



# PŘEHLED TOXIKOLOGICKÝCH DAT OXIDU DUSNÉHO

**MGC 153/08/CZ**

Odborný překlad proveden pracovní skupinou PS - 5 ČATP

**EUROPEAN INDUSTRIAL GASES ASSOCIATION  
(EVROPSKÁ ASOCIACE PRŮMYSLOVÝCH PLYNŮ)**

AVENUE DES ARTS 3-5 • B – 1210 BRUSSELS

Tel : +32 2 217 70 98 • Fax : +32 2 219 85 14

E-mail: [info@eiga.eu](mailto:info@eiga.eu) • Internet: <http://www.eiga.eu>

**ČESKÁ ASOCIACE TECHNICKÝCH PLYNŮ**

U Technoplynu 1324, 19800 Praha 9

Tel: +420 272 100 143 • Fax: +420 272 100 158

E-mail : [catp@catp.cz](mailto:catp@catp.cz) • Internet : <http://www.catp.cz>



MEDICINÁLNÍ PLYNY

**PŘEHLED TOXIKOLOGICKÝCH DAT  
OXIDU DUSNÉHO**

MGC 153/08/E

**EVROPSKÁ ASOCIACE PRŮMYSLOVÝCH PLYNŮ AISBL**   
AVENUE DES ARTS 3-5 • B-1210 BRUSSELS  
Telefon: +32 2 217 70 98 • Fax: +32 2 219 85 14  
E-mail: [info@eiga.eu](mailto:info@eiga.eu) • Internet: <http://www.eiga.eu>



# PŘEHLED TOXIKOLOGICKÝCH DAT OXIDU DUSNÉHO

## ZPRACOVAL:

Dr. Paul Brantom

Konzultant EIGA

### ODMÍTNUTÍ ODPOVĚDNOSTI

Všechny technické publikace EIGA a pod jménem EIGA včetně Sbírek praktických postupů, Bezpečnostních postupů a všechny další technické informace v takových publikacích obsažené byly získány ze zdrojů, které považujeme za spolehlivé a zakládají se na informacích a zkušenostech, které jsou běžně k dispozici od členů asociace EIGA a od dalších k datu vydání těchto publikací a informací.

I když asociace EIGA doporučuje svým členům používat své publikace nebo se na ně odkazovat je takové používání publikací asociace EIGA nebo odkaz na tyto publikace členy asociace nebo třetími stranami čistě dobrovolné a nezávazné.

Tedy asociace EIGA a členové asociace EIGA neposkytují řádnou záruku na výsledky a nepřebírají žádnou odpovědnost či ručení v souvislosti s odkazem na informace nebo doporučení a s používáním informací a doporučení obsažených v publikacích asociace EIGA.

Asociace EIGA nemá žádnou kontrolu na čímkoliv, pokud se jedná o provádění nebo neprovádění, chybnou interpretaci, správné nebo nesprávné používání jakýchkoliv informací a doporučení obsažených v publikacích asociace EIGA ze strany osob nebo organizačních jednotek (včetně členů asociace EIGA) a asociace EIGA výslovně v této souvislosti odmítá jakoukoliv odpovědnost.

Publikace asociace EIGA jsou podrobovány periodickému přezkoumávání a uživatelé jsou upozorňováni, aby si získali poslední vydání.

## Obsah

1.	<u>Úvod</u> .....	5
2.	<u>Rozsah</u> .....	5
3.	<u>Účel</u> .....	5
4.	<u>Přehled o oxidu dusném</u> .....	5
4.1.	<u>Rozsah přehledu</u> .....	6
4.1.1	<u>Efekty reprodukční – působení na vznik vývojových defektů a neplodnost</u> ... 6	6
4.1.2	<u>Možnost karcinogenního působení / genotoxicita</u> .....	6
4.1.3	<u>Hematologické a imunologické efekty</u> .....	6
4.1.4	<u>Neurologické účinky</u> .....	6
4.1.5	<u>Zhodnocení vystavení se působení</u> .....	7
5.	<u>Vystavení se působení při výkonu povolání</u> .....	7
5.1.	<u>Souhrn</u> .....	7
5.2.	<u>Podrobné prošetřování</u> .....	7
5.3.	<u>Pojednání publikovaná do roku 1980</u> .....	8
5.4.	<u>Pojednání publikovaná mezi léty 1981 a 1990</u> .....	9
5.5.	<u>Pojednání publikovaná po roce 1991</u> .....	10
5.6.	<u>Reference o vystavení se působení oxidu dusného</u> .....	11
5.7.	<u>Identifikované reference o vystavení se působení oxidu dusného, avšak vyřazené z přezkoumávání</u> .....	12
6.	<u>Mechanismus toxicity oxidu dusného a syntázy metioninu</u> .....	13
6.1.	<u>Souhrn</u> .....	13
6.2.	<u>Podrobné přezkoumávání</u> .....	14
6.3.	<u>Reference o mechanismu</u> .....	17
6.4.	<u>Identifikované reference o mechanismu (avšak vyloučené z prošetřování)</u> .....	17
7.	<u>Účinky na roznožování</u> .....	17
7.1.	<u>Souhrn</u> .....	17
7.1.1	<u>Teratogenicita (Působení na vznik vývojových defektů)</u> .....	17
7.1.2	<u>Ztráta plodu a spontánní potrat</u> .....	17
7.1.3	<u>Použití anestézie s použitím N<sub>2</sub>O během těhotenství</u> .....	18
7.1.4	<u>Plodnost</u> .....	18
7.1.5	<u>Všeobecné poznámky</u> .....	19
7.2.	<u>Teratogenicita a plodová toxicita</u> .....	19
7.2.1	<u>Teratogenicita a plodová toxicita nikoliv klinická data</u> .....	19
7.2.2	<u>Teratogenicita a plodová toxicita – Podrobný přehled</u> .....	20
7.2.3	<u>Teratogenicita a fetální toxicita – Klinické údaje</u> .....	26
7.3.	<u>Účinky na chování</u> .....	33
7.3.1	<u>Účinky na chování – nikoliv klinická data</u> .....	33
7.3.2	<u>Účinky na chování – klinická data</u> .....	35
7.4.	<u>Účinky na plodnost</u> .....	35
7.4.1	<u>Účinky na plodnost – nikoliv klinické údaje</u> .....	35
7.4.2	<u>Účinky na plodnost – klinické údaje</u> .....	38
7.4.3	<u>Reference toxicity ohledně reprodukce</u> .....	41
8.	<u>Hematologické a imunologické účinky</u> .....	43
8.1.	<u>Souhrn</u> .....	43
8.2.	<u>Neklinické údaje</u> .....	43
8.2.1	<u>Přehled</u> .....	43

<a href="#">8.2.2</a>	<a href="#">Podrobné přezkoumávání</a> .....	43
<a href="#">8.2.3</a>	<a href="#">Klinické údaje</a> .....	45
<a href="#">8.2.4</a>	<a href="#">Reference hematologie a imunologie</a> .....	49

## Úvod

Oxid dusný se po dobu více jak 150 let tradičně používá jako anestetický, znečlivění působící plyn a v současné době se také používá jako analgetický, bolest utiňující plyn v předem namíchané směsi s lékařským kyslíkem. Oxid dusný představuje velmi bezpečný plyn z hlediska podávání pacientům k anestetickým účelům, je však třeba dbát o to, aby bylo zajištěno, že zdravotničtí odborníci podávající tento plyn nebyli stále vystaveni ve svém pracovním prostředí vysokým úrovním oxidu dusného.

Pro prostředí, kde se podává oxid dusný nebo plynné směsi oxidu dusného, byly během let vyvinuty odsávací systémy, jejichž účelem bylo udržet úroveň tohoto plynu v pracovním prostředí pod národně stanovenými hladinami. Úroveň vystavení se působení při výkonu povolání (OEL), které jsou v každé zemi specifikované, se mění, ale jsou ustavené tak, že se pohybují mezi hodnotami 25 ppm a 100 ppm, přičemž toto se měří po dobu 8 hodin.

Za posledních třicet let byla publikována řada klinických pojednání poskytujících informace o nebezpečích, kterým jsou vystaveni zdravotničtí odborní pracovníci a pacienti tím, že jsou vystaveni různým úrovním oxidu dusného po různá časová období. Tyto informace nejsou konzistentní pokud se jedná o doporučení z nich vyplývajících a v extrémních případech z nich vyplývají doporučení, že oxidu dusného by se pro lékařské účely nemělo používat. Ke zpracování tohoto dokumentu dala pověření Rada lékařských plynů asociace EIGA, aby tak byl zajištěn nezájatý a nestranný pohled na příslušné bezpečnostní požadavky na bezpečné používání oxidu dusného. Tyto informace se týkají jak mezních hodnot expozice resp. tedy vystavení se působení u pacientů tak požadavků na pracoviště, kde odborní zdravotničtí pracovníci tento plyn používají.

Informace uvedené v tomto dokumentu, který zpracoval Dr. Paul Brantom, jsou založené na publikované literatuře a nebyly provedeny žádné nové studie. Před přípravou tohoto dokumentu byla provedena literární rešerše, aby tak byla identifikována všechna pojednání, která na toto téma byla publikována. Tento dokument se nepokouší popírat Úroveň vystavení se působení při výkonu povolání (OEL), které jsou specifikované v různých zemích v rámci EU, ale indikuje důsledky práce při těchto úrovních. Tento dokument také nespecifikuje typ zařízení či vybavení, které se bude používat k udržení úrovně v pracovních prostředích na příslušných úrovních. Tyto informace jsou specifikované v rámci příslušných mezinárodních norem a národních norem, jako je Část 2 normy Potrubí pro lékařské plyny (ISO 7396 – Potrubní systémy lékařských plynů, Část 2: Systémy likvidace anestetických plynů odsáváním).

## Rozsah

Rozsah tohoto dokumentu pokrývá přehled o použití oxidu dusného v místech poskytování této zdravotní péče, kde se tento plyn podává jako anestetický plyn a jako plyn analgetický, pro utišení bolesti. Jedná se v tomto případě o souhrn informací publikovaných v lékařských časopisech, kdy tyto informace se týkaly efektů vyplývajících z vystavení se účinku hladin oxidu dusného, aby tak byla ukázána bezpečnost výrobku jak pro pacienty tak pro odborné zdravotnické pracovníky.

Tento dokument nepojednává o metodách odsávání či čištění plynu při jeho použití v rámci lékařských procesů, ani nedoporučuje nějaké specifické meze vystavení se působení při výkonu povolání pro ty pracovníky, kteří tento plyn podávají v prostředí, kde je taková zdravotní péče poskytována.

## Účel

Tento dokument poskytuje informace pro odvětví lékařských plynů, aby tak svým zákazníkům poskytlo informace pro identifikaci rizik spojených s vystavením se působení oxidu dusného v pracovním prostředí a indikuje potřebu přijmout příslušná odpovídající bezpečnostní opatření k udržení hladin pod takovými, které jsou v národním měřítku ustavené.

