepam s ketaminem však za pouhých 35 minut. Kardiiorespirační parametry byly srovnatelné. U větších druhů primátů včetně lidoopů je nezanedbatelný i objem injikovaného roztoku. Při podání ketaminu v dávce 5 mg/kg spolu s medetomidinem v dávce 25 ug/kg je u 60kg šimpanze objem 4 ml, při kombinaci tiletaminu s ketaminem je to pouhých 2,2 ml, tedy přibližně polovina. Při kombinaci s ketaminem se výrazně redukovala jeho dávka a tím i délka účinku. Výsledky ukázaly, že lze kombinovat spolu dvě disociativní anestetika. Vysvětlení patrně spočívá v tom, že NMDA receptory mají různé subjednotky, na které se váží s různou afinitou obě disociativní anestetika a výsledkem je synergický účinek. Na základě těchto výsledků lze při imobilizaci primátů, zejména lidoopů, doporučit kombinaci dvou disociativních anestetik.

Napsáno s přispěním grantů VG20102015041 a VG20102015014.



Makak rhesus (*Macaca mulatta*)
Rhesus macaque (*Macaca mulatta*)

Foto/Photo by V. Motyčka

LITERATURA - RERERENCES

- PALMONES P. J. B., ABALOS J. H. A., MANIGBAS E. P. (2009): Effects of Using Tiletamine – Zolazepam With or Without Ketamine and/or Xylazine for Anesthesia in Cats. *Philipp. J. Vet. Med*, 46, 53–60.
- WILLIAMS L. S., LEVY J. K., ROBERTSON S. A. (2002): The use of tiletamine – zolazepam – ketamine – xylazine anesthesia for feral cat sterilization. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 29, 97–112.
- BRACK M., GÖLTENBOTH R., RIETSCHEL W.: Primaten. In *Krankheiten der Zoo und Wildtiere*. Herausgegeben GÖLTENBOTH R., und KLÖS H. G. Blackwell Wissenschafts Verlag Berlin 1995, Oxford, Edinburgh, Boston, London, Melbourne, Paris, Wien, Yokohama, 25–66.
- SINNER B., GRAF B. M. (2008): Ketamine. In *Modern Anesthetics*, Ed: SCHÜTTLER J., SCHWILDEN H. Springer Verlag Berlin Heidelberg, 313–333
- ERHARDT W., HENKE J., HABERSTROH J. (2004): Anästhesie & Analgesie beim Klein- und Heimtier sowie bei Vögeln, Reptilien, Amphibien and Fischen. Schattauer Stuttgart New York. 900 s.
- OLBERG R. A., (2007): Monkeys and Gibbons. In Ed: WEST G., HEARD D., CAULKETT N. *Zoo animal and wildlife immobilization and anesthesia*. Blackwell Publishing. 375–386
- HUI-CHU LIN (2007): Dissociative Anesthetics. In *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia*. Ed: TRANQUILLI W. J., THURMON J. C., GRIMM K. A. Four Edition. Blackwell Publishing. 301–353
- THURMON J. C., SMITH G. W. (2007): Swine. In *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia* Ed: TRANQUILLI W. J., THURMON J. C., GRIMM K. A. Four Edition. Blackwell Publishing. 747–763.
- TILETAMINE-MANUFACTURES DATA SHEET 2004

SUMMARY

Dissociative anaesthetics, especially ketamine, are often used to anaesthetise primates. It is mostly combined with the α_2 agonist xylazine or, more recently, with medetomidine. The onset of the effect is rapid; one advantage is excellent cardiorespiratory stability. However, when immobilising apes, it is necessary to apply a high volume of the substance. Therefore, another dissociative anaesthetic, tiletamine, is now being used. It is 2-3 times anaesthetically stronger than ketamine. When combined with the benzodiazepine zolazepam in Tilest or Telazol the effect is at least twice as long as that with ketamine. Thus the question arises about the mutual combination of two dissociative anaesthetics - tiletamine and ketamine. Therefore, it was decided to compare the immobilization in two groups of rhesus macaques (*Macaca mulatta*) using various combinations of anaesthetics.

The first group was immobilized with a combination of tiletamine - zolazepam in a higher dose together with hyase; the second group was immobilized with a combination of tiletamine - zolazepam - ketamine - hyase. The speed of the effect's onset, the cardiorespiratory parameters during immobilization and, in particular, the rate of psychomotor recovery were of interest. The pharmaceutical was applied to the musculus deltoideus after capture in a handling net and manual fixation. Immediately after being released into a small cage, changes in behaviour were monitored and the first signs of sedation were recorded as were the first signs of a worsening in the coordination of movement - ataxia.

The immobilization time was recorded (time from applying the anaesthetics to the loss of the righting reflex) and the time for the loss of the grip reflex (often lingers during immobilization). As soon as the macaque was removed from the cage, measuring instruments were connected to monitor the heart rate and the degree of the haemoglobin's oxygen saturation, using a pulse oximeter, and blood pressure was measured at 5 minute intervals in an indirect oscillometric manner. A pulse oximeter sensor was placed on the fingers or upper lip of the experimental animals' buccal mucosa. The first signs of awakening, breast positioning, attempts to lift the head and sit were recorded for each animal.

The results were analysed using the ANOVA test statistical method. The onset of the effect with just tiletamine - zolazepam plus hyase was almost twice as fast as using a combination of tiletamine - zolazepam - ketamine - hyase. Nevertheless, both inductions were rapid, in the first case 1 minute 25 sec, in the second group an average of 2.5 minutes. However, there were big differences in the recovery rate. After applying Zoletil alone the macaques began to raise their heads on average after 80 minutes; with a combination of tiletamine - zolazepam - ketamine it was just 35 minutes. Cardiorespiratory parameters were comparable.

For larger primate species, including apes, the volume of the injected solution is also insignificant. When administering 5 mg/kg of ketamine together with 25 ug/kg of medetomidine, the volume for a 60 kg chimpanzee is 4 ml, whilst for a combination of tiletamine and ketamine it is only 2.2 ml, i.e. approximately half. When combined with ketamine, its dosage and the duration of the effect are significantly reduced. The results show that two dissociative anaesthetics can be combined. The explanation seems to be that the NMDA receptors have different subunits that both dissociative anaesthetics have different affinities for binding to, thus resulting in a synergistic effect. On the basis of these results, it is possible to recommend a combination of two dissociative anaesthetics when immobilizing primates, especially apes.