## Přehled o oxidu dusném

Vzhledem k záležitostem, které se týkají možných rizik, která jsou spojená s vystavením se působení oxidu dusného a vzhledem k chybějícímu přehledu dat, která jsou v tomto ohledu k dispozici, souhlasí Evropská asociace průmyslových plynů (EIGA) s podporou přípravy takového přehledu.

Bylo zjištěno, že došlo k řadě specifických situací tohoto se týkajících, na které by takový přehled měl být aplikován. Tyto byly identifikovány jako:

- Efekty normálního vystavení se působení při výkonu povolání a to zvláště s ohledem na možnost vlivu na reprodukci, rozmnožování,
- Efekty vystavení se působení u těhotných žen a to v důsledku chirurgie během těhotenství.
- Efekty použití jak analgetik tak anestetik.

Rozsah přehledu je v plné míře uveden v Dodatku 1, avšak hlavní podrobnosti jsou uvedené níže:

## Rozsah přehledu

Báze dat publikovaných toxikologických informací byla nashromážděna společností BOC po provedení vyčerpávajícího, komplexního přezkoumávání datovýchází Medline a Embase. Tato báze dat byla přezkoumávána a byla doplněna po vyhledávání ze strany Dr. Paula Brantoma, konzultanta v oblasti toxikologie (s připojením CV), s použitím internetových vyhledávacích prostředků týkajících se toxikologie (v první řadě se jedná o Toxnet, což bylo doplňováno přímým vyhledáváním specifických míst, stránek, jako je WHO, data vládní agentury US). Z této vyčerpávající báze dat publikovaných informací byla přechodně vybrána pojednání, aby tak byl poskytnut souhrn o známých toxikologických efektech oxidu dusného. V takových případech, kdy pojednání či referáty nebyly vybrány pro toto přezkoumávání a provádění kritického rozboru, pak příslušný důvod jejich odmítnutí byl dokumentován s použitím standardizovaných kritérií.

Toto kritické přezkoumávání bylo rozděleno do kategorií podle efektů, přičemž byly odděleny informace, které byly získané ze studií in vitro, ze studií prováděných na zvířatech a ze studií prováděných na lidech. Pro každý z efektů bude generován souhrn a budou generovány příslušné závěry a to kromě hlubokého přezkoumávání. Toto přezkoumávání se bude zvláště tedy snažit popsat jakékoliv takové důkazy, kde se bude jednat o vystavení se působení při vykonávání povolání, které by mohlo být spojené s nějakým významnějším nebezpečím:

Z předběžných prošetřování báze dat byly identifikované oblasti studie efektů oxidu dusného, jak je uvedeno v následujícím:

### **Efekty reproduktivní – působení na vznik vývojových defektů a neplodnost**

V roce 1995 Výbor toxicity ministerstva zdravotnictví (COT) prověřoval účinky oxidu dusného na reprodukci na žádost Exekutivy Spojeného království pro zdraví a bezpečnost (HSE) a odvodil, že se tu nejedná o žádnou nepříznivou hladinu efektů (NOAEL), pokud se jedná o efekty na krysách. Tato žádná nepříznivá hladina efektů NOAEL byla potom extrapolována na bezpečnou pracovní úroveň rovnající se 100 ppm. Od tohoto kritického přezkoumávání byly publikovány další studie a tyto studie byly předmětem prošetřování ohledně jakýchkoliv dopadů na původně uvedené závěry. Názor COT byl též předmětem takového přezkoumávání, aby tak bylo zajištěno, příslušné závěry jsou pevné, založené na citovaných údajích. Jestliže se uvažuje, že toto by mohlo napomoci objasnění, pak tedy teratogenní efekty, tedy efekty působící na vznik vývojových defektů budou přezkoumávané odděleně od takových efektů, které se vztahují k infertilitě či tedy neplodnosti. Zvláštní pozornost v tomto případě bude věnována důležitosti vitamínu B<sub>12</sub> (Vit B<sub>12</sub>) a inaktivaci metioninové syntázy MS a to jako možným indikátorům účinků na reprodukci či tedy rozmnožování.

### **Možnost karcinogenního působení / genotoxicita**

Vyšetřování konečných výsledků týkajících se genotoxicity byla uvedena u lidí se smíšeným vystavením se působení anestetických plynů. Zdá se, že výsledky jsou smíšené a tato informace bude vyhodnocena na specifickou důležitost ohledně lidského vystavení se působení oxidu dusného.

### **Hematologické a imunologické efekty**

Byly identifikované studie efektů na krev a na imunní odezvy u živočichů a tyto budou vyhodnoceny, aby se tak určitě a zhodnotil důkaz pro takové účinky a jestliže takové účinky jsou, aby se posoudila důležitost pro vystavení se lidí takovému působení.

### **Neurologické účinky**

Z jak klinických tak z neklinických studií existuje důkaz o určitém nepříznivém vlivu v případě chronického vystavení se působení oxidu dusného na Centrální nervový systém (CNS) a to mimo a kromě účinků anestetických tedy působících znečitlivění. Bude provedeno vyhodnocení důkazu o takových účincích. Mírné efekty této povahy použila Americká konference průmyslových hygieniků (ACGIH) k odvození bezpečné pracovní úrovně v hodnotě 50 ppm, jak je to popsáno

v základním dokumentu k jejich Mezím vystavení se působení v průběhu vykonávání povolání (OELs), avšak tento dokument má jen jakousi omezenou hodnotu a to vzhledem k tomu, že se jeví z citovaných referencí, že nebyl příslušným způsobem aktualizován nějakým významnějším způsobem již od konce osmdesátých let.

### Zhodnocení vystavení se působení

Mnoho z nedávné době publikovaných prací bylo soustředěno na poskytnutí přesnějších údajů ohledně mezí v souvislosti s expozicí tedy vystavení se působení. Vzhledem k tomu, že znalost skutečných expozic je kritickou záležitostí pro provádění platného posouzení rizik, bude tento soubor informací přizpůsoben takovým způsobem, aby byl poskytnut přehled o běžných znalostech o mezích vystavení se působení a to v různých kontextech.

V průběhu přípravy přezkoumávání byly identifikovány různé další publikace a byly autorovi poskytnuté. Pro jasnost, pojednání či referáty, které nepřispěly k celkovému posouzení nebezpečí, nebyly citované, aby byly zahrnuté do seznamu příslušných referencí a to se stručným komentářem identifikujícím proč tato pojednání byla vyloučena z dalších úvah.

Dokument, jak je uvedeno v následujícím, popisuje prošetřované údaje a poskytuje souhrny takových informací a to v takové formě, která umožňuje různé úrovně přístupu. Pro každý typ účinku pojednání na základě klinických a neklinických dat byla prošetřována podrobným způsobem ve zvláštních částech a současně poskytují kritický komentář o datech a o příslušném vedení a počínání s daty. V hlavě každé z těchto sekcí jsou podrobnosti zhuštěny do přehledu s příslušnými referencemi, přičemž poskytují klíčové či základní skutečnosti, které jsou odvozené od podrobného kritického rozboru. Pod každým typem efektu přináší souhrnná část společně jak klinické tak neklinické informace, bez specifických referencí, avšak jako identifikující klíčové skutečnosti a jakékoliv závěry, které by z toho mohly být učiněny. Na začátku kritického rozboru a prošetřování a to před úvahami o specifických efektech, jsou zahrnuty dvě další části, o vystavení se působení tedy expozici a o příslušném mechanismu, aby tak byl poskytnut široký kontext pro takové podrobně prováděné kritické rozboru a prošetřování.

Souhrny všech částí jsou uvedeny společně ve výkonné, prováděcím souhrnu, který předchází část obsahu.

## Vystavení se působení při výkonu povolání

### Souhrn

Z dat, která jsou k dispozici, je možno vyvodit, že vystavení se působení oxidu dusného při výkonu povolání se v průběhu posledních 25 let významnou měrou snížilo. Toto je hlavně v důsledku toho, že byly zavedeny odtahové, odsávací a větrací systémy ve všech takových situacích, kdy se jednalo o pravidelné použití. Navzdory těmto vylepšením většina posledních prací pojednávajících o monitorování pracovníků personálu, kteří byli vystavení působení účinků oxidu dusného, zjistila, že takováto vystavení působení mohla dosáhnout po krátká časová období dobře hodnot nad 100 ppm a hodnoty více jak 1000 ppm se stále ještě uvádějí. V důsledku toho jsou stále jako často takové situace, kdy dochází k překročení mezní hodnoty expozice vyjádřené jako časově vážený průměr (TWA) o hodnotě 100 ppm, 8 hodin.

Při přezkoumávání dat ohledně potenciálních efektů vystavení se působení, byly brány v úvahu všechny tyto možnosti a to zvláště v takových případech, kde se jevila stejná možnost takových efektů v úrovních nebo blízko úrovní pravděpodobné expozice.

V důsledku očividného nedostatku krátkodobých efektů pod expozicí 500 ppm a pomalého zlepšení zdravotního stavu či obnovy z účinků, jestliže tedy k nim došlo, je to frekvence a doba trvání časových období nad touto úrovní, které jsou pravděpodobně důležitější pro posouzení nebezpečí než je celková hodnota TWA. Zatímco tu není žádný důvod se ptát na běžnou hodnotu vystavení se působení při výkonu povolání (OEL), která je 100 ppm jako časově vážený průměr (TWA), jak se to aplikuje v některých evropských zemích, mohou to být základy pro uvažování mezní hodnoty krátkodobého vystavení se působení (STEL) jako dodatek takové mezní hodnoty.

### Podrobné prošetřování

Země	8 hod TWA ppm	8 hod TWA mg/m <sup>3</sup>	STEL mg/m <sup>3</sup>
Spojené království	100	180	
USA (Americká konference průmyslových hygieniků – ACGIH),	50		
USA (Národní institut pro bezpečnost a zdraví při výkonu povolání – NIOSH).	25		
Austrálie	25		

Švédsko	100	180	900
Francie	25		
<b>Země</b>	<b>8 hod TWA ppm</b>	<b>8 hod TWA mg/m<sup>3</sup></b>	<b>STEL mg/m<sup>3</sup></b>
Dánsko	25		

Tabulka 1 Publikované meze vystavení se působení při výkonu povolání pro N20

OEL pod hodnotou 100 ppm jsou založené na účincích při provádění, jak to pozorovali a uvedli Bruce a spol. v letech sedmdesátých (1970). Tyto studie byly ostře kritizované a navzdory několika pokusům, nebyly výsledky uvedeny, reprodukovány. Toto může napomoci argumentům pro standardizaci OEL k provádění nových studií takových nových výsledků s použitím běžných metodik.

### Pojednání publikovaná do roku 1980

Referáty a pojednání, které jsou v souhrnu uvedené v Tabulce 2 prokazují, že bez použití odsávání, odtahování, meze vystavení se působení by mohly dosti často dosáhnout hodnot více jak 2000 ppm po časová období během pracovního dne. Prospěšnost takového odsávání byla prokázána na základě porovnání různých podmínek v některých studiích, i když pozorované úrovně expozice se mezi jednotlivými studiemi velmi měnily.

Zařízení	Číslo	Vzorek typ 1	Vzorek typ 2	Vzorek typ 3	Střední (rozsah) Vzorek 1 N20 (ppm)	Střední (rozsah) Vzorek 2 N20 (ppm)	Střední (rozsah) Vzorek 3 N20 (ppm)	Reference
Operační sály – s odvětráváním	14 6	Vdechování – Zóna dýchání (30 vteřin)	Vydechování – Koncový respirační vzduch (Průměrně 4 – 6 výdechů)	-	67 (5 – 580)	77 (8-305)		Beynen a spol., 1978
Operační sály – bez odvětrávání	39	Vdechování – Zóna dýchání (30 vteřin)	Vydechování – Koncový respirační vzduch (Průměrně 4 – 6 výdechů)	-	85 (10 – 300)	93 (9-475)		Beynen a spol., 1978
Operační sály bez odsávání	19	Oblast anesthesiologa (10 minut)	Maska anesthesiologa (2 hodiny)	Obvod, okrajová část operačního sálu	189 (60 – 650)	381 (75-1100)	171 (50 – 670)	Davenport a spol., 1980
Operační sály s odsáváním (pasivní)	15	Dýchání anesthesiologa, zóna §	Spodek anestetické aparatury	Obvod, okrajová část operačního sálu	246 (22-680) 274 (54 – 535) †	666 (22 – 1200)	257 (30 – 870)	Mehta a spol. 1978
Operační sály bez odsávání	15	Dýchání anesthesiologa, zóna §	Spodek anestetické aparatury	Obvod, okrajová část operačního sálu	872 (35 – 1870) 1201 (583 – 1932) †	1582 (55 – 3440)	586 (210 – 1020)	Mehta a spol. 1978
Operační sály bez odsávání	7	Pozadí			660 (309 – 1253)			Holliday a spol., 1979
Zubní kliniky	16	Základ s klimatizací	Základ s odsáváním vzduchu	Základ bez kontroly	327 (140-550) (n=9)	25 (15-40) (n=5)	719 (320 – 1118) (n=2)	Holliday a spol., 1979

§ místní vzorek také získán v zaškolovací místnosti a ukazuje vyšší úroveň expozice, než je tomu na operačním sále.

† osobní vzorky, jiné hodnoty jsou pro místní vzorky.

Tabulka 2 Publikované analýzy expozice N20 před rokem 1980

Další údaje o expozicích byly poskytnuty v následujících publikacích, které nejsou vhodné k zahrnutí do shora uvedené tabulky:



**Piziali a spol., (1976)** prokázali, že klimatizovaná operační prostředí a porodní prostředí by mohla dosáhnout základních koncentrací N<sub>2</sub>O menších než 150 ppm.

**Korttila a spol. (1978)** uvedli výsledky měření krve a vydechovaného vzduchu u deseti zdravotních sester, které byly vystaveny hladinám 380 ppm (233 – 436) N<sub>2</sub>O po dobu 4 hodin práce na operačním sále. Vydechovaný vzduch obsahoval 75 µg/l N<sub>2</sub>O okamžitě po ukončení práce a toto pokleslo na hodnotu 8 µg/l N<sub>2</sub>O o 21 hodin později. Krevní hladiny ve stejných okamžicích byly 153 µg/l N<sub>2</sub>O a 18 µg/l N<sub>2</sub>O. Vzorky vydechovaného vzduchu, které byly měřené vždy ráno během pracovního týdne a na konci týdne, tedy v sobotu a v neděli, vykazovaly podobné hladiny, tedy 7 – 22 µg/l N<sub>2</sub>O a neprokázaly žádné hromadění N<sub>2</sub>O v průběhu pracovního týdne.

**Krapez a spol. (1980)** uvádějí výsledky měření N<sub>2</sub>O v krvi anesteziologů, chirurgů a zdravotních sester, kdy v obou případech se jedná o situaci bez aplikace žádných bezpečnostních opatření a s pasivním odtahováním a to v porovnání s koncentracemi zóny dýchání, které byly získávány prostřednictvím místního odebrání vzorků po 60 vteřinách. Vystavení se vlivu působení N<sub>2</sub>O v případě anesteziologů ve třech různých operačních sálech bez aplikace jakýchkoliv bezpečnostních opatření se pohybovalo v rozmezí 52 až 2385 ppm se střední hodnotou 530 ppm. Odsávání neboli tedy odvětrávání snížilo tuto hladinu na 53 (6 – 203) ppm. Hladiny v krvi se pohybovaly na 11,9 µmol/l (3,1 – 50,5) bez bezpečnostních opatření a na hodnotě 1,5 µmol/l v případě odsávání (mez detekce činí 0,9 µmol/l).

### Pojednání publikovaná mezi léty 1981 a 1990

Další data, která byla v tomto období publikována jsou souhrnně podobě uvedena v Tabulce 3.2. Tato data poskytují další základ ohledně skutečných hladin vystavení se působení a to zvláště o něco více, pokud se jedná o vliv odsávání či odvětrávání na expozice. Všeobecně je však možno konstatovat, že úrovně expozice tedy vystavení se působení, jak byly uvedené v tomto období, významnou měrou přesahují veškeré publikované hodnoty OEL.

Zařízení	Číslo	Vzorek typ 1	Vzorek typ 2	Vzorek typ 3	Střední (rozsah) Vzorek 1 N <sub>2</sub> O (ppm)	Střední (rozsah) Vzorek 2 N <sub>2</sub> O (ppm)	Střední (rozsah) Vzorek 3 N <sub>2</sub> O (ppm)	Reference
Porodní sály ve Spojeném království bez odvětrávání	14 5 21 23	Osobní vzorky porodních asistetek ve 4 nemocnicích	-	-	98 (5 - 364) 59 (10 - 121) 41 (1 - 330) 363 (42 - 953)	-	-	Munley a spol., 1986
Porodní sály ve Spojeném království s odvětráváním	13	Osobní vzorky porodních asistetek v 1 nemocnici	-	-	150 (42 - 441)	-	-	Munley a spol., 1986
Operační sály s odsáváním v 6 nemocnicích ve Spojeného království §	89,75,89 69,56,69 20,19,20 19,18,19 15,15,15 16,9,9	Osobní vzorkovač anesteziologa	Osobní vzorkovač asistenta OD	Pozadí, vzorkovač na stěně	169 (16-1580) 168 (17-1580) 172 (16-696) 622 (38-5120) 310 (72-1350) 97 (26-187)	59 (4-343) 61 (12-213) 52 (4-343) 155 (22-408) 126 (23-236) 63 (19-100)	49 (4-250) 42 (5-248) 73 (4-250) 63 (8-173) 88 (18-254) 37 (17-58)	Gray, 1988
USA – zubní ošetrovny bez odsávání	16	Zubní – oblast dýchání	Spodek zubního křesla	-	409 (69-2000t)	258 (40-750)	-	Kugel a spol. 1989
USA – zubní ošetrovny s odsáváním	18	Zubní – oblast dýchání	Spodek zubního křesla	-	98 (3-1000)	86 (0-320)	-	Kugel a spol. 1989
Nizozemí Operační sály s odsáváním	6,4,8	Anesteziologové a asistenti	Cirkulační sestra	Chirurg a instrumentářka	99,6 (57-120)	41,2 (33-54)	32,6 (9-57)	Borm a spol., 1990
Itálie – operační sály bez odsávání		Anesteziolog (5)	Chirurg (5)	Zdravotní sestra (10)	444 ± 144 (Gynekologie)	422 ± 87 (Otorinolaryngologie)	387 ± 124 (Gynekologie)	Trevisan a Gori, 1990

§ Systémy odsávání použité v každé z nemocnic byly různých typů a různého stáří, avšak data nejsou podkladem pro žádný závěr o prospěšnosti zvláštních aspektů takových systémů.

† Úrovně vyšší než 2000 ppm nemohly být měřeny použitými metodami .

*Tabulka 2 Publikované analýzy expozice N<sub>2</sub>O mezi léty 1981 a 1990*

**Trevisan a Gori (1990)** prováděli měření vystavení se působení během různých typů operací a zjistili významný vliv postupu na expozici u různých kategorií pracovníků personálu operačního sálu. U stejných subjektů byl také měřen N<sub>2</sub>O v moči a byla zjištěna výrazná korelace s úrovněmi vystavení se působení.

### Pojednání publikovaná po roce 1991

Během tohoto období byly publikovány různé práce a zatímco mnoho z nich ukazuje na určitou prospěšnost zavedení systému odsávání tak jiné faktory se stále ještě zdají jako takové, že vytvářejí ve všech souvislostech okolnosti vysokého vystavení se působení u pracovníků personálu pracujících s N<sub>2</sub>O. Především, v řadě studiích ohledně porodních asistentek tu existuje určité opětovné ujištění, že dosažení úrovně expozice pod 100 ppm TWA je možné, ačkoliv ještě dochází k mnohem větším vystavením se působení.

**Newton (1992)** uvedl výsledky monitorování vystavení se působení u 9 porodních asistentek během jednoho pracovního dne a u 4 porodních asistentek po dobu celého pracovního týdne a to s použitím vzorkovačů nošených v náprsní kapse. Hodnoty expozice či vystavení se působení byly 482 ppm (rozsah 5-1558) pro jednodenní skupinu a 402 ppm (rozsah 12-1151) pro ty, kteří nosili vzorkovač po dobu jednoho týdne.

**Newton a spol. (1999)** porovnávali vystavení se porodních asistentek ve Spojeném království působení N<sub>2</sub>O na jednom nově vybudovaném pracovišti, které bylo vybaveno nuceným odsáváním a toto porovnali se starým zařízením, které nebylo vybaveno větráním. U 15 monitorovaných porodních asistentek v novém zařízení nepřesáhlo TWA hodnotu 100 ppm, avšak rozsah vystavení se působení nebyl zaznamenán. Toto porovnávají s hodnotami TWA, které se pohybují v rozsahu od 8 do 1558 ppm u staršího zařízení.

**Mills a spol. (1996)** uvedli výsledky monitorování 242 směn porodních asistentek na pracovních odděleních dvou nemocnic ve Spojeném království. Zatímco v 7 směnách byly zaznamenány expozice větší než 500 ppm (max 1638), u 53 byly hladiny vystavení se působení vyšší než 100 ppm. Celkově tedy vystavení se působení přesáhlo 100 ppm ve 26 % směn. Na základě analyzování dat z některých směn, kdy se nepoužívalo oxidu dusného, bylo ještě zaznamenáno 22 ppm (rozsah 0-233), podle všeho tedy z důvodu všeobecného základního znečištění vzduchu.

**Henderson a Matthews (2002)** prováděli vyšetřování porodních asistentek v průběhu 50 směn na porodním sále nemocnice ve Spojeném království. Toto vyšetřování prováděli tak, že analyzovali vydechovaný N<sub>2</sub>O a monitorovali vystavení se působení N<sub>2</sub>O s použitím osobního vzorkovače. Zatímco měření s použitím vzorkovačů dávaly průměrné vystavení se působení 313 ppm (rozsah 2,4 - 1300), vydechovaný vzduch vykazoval průměrný obsah 64 ppm (rozsah 0-727). Korelační závislost mezi jednotlivými expozicemi a hodnotami ve vydechovaném vzduchu byly velice slabé. I když ve všech případech nemusí být překročena 8 hodinová TWA, úroveň vystavení se působení, které byly v této studii měřeny, překročily 100 ppm TWA po dobu 4 hodin měření ve 35 směnách z 50 směn.

**Henderson a spol. (2003)** monitorovali vystavení se působení při výkonu povolání u 46 porodních asistentek po časové období 4 hodin a také prováděli vyšetřování vzorků moči na N<sub>2</sub>O a to jak před časovým obdobím monitorování tak po době monitorování. Bylo uvedeno, že meze expozice při výkonu povolání jsou 313 ppm (rozsah 2,4 – 1300). Pokud se jedná o vzorky moči, které byly odebrány před začátkem vystavení se působení 22/46 vykazovalo nenulové úrovně N<sub>2</sub>O a v pěti případech pozdější vzorek vykazoval menší obsah než tomu bylo u prvního vzorku. Průměrná hodnota koncentrací N<sub>2</sub>O v moči ve druhém vzorku byla 114 µg/l (rozsah 0 – 1102). U takových porodních asistentek, které měly na začátku směny nulovou hodnotu v moči existuje dobrá korelační závislost mezi úrovní vystavení se a koncentrací v moči po 4 hodinách. Imbriani a Maestri (2004) poznamenávají v dopise odpovídajícím na tuto práci, na toto pojednání, že zdánlivá kontaminace vzorků moči oxidem dusným může vzniknout v důsledku mikrobiologické činnosti nebo v důsledku vzorkování v kontaminovaném, znečištěném prostředí. Tyto faktory je možno kontrolovat, aby se tak zlepšila hodnota N<sub>2</sub>O v moči jako nástroj pro monitorování.

V jiných oblastech použití N<sub>2</sub>O je současný obrázek dosti smíšený, s důkazem z Německa o tom, že je možno dosáhnout velice nízké hodnoty vystavení se působení oxidu dusného a s daty ze Spojeného Království ukazujícími, že je zde ještě budou učiněna některá zlepšení.

**Henderson a Matthews** monitorovali vystavení se působení N<sub>2</sub>O v 8 nemocnicích ve Walesu kvůli souladu s hodnotou 100 ppm TWA a zjistili, že zde v žádném případě nedošlo k překročení hodnoty TWA. Navzdory této shodě přesáhla maximální koncentrace v několika případech 1000 ppm v anestetické místnosti. Ti stejní autoři (Henderson a Matthews, 2000a)

monitorovali vystavení se působení N<sub>2</sub>O v zubních odděleních nemocnic a v zubařských praxích. I když po dobu trvání monitorovaných procedur se u některých dosáhlo průměrné

koncentrace více jak 100 ppm po dobu více jak dvou hodin, byla 8 hodinová TWA ve všech případech pod hodnotou 100 ppm. Při uvádění dalších dat z monitorování pracovních prostor a dalších zařízení (Henderson a Matthews, 2000b) byly závěry podobné, avšak případy průměrného vystavení se působení přesahujícího 200 ppm po dobu více jak 1 hodiny byly častější, než by se mohlo očekávat.

**Raj a spol. (2003)** sudovali vystavení se pediatrických anesteziologů ve Spojeném království takovému působení N<sub>2</sub>O, přičemž toto prováděli monitorováním takové expozice s použitím osobních vzorkovačů, s použitím koncentrací v krvi, při dýchání a v moči, přičemž příslušné vzorky byly odebrány na začátku anestézie každého pacienta na seznamu během celého dne provádění chirurgických výkonů. S výjimkou jedné velmi vysoké hodnoty, která nebyla vysvětlena, dávají tato data o vystavení se působení oxidu dusného průměrnou hodnotu 23,8 ppm (rozsah 10-172). Vzorky krve, moči a z dýchání poskytují hodnoty, které je chabě korelovaly s expozičními daty, avšak 18 % vzorků krve a 43% vzorků dechu vykázalo překročení 100 ppm. Rozdíly v odsávání byly důrazně korelované s úrovněmi vystavení se působení oxidu dusného a prokazují kladnou prospěšnost použití systémů odsávání.

Na základě porovnání expozičních mezí N<sub>2</sub>O v 9 různých operačních sálech v roce 1996 a 1997 Wiesner a spol. (2000) zjistili, že zavedení odsávacích systémů mezi dvěma soubory měření snížily vystavení se působení oxidu dusného z mediánu 168 (56 – 7490) na 104 (10 – 2140), avšak rozsahy, jak jsou znázorněné v závorkách, indikují špičkové hodnoty takové expozice, které jsou dobře nad tím, co by se mohlo očekávat na základě hodnot TWA. Mnohé z hodnot TWA převyšují mezní hodnotu 100 ppm, která je ustanovena v mnoha evropských zemích. Další analýzy stejných dat jsou zahrnuté v druhé práci (Wiesner a spol., 2001), avšak nepřidávají žádné další údaje.

Klinické zkoušky prováděli v Německu **Byhahn a spol. (2000)**, aby se tak umožnilo podrobné měření vystavení se působení oxidu dusného a desfluranu během chirurgických zákroků ušní, nosní a krční chirurgie. Hlavní hodnoty mezi vystavení se působení byly získány pro anesteziologa a chirurga a to během chirurgických zákroků jak na dospělých tak na dětech. Výsledky, uváděné respektive jako průměrná hodnota ± SD, tedy směrodatná odchylka, byly 0,41 ± 0,23 a 2,24 ± 1,93 pro dospělé a 1,20 ± 0,32 a 5,30 ± 0,6 pro děti. Tyto hodnoty jsou významně nižší než jakékoliv jiné hodnoty, které byly uvedeny předtím a toto je připisováno speciální péči věnovaného návrhu zařízení a péči při vedení těchto zkoušek a pokusů.

**Mierdl a spol. (2003)** prováděli monitorování vystavení se působení oxidu dusného v případě chirurgů provádějící chirurgický zákrok v souvislosti s kardiopulmonárním by-passem, tedy zákrokem v souvislosti s prováděním by-passu týkajícího se srdce a plic, kdy toto bylo prováděno u 10 dospělých osob. V průběhu tohoto monitorování byly shromažďovány vzorky prostřednictvím použití sond aplikovaných v oblasti úst chirurga, přičemž v tomto případě byly shromažďovány vzorky v intervalech 90 vteřin, které potom byly on-line vyhodnocované. Monitorované byly dvě fáze této operace, před by-passem a za by-passu. Během každého takového stupně byly měřené koncentrace oxidu dusného a tyto byly 9,32 ± 1,93 a 3,00 ± 1,41 ppm.

## Reference o vystavení se působení oxidu dusného

1. Beynen F.M., Knopp T.J. a Rehder K. *Anesth Analg.* 1978 Březen – duben, **57** (2): 216-23.
2. Borm P.J., Kant I., Houben G., van Rijssen-Moll M. a Henderson P.T.J. *Occup Med.* 1990 listopad, **32** (11):1112-6.
3. Byhahn C., Wilke H-J., Strouhal U., Kessler., Lishke V. a Westphal K. *Can J Anaesth.* 2000, říjen, **47**(10):984-8
4. Davenport H.T., Halsey M.J., Wardley-Smith B. a Bateman P.E. *Anaesthesia.* 1980 duben, 35(4):354-9.
5. Gray W. M. *Anaesthesia.* 1989 červen, **44** (6):511-4.
6. Henderson K.A. a Matthews I.P. *Anaesthesia.* 1999 říjen, **54** (10):941-7.
7. Henderson K.A. a Matthews I.P. *Br Dent J.* 2000a leden 10, **188** (11):617-9.
8. Henderson K.A. a Matthews I.P. *Eur J Anaesthesiol.* 2000b březen, **17** (3):149-51.
9. Henderson K.A. a Matthews I.P. *J Expo Anal Environ Epidemiol.* 2002 září, **12** (5):309-12.
10. Henderson K.A. a Matthews I.P., Adiseh A. a Hutchings A.D. *Occup Environ Med.* 2003 prosinec., **60** (12):958-61.
11. Imbriani M., Ghittori S. a Mestri L. *Occup Environ Med.* 2004, červen, **61** (6):558, autorská odpověď 558.
12. Korttila K., Pfaffli P. a Ertama P. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1978, **22** (6):635-9.
13. Kugel G., Norris L.H. a Zive M.A. Oxid dusný a vystavení se působení oxidu dusného při výkonu povolání: Je již čas se přestat smát. *Anesth Prog.* 1989 Listopad – Prosinec, **36** (6):252-7.
14. Mehta S., Burton P. a Simms J.S. *Can Anaesth Soc J* 1978, září, **25** (5):419-23.
15. Mierdl S. Byhahn C., Abdel-Rahman U., Matheis G. a Westphal K. *Ann Thorac Surg.* 2003 červen, **75** (6): 1924-7, diskuse 1927-8.
16. Mills G.H., Singh D., Longan M., O'Sullivan J. a Caunt J.A. *Int J Obstet Anesth.* 1996, červen, **5** (3):160-4.

17. Munley A.J., Railton R., Gray W.M. Carter K.B. Br Med J (Clin Res Ed) 1988 říjen 25, **293** (6554):1063-4.
18. Newton C. Nurs Times. 1992 září 23-29, **88** (39):54.
19. Newton C. Fitz – Henry J. a Bogod D. Int J Obstet Anesth. 1999 leden, **8** (1):7-10.
20. Raj N., Henderson K.A., Hall J.E., Aguilera M., Harmer M., Hutchings A. a Williams B. Anaesthesia. 2003 červenec, **58** (7): 630-6.
21. Trevisan A. a Gori G.P. Am J Ind Med. 1990, **17** (3):357-62.
22. Wiesner G., Harth M., Hoerauf K., Szulc R., Jurczyk W. Sobczynski P., Hobbhahn K.H., a Taeger K. K. Acta Anaesthesiol Scand. 2000 srpen, **44** (7):804-6.
23. Wiesner G., Harth M., Szule R., Jurczyk W. Sobczynski P., Heorauf K.H., Hobbhahn J. a Taeger K. Int Arch Occup Environ Health. 2001 leden, **74** (1):16-20.

### Identifikované reference o vystavení se působení oxidu dusného, avšak vyřazené z přezkoumávání

24. Badger G. a Robertson C.W. J Am Dent Assoc. 1982 duben, 104(4):480-1 (Žádná doporučení o nějakých nových účincích).
25. Byhahn C. a Westphal C.K. Anesthesiology 1999, 91 (6): 1960 – 61 (Dopis vydavateli komentující rozptylové výpočty).
26. Byhahn C. Dtsch Med Wochenschr. 1999 únor 12, 124 (6): 137-41. (Německá práce, později namísto toho použita anglická práce).
27. Byhahn C. Gesundheitswesen. 1998 říjen, 60 (10): 586 – 91 (Německá práce, později namísto toho použita anglická práce).
28. Byhahn C. World J Surg. 2001, září, 25 (9): 1109 – 12. (Německá práce, později namísto toho použita anglická práce).
29. Cassano F. G Ital Med Lav Ergon. 2003 červenec – září, 25 Suppl (3): 279 – 281 (Pojednání v italštině. Žádná nová data).
30. Certosimo F. Gen Dent. 2002 září – říjen, 50 (5): 430 – 435. (Žádná příslušná důležitá nová data – Porovnání systémů odtahování).
31. Crouch K.G. AIHAJ. 2000 září – říjen, 61 (5): 753-6. (Žádné nové údaje).
32. Vydavatelský J. Am Dent Assoc. 1992 prosinec, 123 (12): 18 (Poznámka ohledně publikace Rowland a spol., 1992 ohledně fertility či plodnosti a ohledně vystavení se působení oxidu dusného).
33. Edling C. (1982) Oxid dusný. Severská expertní skupina pro dokumentaci mezi expozice při výkonu povolání. Arbete och Hals 20: 1 – 38 (Přezkoumání ve švédském jazyce, ale nejsou tu žádné nové údaje).
34. Halliday M.M., Davis P.D., Collins L., Carter K.B., Macdonald I. A McCreddie G. Lancet. 1979, 9. červen; 1 (8128): 1230 – 2. (Není významné, pokud se jedná o cíle tohoto přezkoumávání).
35. Hennequin M. Ann Fr Anesth Reanim. 2004, říjen, 23 (10) 959 – 65. (Není v anglickém jazyce a neobsahuje žádná kritická data).
36. Hoerauf K.H. Anesth Analg. 1999 duben, 88 (4): 925 – 9. (Nejsou tu žádné nové údaje a hlavně se toto soustřeďuje na jiné aspekty anestézie).
37. Hoerauf K.H. Anesth Analg. 1999 duben, 88 (4): 925 – 9. (Nejsou tu žádné nové údaje a hlavně se toto soustřeďuje na jiné aspekty anestézie).
38. Kant I.J. van Russen – Moll M. a Borm P. J. A. Ann Occup Hyg. 1990 prosinec, 34 (6): 575 – 583. (Popisuje postup pro modelování vystavení se účinku oxidu dusného, aby se tak napomohlo návrhu lepších zařízení).
39. Krenzischek D.A. J Perianesth Nurs. 20002, srpen, 17 (4): 227 – 39. (Smíšená vystavení se působení oxidu dusného a nic nového ohledně oxidu dusného).
40. Li S. H. Acta Anaesthesiol Sin. 2002 prosinec, 40 (4): 185 – 90. (Smíšená vystavení se působení oxidu dusného a nic nového ohledně oxidu dusného).
41. Lukaszewski M. Pol Merkurisz Lek 2004, listopad, 17 (101): 438 – 42. (Pojednání je v polském jazyce. Nic nového).
42. Marcus D.F. Arch Ophthalmol. 1981 březen, 99 (3): 457 – 9. (Stručná úvaha o prospěšnostech aplikace odsávání. Není zapotřebí).
43. Marx T. Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther. 1998 leden, 33 (1): 27 – 31. (Není důležité).
44. Proietti L.G. Ital Med Lav Ergon. 2000, červenec – září, 22 (3): 219-222. (Nejsou dostatečné údaje ato speciálně, která jsou významná pro oxid dusný).
45. Rosen M., a Wickers M.D. Br Med J (Clin Res Ed). 1986 15. listopadu, 293 (6557): 1308. (Dopis vydavateli ohledně pojednání Munley a spol. a neobsahuje žádné nové údaje).
46. Sessler D.I. Anesth Analg. 1998 listopad, 87 (5): 1083 – 8. (Hlavně o anestézi, nic nového o oxidu dusném).
47. Shortridge – McCauley LA. AAOHN J. 1995 prosinec, 43 (12): 614 – 21. (Přehled žádných nových údajů).
48. Virgili A. G Ital Med Lav Ergon. 2002 říjen – prosinec, 24 (4): 447 – 450. (Žádné nové údaje).
49. Wood C. Can J Anaesth. 1992, 1992 září, 39 (7): 682 – 686. (Žádné nové údaje).

## Mechanismus toxicity oxidu dusného a syntázy metioninu.

### Souhrn

Tento stručný přehled mechanismu je tu zařazen za tím účelem, aby poskytl jakýsi základ pro následující části o specifických účincích oxidu dusného, přičemž tento přehled se omezuje na přezkoumávání takových aspektů, které jsou jako příslušné a důležité pro posuzování nebezpečí.

Jedinou známou formou metabolické interakce či tedy vzájemného působení  $N_2O$  je oxidace Co (I) formy vitamínu  $B_{12}$  (Vit  $B_{12}$ ) na Co (III) formu. Tato oxidovaná forma nemůže fungovat jako koenzym syntázy metioninu (MS), tudíž tedy, efektem je inhibice či potlačení činnosti takového enzymu. Jelikož se zdá, že všechny hlavní efekty oxidu dusného jsou zprostředkované primární interakcí, pak značkovače nějakého efektu na této cestě mohou být užitečnými indikátory prahových hodnot celkového efektu vystavení se působení a to zvláště s ohledem na chronické vystavování působení při výkonu povolání, kdy se jedná o nízké hladiny expozice. Značkovače jako jsou deoxyuridinové potlačení (dU – potlačení), červený buněčný folát, sérový folát, Vit  $B_{12}$ , homocysteinové úrovně, ty všechny byly používány k monitorování efektů vystavení se působení oxidu dusného stejně tak jako k přímým měřením aktivity MS. Zdá se, že sérový Vit  $B_{12}$  není ovlivňován vystavením se působení  $N_2O$ . Studie ukázaly dobrou vazbu mezi vyčerpáním aktivity MS a jak sérovými homocysteinovými úrovněmi a zvýšenými mírami potlačení dU a při obnovení obou na normální úroveň. Tyto jsou obecně značkovači nedostatečnosti, deficitu Vit  $B_{12}$ , kterým se dává přednost.

Vzhledem k tomu, že se zdá, že všechny známé nepříznivé efekty  $N_2O$  jsou zprostředkovávány cestou MS, bylo by jako rozumné v tomto případě učinit závěr, že vystavení se působení, které nemají žádný vliv na tuto cestu, představují celkovou úroveň bez nepříznivého efektu (NOAEL). Toto by nepochybně bylo přiměřené a vhodné pro hematologické a neuropatické efekty a s největší pravděpodobností pro reprodukční efekty, efekty spojené s reprodukcí, rozmnožováním, avšak v tomto ohledu je třeba vzít v úvahu některá další data, která se týkají možných alternativních mechanismů efektů spojených s uvedenou reprodukcí. Malá část textu práce týkající se možné role přímých efektů oxidu dusného na Luteinizační hormon (LH) a na uvolňování gonadotropinu potřebuje další vyšetřování, aby se tak mohla vyhodnotit důležitost vzhledem k posouzení nebezpečí pro lidi.

Kromě MS vzájemného působení existuje konzistentní důkaz o tom, že podávání  $N_2O$  je spojeno se zvýšenými hladinami prolaktinu. Toto je některými interpretováno jako indikátor dopaminergických vzájemných působení. Byla také uvedena snížení hladin LH a toto bylo spojováno s některými vzájemnými působeními, interakcemi. Tyto efekty byly prokázány pouze po dlouhodobém vystavení se působení analgetických úrovní oxidu dusného a mohou být více vztaženy k těmto vlastnostem. Jevíly by se jako více přechodové než je tomu u těch, které jsou spojené s cestou MS, ale stejně jako endokrinní efekty, mohou tyto hrát také určitou roli v reprodukčních efektech  $N_2O$ , jak to bylo vidět ve studiích zaměřených na zvířata. Celkově se zdá jako nepravděpodobné, že tyto dodatečné faktory jsou důležité pro jakékoliv vystavení se lidí působení oxidu dusného, tudíž tedy, NOAEL odvozená z nedostatku účinků na cestě MS by se stále ještě mohla považovat za důležitou. Na základě dat, týkajících se krys, který jsou k dispozici, by se zdálo, že inaktivace MS není větší u plodu než je tomu u matky v koncovém stádiu březosti (19 dní), tudíž tedy není pravděpodobné, že by vystavení se působení bez účinku na matku v tomto stádiu mělo efekt na plod. Nejsou k dispozici žádná data poskytující pohled na relativní citlivost plodu vůči inaktivaci MS v raném stádiu březosti.

Na základě shora uvedených úvah by mohl být učiněn závěr, že NOAEL u krys na základě mechanismu působení bude v oblasti 500 ppm jako kontinuální vystavení se působení. Zde se zdá, že existuje mírný efekt na potlačení dU, značkovač inhibice MS při vystaveních se působení 50 ppm. Zatímco toto není sám indikátor jakéhokoliv nepříznivého efektu, prospělo by tomuto vztahu či této závislosti podrobnější vyšetřování.

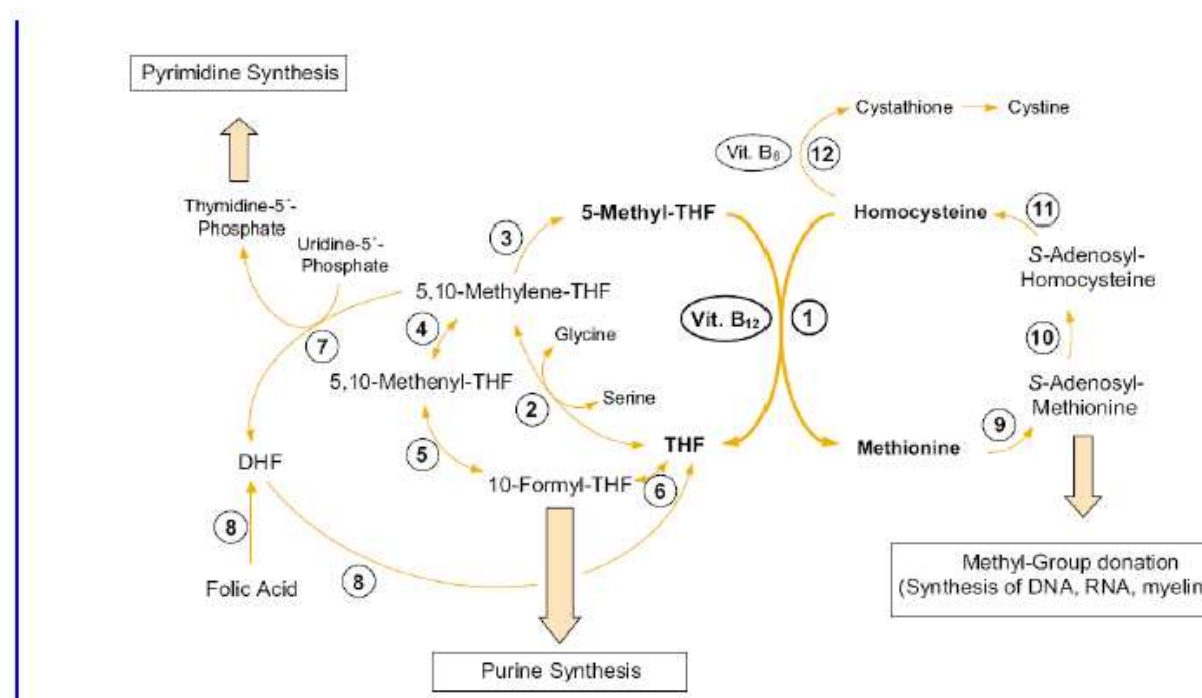
Z porovnání inaktivace MS u krys a lidí vyplývá, že pro dané vystavení se působení je u lidí nižší míra inaktivace. I když nebyla identifikována žádná specifická data ohledně míry obnovení omezený důkaz z hematologických studií, v rámci kterých bylo měřeno potlačení dU spočívá v tom, že takové obnovení může také být nižší, než je tomu u krys. Je třeba, aby tyto faktory byla vzata v úvahu při posuzování důležitosti studií zaměřených na zvířata při aplikaci na vystavení se lidí působení při analgetických a anestetických koncentracích.

Pro takové případy expozice, které vyplývají z anestetického použití nebo z analgetického použití, tu existuje předpověditelný efekt na Vit  $B_{12}$  a aktivity MS a existují populace, které mohou být napadnutelné takovými efekty, jako jsou ty, které mají okrajovou nedostatečnost Vit  $B_{12}$ .

Druhou populací, která je v tomto případě předmětem zájmu, je ta, která je vystavena anestézii během těhotenství. V tomto případě neexistuje pochyb o tom, že u takové populace dojde k určité inaktivaci MS a Vit B<sub>12</sub> a to vzhledem k tomu, že, jak bylo ukázáno, poločas pro depleci či vyčerpání aktivity, je menší než 1 hodina, avšak je v tomto případě jako důležité dát najevo, že všechny hlavní efekty, jak byly pozorované u zvířat při nízkých dávkách, jsou odvozovány od expozic o trvání minimálně po dobu 24 hodin. Okrajová nedostatečnost Vit B<sub>12</sub> u těhotných žen by také vedla ke zvýšení možnosti nepříznivých důsledků.

## Podrobné přezkoumávání

Metabolická cesta, která se vztahuje k efektům oxidu dusného je souhrnným způsobem uvedena níže v Obrázku 1. Tento obrázek byl okopírován z přezkoumávání, která prováděl **Weimann (2003)**. (Aplikováno povolení).



Legenda k obrázku:

Pyrimidine synthesis – Syntéza pyrimidinu

Cystathione – Cystation

Cystine – Cystin

Thymidine-5'-phosphate – Tymidin-5'- fosfát

Uridine-5'- phosphate - Uridin-5'- fosfát

5-Methyl-THF – 5- metyl-THF

Homocysteine – Homocystein

5-10-Methylene-THF- 5-10-Metylen-THF

S-Adenosyl- Homocysteine – S-Adenosil- Homocystein

Methyl-Group donation (Synthesis of DNA, RNA, myelin – předávání metylové skupiny (syntéze DNA, RNA, myelin)

Vit. B<sub>12</sub> - Vit. B<sub>12</sub>

Glycine - Glycin

5,10-Methenyl-THF - 5,10-Methenyl-THF

Serine - serin

S-Adenosyl-Methionine - S-Adenosil- Metionin

Methionine - Metionin

10-Formyl-THF - 10-Formyl-THF

Folic acid, kyselina pteroylglutamová, kyselina listová

Purine synthesis – Syntéza purinu

**Obrázek 1.** Nástin ústřední role vitamínu B<sub>12</sub> a na folátu závislé konverze hocysteinu na metionin prostřednictvím syntázy metioninu. Zakroužkovaná čísla příslušných enzymů zahrnují následující: 1. Syntáza metioninu, 2. Transferáza serinu – hydroximetylu, 3, 5, 10-metylen-THF reduktáza, 4, 5, 10 – metylen-THF, 5,5,10 – metenyl-THF- cyklohydroláza, 6, 10-formyl-THF syntáza, 7, syntáza tymidilátu, 8, reduktáza DHF, 9, metionin – adenosyl transferáza, 10 na adenosylu závislé metylové transferázy, 11, A-adenosyl- homocystein hydroláza, 12 cystation β- syntáza.

*Obrázek 1 Syntáza metioninu a s tím spojené cesty (převzato od Weimannn, 2003)*

Jediným vzájemným metabolickým působením oxidu dusného je vzájemné působení s Vit B<sub>12</sub>. N<sub>2</sub>O prostřednictvím nevratné oxidace Vit B<sub>12</sub> ze stavu Co (I) do stavu Co (III) blokuje jeho aktivitu jako koenzymu vůči MS a to jak vyčerpáváním metioninových zásob tak blokováním folátového cyklu. Důsledek těchto efektů je přímo porovnatelný s účinky nedostatečnosti Vit B<sub>12</sub>. Toto osvětluje možnost speciální postizitelnosti takových, kteří byli s okrajovou nedostatečností Vit

B<sub>12</sub>. V takovéto populaci tedy efekty anestetického nebo anelgetického vystavení se působení mohou mít potom významné následky (*Daleu a spol., 2000*).

Nejvíce vyčerpávající a souhrnná data, která jsou k dispozici ohledně závislosti na dávkách a v závislosti na kinetice efektu oxidu dusného na MS u zvířat, přichází z práce, kterou publikovali *Sharer a spol. (1983)*.

Účelem charakterizace účinků oxidu dusného na MS byly vystaveny skupiny 4-15 samců krys Sprague-Dawley působení N<sub>2</sub>O o míře 500, 1000, 2500, 5000, 10000, 20000 nebo 50000 ppm po dobu 1, 2, 4 nebo 8 dní (Jiné skupiny byly vystaveny působení 1000 nebo 5000 ppm po dobu 28 dní. Všechna vystavení se působení byla po dobu 24 hodin/ 7 dní v týdnu. Po takovém vystavení se působení byla zvířatům podána narkóza a byla jim vypuštěna krev. Plátky z jater byly uchovávány jako zmrazené při teplotě -20 °C a následně potom byly podrobené zkoušení na činnost MS. Získané výsledky byly potom vynášeny do grafického znázornění a byl získán dobrý průběh této křivky grafického znázornění. Z takto získaných křivek grafického znázornění se dochází k závěru, že nedošlo k žádnému zjiřitelnému snížení aktivity MS pod 24 hodinovou expozici při 860 ppm nebo při delší expozici 450 ppm.

Inhibice MS u myší byla studována *Koblinem a spol. (1981)*. Skupiny o 8 myších byly vystaveny působení po různé doby trvání působení N<sub>2</sub>O o tlaku 0,6 atm za přítomnosti kyslíku o tlaku 1 atm a ihned potom byly odebrány vzorky jater pro zkoumání MS. Po 4 hodinách aktivity bylo 5% kontrolní hodnoty kolem 300 nmol.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup> jater. Studie pojednávající o obnově ukázala, po 24 hodinách po 4 hodinovém vystavení se působení při tlaku 0,8 atm byla aktivita MS v hodnotě 70% kontroly a byla téměř kompletní po době dvou dní.

Byly prováděné další studie za účelem vyšetřování efektů různých koncentrací N<sub>2</sub>O a došlo se k závěru, že vystavení se působení oxidu dusného při < 0,05 atm N<sub>2</sub>O po dobu 4 hodin nemělo žádný efekt, zatímco v případě 0,1 atm po stejnou dobu trvání toto vedlo ke 50% snížení MS aktivity. Bylo ukázáno, že hodnota 1100 ppm významným způsobem potlačuje MS o 27% po době 8 dní, avšak při vystavení se působení stejné koncentrace po dobu 15 nebo 22 dní byl rozdíl trochu menší a nebyl významný.

*Deacon a spol. (1980)* prováděli vyšetřování míry potlačení MS prostřednictvím vystavení krys působení 50% N<sub>2</sub>O po dobu až 6 hodin, přičemž toto bylo monitorováno v intervalech po dobu tohoto časového období a po následnou dobu 84 hodin. Aktivita byla již významným způsobem snižená po době 30 minut a byla téměř nezjistitelná po 6 hodinách. 60 hodin po vystavení se působení byla činnost menší než 50% normálu a nevrátila se u některých zvířat po době 84 hodin na kontrolní hladiny. Potlačení dU v kostní dřeni se po době 60 minut zvýšilo a vykazovalo zvýšenou úroveň rozdílu po době 6 hodin takového vystavení se působení. Míra se vrátila na kontrolní úroveň po době 60 hodin po expozici, avšak značně došlo k obnově po době 24 hodin.

Informace týkající se příslušných efektů podobných vystavení se působení u člověka a u zvířat představují důležitou součást extrapolování výsledků studií se zvířaty na vystavení se působení v případě lidí. Studie, jak jsou uvedené v následujícím, vrhají určité světlo na možné rozdíly, které existují u odezev v případě zvířat a v případě lidí na vystavení se působení oxidu dusného:

Míra inaktivace MS u lidských jater a jater křesy byla uvedena Nunnem *a spolupracovníky (1988)*, kteří studovali vzorky z biopsie jater od dvou skupin pacientů, přičemž jedna taková skupina byla anestetikována resp. tedy byla znečitlivěna, byla jí podána narkóza s použitím oxidu dusného a ostatní skupiny, které obdržely jiná anestetika. V případě těch, kterým byla podána narkóza s použitím oxidu dusného, došlo k postupnému snížení činnosti MS a to se značnými změnami případ od případu, avšak s vypočítaným poločasem 46 minut. Pacienti, kterým byla podána narkóza s použitím jiných anestetických přípravků, nevykazovali žádnou takovou korelaci MS hladin po dobu trvání anestézie. Pro zajištění porovnání účinků oxidu dusného u krys byly skupiny 6 zvířat vystaveny působení 50% oxidu dusného po dobu 5, 10, 20, 40 nebo 80 minut a potom bylo prováděno vyšetřování vzorků jater na aktivitu MS. Začátek inhibice či potlačování byl mnohem rychlejší, než tomu bylo u pacientů a poločas byl v tomto případě pouze 5,4 minut. Výchozí úroveň MS u vzorků křesa u vzorků lidí byly 2,23 nmol.h<sup>-1</sup>. mg<sup>-1</sup> proteinu a respektive 1,18 23 nmol.h<sup>-1</sup>. mg<sup>-1</sup> proteinu.

*Koblin a spol. (1982)* studovali aktivitu MS ve vzorcích biopsie od 7 pacientů, kteří byly znečitlivěni s použitím oxidu dusného a T pacientů, kterým se dostalo jiných anestetických prostředků. Rozsah aktivity byl 110-320 nmol.h<sup>-1</sup>. mg<sup>-1</sup> jater pro takové pacienty, kteří byli znečitlivěni s použitím oxidu dusného a 285-523 nmol.h<sup>-1</sup>. mg<sup>-1</sup> jater pro takové pacienty, kteří byli znečitlivěni jiným znečitlivujícími přípravky. Jestliže se vynesou do grafu aktivity MS proti celkovému obdrženímu oxidu dusnému (trvání času koncentrace), pak tedy závislost byla v tomto případě téměř lineární a vykazovala 50% snížení výchozích úrovní po přibližně asi 1,5 hodině vystavení se působení 70% N<sub>2</sub>O.

**Nunn a spol. (1982)** prováděli porovnávání výsledů sérových analýz od 10 pracovníků personálu, kteří byli vystaveni působení oxidu dusného při střední koncentraci 150-400 ppm v předcházejících 24 hodinách s 10 pracovníky personálu, kteří byli bez jakéhokoliv vystavení se působení. Sérum bylo analyzováno na metionin, valin, isoleucin, leucin, gamma glutamyl transferázy-GT) a na Aspartate aminotransferázu. Ve výsledcích kterékoli z těchto analýz nebyl zjištěn žádný rozdíl mezi těmito dvěma skupinami.

Jelikož efekty oxidu dusného týkající se reprodukce, tedy rozmnožování, jsou předmětem speciálního zájmu vzhledem k posuzování rizik, jsou příslušná data, která jsou k dispozici v tomto ohledu souhrnně uvedena v následujícím textu:

**Baden a spol. (1987)** prokázali, že  $N_2O$  by mohl ovlivňovat jak plodovou tak mateřskou metioninovou syntázu. Roztoky enzymu byly připravené z jater matek a plodů, byly shromážděny v 19. den gestace a byly inkubované po dobu až 24 hodin s 50% oxid dusný / kyslík nebo 50 % dusík / kyslík. Aktivita MS byla snížena na 14% respektive na 17% výchozí aktivity u plodů respektive u matek.

Další studie poskytují určitý základ pro efekty po 24 hodinách vystavení se působení oxidu dusného u metioninové syntázy a u jiných značkovacích v kritických stádiích gestace a pro efekt různých trvání doby vystavení se působení oxidu dusného u jak mateřské tak plodové aktivity MS u březích krysu.

11

Skupina 16 březích krysu byla vystavena působení 0%, 0,75%, 7,5% nebo 75%  $N_2O$  po dobu 24 hodin v devátý den březosti. (**Baden a spol., 1983**). Polovina krysu z každé skupiny byla usmrcena okamžitě po takové expozici a zbývající byly usmrceny o 72 hodin později. Játra byla zkoušena na aktivitu MS a kostní dřev byla zkoušena na potlačení deoxyuridinové – thiamidinové konverze (potlačení dU). Úroveň potlačení dU byla významně nižší než u kontrol pro krysu, které byly vystavené působení nejvyšších dvou koncentrací  $N_2O$ , avšak, avšak vrátily se na úroveň kontrol po 72 hodinách po expozici. Aktivita MS nebyla ihned po vystavení se působení měřitelná a to v žádné ze skupin vystavených působení  $N_2O$ . Po 72 hodinách byla aktivita 75%, 21% nebo 11% hodnot kontrol pro skupinu vystavenou působení 0,75%, 7,5% respektive 75%  $N_2O$ .

Skupina 3-8 březích krysu byla vystavena působení 10 %  $N_2O$  v devatenáctý den březosti po dobu 30, 60, 120 nebo 240 minut (**Baden a spol., 1984**). U obou materiálů byla měřena aktivita MS a fetální játra a to okamžitě po konci expozice. Při všech vystaveních se působení byla aktivita snížena a to způsobem, který byl ve vztahu k expozici, přičemž bylo dosaženo 32% nebo 96% kontrol po 240 minutách u mateřských resp. fetálních vzorků. V rámci druhé studie byly vyšetřovány efekty vystavení se působení 50%  $N_2O$  po dobu až 60 minut, přičemž v této době se ME snížila na 11% respektive na 18% kontrol u mateřských respektive fetálních vzorků. Krysy, které byly usmrceny 72 hodin po vystavení se působení 50%  $N_2O$ , vykazovaly aktivitu MS 49% respektive 85% kontrol u mateřských respektive fetálních vzorků.

Další faktory, které je možno uvažovat jako potenciálně přispívající k mechanismu reprodukčních efektů  $N_2O$  u krysu byly identifikovány **Kugelem a spol. (1991)**.

Skupina 8 samic krysu byla vystavena po dobu 8 hodin / den působení 30%  $N_2O$  po dobu jednoho estrálního cyklu (4 dny), kontrolní skupina byla vystavena pouze působení vzduchu. Na konci takového vystavení se působení byla zvířata usmrcena a mozek a tkáň podvěsku mozkového byla izolována na provádění analýzy na LHRH, met-enkefalin,  $\beta$ -endorpin a látky P. Sedm z osmi krysu vystavených působení oxidu dusného bylo zadrženo v pro-estrálním stádiu cyklu a hladiny hormonu uvolňujícího Luteinizační hormon (LHRH) byly významným způsobem zvýšené v preoptické oblasti a okrajově snížené v bazálním hypotalamu. Dalšími rozdíly, které byly pozorovány, byly zvýšený Met-enkefalin v oblasti mostu a v oblasti míchy mozku, zvýšené hladiny  $\beta$ -endorpinu v předních lalocích podvěsku mozkového a hladiny látky P snížené v preoptické oblasti a zvýšené ve středovém bazálním hypotalamu. Možnost, že mnoho těchto změn je podřízeno přerušnému estrálnímu cyklu, nelze vyloučit, tudíž tedy, úloha těchto faktorů v mechanismu účinku  $N_2O$  zůstává nejasná. Vyšetřování těchto neuroendokrinních efektů v modelu *in vitro* doporučuje to, že tato linie výzkumu potřebuje další zkoumání, aby se tak vyjasnila důležitost tohoto efektu na scénáře vystavení se působení kvůli posuzování a odhadu nebezpečí.

**Zhang a spol. (2003)** studovali různé konečné výsledky po vystavení neuronových (GT 1-7) buněk hormonu uvolňujícího Gonadotropin (GnRH) působení oxidu dusného. Tyto buňky vykázaly 80 % snížení hladin GnRH mRNA a významně potlačování uvolňování GnRH po 24 hodinách vystavení se působení 60 % oxidu dusného.

Jedním z nejcitlivějších a nejvíce specifických indikátorů funkční změny na cestě MS je zkouška na potlačení dU, která používá míru konverze deoxyuridinu na timidin jako indikátor nedostatečnosti tetrahydrofolátu, druhotný dopad inaktivace MS. Jelikož se v tomto případě jedná o nepřímé měření účinků oxidu dusného, může být předmětem změn v důsledku faktorů, které nejsou spojené s vystavením se působení oxidu dusného, avšak byla často shledána jako užitečný značkovac



stavu Vit B<sub>12</sub> nějakého jedince a představuje přednostní klinickou metodu pro vyšetřování možné klinické nedostatečnosti Vit B<sub>12</sub> s lepší specifičností než je tomu u hladin sérového Vit B<sub>12</sub> nebo červeného buněčného folátu (*Wickramasinghe a Matthews, 1988*).

## Reference o mechanismu

50. Baden J.M. Serra M a Mazze R.I. Br J Anaesth. 1987 srpen, 59 (8): 1040-3.
51. Baden J.M., Rice S.A., Serra M., Kelley M a Mazze R. Anesth Analg. 1983 srpen, 62 (8): 738-41.
52. Baden J.M. Serra M a Mazze R.I. Br J Anaesth. 1984 květen, 56 (5): 523-6.
53. Deacon R., Lumb M., Perry J., Chanarin I, Minty B., Halsey M. a Nunn J. European Journal of Biochemistry (Evropský časopis biochemie) 1980, 104 (2): 419-423.
54. Deleu D., Louon A., Sivagnanam S Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics (Časopis klinické farmacie a terapeutiky), 2000, 25: 2 / 1-277.
55. Koblin D.D., Waskell L. Watson J.E., Stokstad E, L.R. a Eger E.I. II Anesth Analg 1982, 61: 75-78.
56. Koblin D.D., Watson J.E., Deady J.E. Stokstad E, L.R. a Eger E.I. (II) Anesthesiology 1981, 54 (4):318-324
57. Kugel G, Zive M, Agarwal RK, Beumer JR, Kumar AM. Anesth Prog. 1991 listopad – prosinec, 38 (6): 206 – 11.
58. Nunn, J.F., Sharer N., Royston D., Watts R.W.E., Purkiss P. a Worth H.G. Br J. Anaesth. 1982: 54, 593.
59. Nunn, J.F., Weinbren H.K., Royston D. a Cormack R.S. Anesthesiology 1988: 68, 213 – 216.
60. Sharer N.M., Nunn, J.F., Royston, J.P. a Chanarin I. Br J Anaesth. 1983 srpen, 55 (8): 693 – 701.
61. Weimann J. Best Practice a Research Clinical Anaesthesiology (Nejlepší způsoby a výzkum v klinické anestesiologii), 2003, 17 (1): 47 – 61.
62. Wickramasinghe S.N. a Matthews J.H. Blood Rev., 1988, srpen, 2 (3): 168 - 77.
63. Zhang Q, Rosenberg M, Kugel G, Agarwal RK, Phillips J, Kumar MS. Anesth Prog. 2003, 50 (2), 53 – 61.

## Identifikované reference o mechanismu (avšak vyloučené z prošetřování)

64. Ruprecht J. Anaesthesiol Reanim. 1989, 14 (5): 251 – 9. (Teorie, avšak nejsou žádná nová data).
65. Ohashi Y. Pain. 2002 listopad, 100 (1 – 2): 7 – 18. (Mechanismus analgesie spíše než toxicita).
66. Ohashi Y. Anesthesiology. 2003, říjen, 99 (4): 947 – 54. (Mechanismus analgesie spíše než toxicita).
67. Orii R. Anesthesiology. 200, prosinec, 97 (6): 1458 – 65 (Mechanismus anestézie spíše než toxicita).
68. Orii R. Anesthesiology. 200, květen, 98 (5): 1223 - 30 (Mechanismus anestézie spíše než toxicita)
69. Nair C.P. Indian J Biochem Biophys. 1992 říjen, 29 (5): 415 – 7 (O mechanice, avšak nikoliv přímo důležité).

## Účinky na roznožování

### Souhrn

#### Teratogenicita (Působení na vznik vývojových defektů)

Pravidelné vystavení se působení oxidu dusného během těhotenství při normálním výkonu povolání, jako je povolání anesthesiologa nebo jeho asistentů, dentisty, zubaře nebo jeho asistentů a porodních asistentek bylo předmětem zájmu již od prvních studií o působení oxidu dusného u březích zvířat, prokázalo schopnost způsobit teratogenní účinky, tedy účinky ohledně působení na vznik vývojových defektů. Dokonce i u zvířat jsou teratogenní efekty, tedy účinky ohledně působení na vznik vývojových defektů, jsou pouze způsobené těmi nejextrémnějšími podmínkami vystavení se působení oxidu dusného, jako jsou anestetické koncentrace po dobu 24 hodin v kritických stádiích vývoje plodu. Jestliže takové vystavení se působení probíhá při nižších koncentracích nebo trvání je, potom v takovém případě takové ostré efekty nejsou vidět. I když v tomto případě dvě studie vykazaly vyšší úroveň kongenitálních či tedy vrozených nenormalností u potomků žen, které byly vystavené anestetikům, mají tyto studie vážné trhliny, které by potom mohly vést k uplatňování příliš vysokého odhadu, či tedy přeceňování takových rizik. Přezkoumávání všech dalších dat u lidí neidentifikovalo žádné přílišně vrozené abnormality u potomků matek, které byly vystavené působení oxidu dusného za různých okolností, tedy za okolností, které jsou spojené s vystavením se působení při vykonávání povolání, neuvažuje se tak, že by existoval důkaz o riziku z teratogenního hlediska. Takové nebezpečí by se nemělo očekávat na základě dat od zvířat, která jsou k dispozici a podle pravděpodobných úrovní vystavení se působení při výkonu povolání.

#### Ztráta plodu a spontánní potrat

Vzhledem k tomu, že vystavení se působení oxidu dusného bylo spojeno v prováděných studiích se zvrátou plodu, pak tedy důkaz pro podobný účinek vyplývající z vystavení se působení oxidu dusného při výkonu povolání byl vyšetřován v řadě klinických studií. Při úrovních vystavení se působení oxidu dusného nebo časových rozpisech, které jsou jako příslušné a důležité pro vystavení se působení oxidu dusného při výkonu povolání, studie, které byly prováděné se zvrátou, neprokázaly takové ztráty, tudíž tedy, v tomto případě by se neměly očekávat účinky při výkonu povolání.

I když řada klinických vyšetřování vedla k tomu, že, pracovníci personálu pracující na operačních sálech jsou ohroženi přílišným rizikem spontánního potratu, stejný počet jiných studií, všeobecně vzato, takových studií, které byly spojené s robustnějšími plány, takové efekty neprokázal. Takové studie, které neukazují určité efekty, neposkytují žádnou formální vazbu takových rozdílů na anestetické vystavení se působení všeobecně a specificky, pokud se jedná o vystavení se působení specificky oxidu dusného. Povahy některých takových studií vede k tomu, že tyto mohou být s větší pravděpodobností takové, že potvrzují hypotézu, kterou vyšetřují, než že by se jednalo o ustanovení jakéhokoliv spojení mezi příčinou a účinkem. Tento problém vychází z vlastního výběru za účelem účasti na zkouškách na bázi dotazníku. Ti, kteří si již předtím vytvořili k tomu svůj úsudek, mohou s s větší pravděpodobností odpovědět než je tomu v případě jiných, kteří nemají žádný nějaký pádný důvod k tomu, aby se tohoto účastnili.

Mnoho z prováděných studií vykazuje další silné nedostatky a to jak, pokud se jedná o příslušné vedení, tak, pokud se jedná o návrh či konstrukci provádění, jako je volba neodpovídajících skupin pro provádění porovnávání, tudíž tedy, skutečná příčina jakýchkoliv takových nedostatků či nedostatečností, jak byly zjištěné, nemůže být zjištěna. V takových studiích, kde bylo specificky vyšetřováno působení vystavení se působení oxidu dusného, nebyl uveden žádný účinek.

### **Použití anestézie s použitím N<sub>2</sub>O během těhotenství**

Použití anestetik během chirurgického zákroku v těhotenství a následný potom efekt na vyvíjející se plod, byl studován několika skupinami a i když chirurgický zákrok je ve své podstatě spojen s určitým rizikem ohledně přežití plodu, neexistuje tu v tom, to případě žádný důkaz o tom, že vystavení se působení anestetik a to včetně oxidu dusného má nějaký vliv na nějaký aspekt vývoje včetně potratu a na vývoj vrozených či kongenitálních abnormalit. Toto je potvrzeno nedostatkem takových účinků v rámci studií prováděných se zvrátou, kdy se používalo vystavení se působení po dobu menší než 24 hodin a to dokonce v těch nejkritičtějším dnech pro vývoj plodu.

Existují v tomto případě jen velice omezené důkazy a to na základě studií prováděných se zvrátou, o malém účinku na vývoj po narození a ohledně chování v případě krátkého vystavení se působení 75 % oxidu dusného a to během pozdějších fází březosti. Z klinických studií nevyplývá žádný důkaz o tom, že takovéto efekty se vyskytují u lidských jednotlivců, avšak není tu k dispozici žádná zpráva o specifickém vyšetřování takových efektů. Při vystaveních se působení hodnotám pod 10 000 ppm a to v průběhu březosti, není tu k dispozici u zvrátat žádný důkaz o jakémkoliv efektu ohledně *in utero* vystavení se působení oxidu dusného o chování potomků. Po vystavení myši působení 50 000 ppm po dobu 9 dnů březosti byly identifikovány nějaké mírné efekty ohledně šokového efektu.

### **Plodnost**

Zatímco vystavení se působení oxidu dusného o více jak 10 % pro různé doby trvání vykazovalo určitý důkaz o efektech na plodnost, zdá se, že toto je spojeno s inaktivací MS v tom, že delší denní trvání takového vystavení se působení, jak se zdá, mají ten největší vliv. Žádná ze studií neprokázala žádný efekt na plodnost u zvrátat při denních dávkách vystavení se působení 1000 ppm nebo níže. Toto by mohlo indikovat skutečnost, že vystavení se působení oxidu dusného při výkonu povolání pravděpodobně nemá žádný vliv na plodnost a omezená klinická data, která jsou k dispozici, neindikují žádné takové účinky na plodnost.

Klinické údaje, které si uplatňují nárok na to, že budou vykazovat nějaký efekt na plodnost samic, jsou založené pouze jen na malém počtu účastníků a na konstrukci na bázi dotazníků, která téměř určitě přitahovala účast žen, které věřily, že takovéto vystavení se působení oxidu dusného během výkonu povolání mohlo být důvodem jejich vlastního neštěstí. V kontextu dat, která jsou k dispozici, o účincích na zvrátatech a o příslušných mechanismech, je tu jen malá pravděpodobnost toho, že některé efekty, které byly vidět v rámci těchto studií, jsou opravdu výsledkem vystavení se působení oxidu dusného při výkonu povolání.

Mnoho z nejasností, které se týkají rizik ohledně reprodukce, ze strany N<sub>2</sub>O, přichází ze špatným způsobem navržených retrospektivních klinických studií plus studií ze zvrátatech, které nebyly připravené a navržené takovým způsobem, aby to mohlo poskytnout odpovědi na běžné otázky. Důkaz z mechanicky řízených studií a některých klinických studií poskytuje opětovné ujištění o tom, že rizika jsou zanedbatelná, avšak je nutno současně přitom konstatovat, že perspektivní, dopředu hledící epidemiologické údaje o dobré jakosti by měly významnou hodnotu při poskytování informací v různých zdánlivých efektech ohledně reprodukce pohledně anestetik všeobecně a specificky, pokud se jedná o oxid dusný. Další data z oblasti komparativní kinetiky a metabolismu u zvrátat a u lidských tkání by také mohly umožnit lepší extrapolaci vycházející z existujících studií na zvrátatech.

Malá část dat indikujících přímé efekty z vystavení se působení oxidu dusného na uvolňování gonadotropinu a na hladiny Luteinizačního hormonu (LH) potřebují určitých dalších dat, aby tak bylo možno provádět vyhodnocení důležitosti pro zhodnocení rizik pro lidi.

### Všeobecné poznámky

Přezkoumávání všech takových dat, která jsou k dispozici ze zkoumání zvířat, potvrzuje, že vystavení se působení atmosféry obsahující 500 ppm oxidu dusného nevykazuje žádný důkaz o nějakých efektech ohledně reprodukce u zvířat a to dokonce i v takových případech, kdy takové vystavení se působení je jako kontinuální během březosti. Při podobných expozicích je plodnost samic neovlivněna. Ztráty plodu byly zaznamenány u krys a to po konstantním denním vystavení se působení 1000 ppm oxidu dusného, avšak nikoliv při expozici 500 ppm. Při přerušovaném vystavení se působení (jako na příklad 6 hodin / den, 5 dní/ týden) nebyly takové efekty pozorovány dokonce i při 1000 ppm. Vzhledem k tomu, že je zde silný důkaz o tom, že inhibice či potlačování syntázy metioninu (MS) představuje zásadní mechanismus efektů spojených s reprodukcí u zvířat, tento nedostatek účinku na úrovni 500 ppm by byl konzistentní s pozorováními, jejichž výsledek je to, že neexistuje žádný účinek na činnost tohoto enzymu při této úrovni expozice a to dokonce i v takovém případě, kdy se jedná o chronické vystavení se působení.

Na základě dat, která byla získána na zvířatech, běžná mez vystavení se působení při výkonu povolání (OEL) v některých evropských zemích pro N<sub>2</sub>O o hodnotě 100 ppm při 8 hodinovém časově váženém průměru (TWA) je jako dostatečná, aby zajistila ochranu proti jakýmkoli nepříznivým efektům ohledně reprodukce při vystavení se působení oxidu dusného v nastavení, jak je používáno při výkonu povolání.

## Teratogenicita a plodová toxicita

### Teratogenicita a plodová toxicita nikoliv klinická data

#### 7.2.1.1 Přehled

Vystavení březích krys vysokým dávkám oxidu dusného (více jak 50% nebo 500 000 ppm) po dobu celých 24 hodin na jeden den březosti, jak se ukázalo, vedlo jak k fetotoxickým (toxicita pro plod) tak k teratogenním (působící na vznik vývojových defektů) účinkům (*Fink a spol., 1967, Fujinaga a spol., 1989, Fujinaga a spol., 1990, Lane a spol., 1980, Mazze a spol., 1984*). Prudkost takového efektu je ovlivněna jak načasováním tak trváním takového vystavení se působení (*Fujinaga a spol., 1989,, Fujinaga a spol., 1990*) při expozici v době organogeneze, mající mnohem silnější účinek než je to v dobách následujících (*Ramazzotto a spol., 1979*).

Byla identifikována pouze jedna studie prováděná na krysách, kdy se vyšetřovaly vysoké expozice po kratší časová období (*Tassinari a spol., 1986*), přičemž toto vyšetřování neprokázalo žádné nepříznivé účinky po vystavení se působení po dobu 8 hodin účinkům 75 % N<sub>2</sub>O v různých 4 dnech březosti, avšak mělo by se zde poznamenat, že ve stejné studii výsledky od zvířat vystavených působení po dobu 24 hodin nereprodukovaly či nepředvedly účinky, které byly uváděny jinými autory ohledně zvířat vystavených působení po dobu 24 hodin. Studie prováděná na myších s použitím časových období 4 hodin vystavení se působení N<sub>2</sub>O o koncentracích až do 50 % od šestého do patnáctého dne březosti (*Mazze a spol., 1982*) neprokázala žádné nepříznivé účinky na plod. Druhá studie na myších (*Mazze a spol., 1986*) ukázala, že vystavení se působení 75 % N<sub>2</sub>O po dobu 6 hodin za den po časová období 3 dnů během březosti zvýšila výskyt resorpce, vstřebávání, jestliže taková expozice byla uskutečňována mezi 14. a 16. dnem, avšak neprokázala žádné nepříznivé účinky u skupin, které byly vystaveny takovému působení mezi dny 11 – 13 nebo 8 – 10.

Tak nízké meze vystavení se působení jako 1000 ppm (0,1 %) během březosti u krys byly také spojené s účinky na reprodukci, jako je zvýšený výskyt menších anomálií u plodu, zvýšená míra ztráty plodu a narušený vývoj po narození (*Vieira a spol., 1980, Vieira a spol., 1983, Corbett a spol., 1973*). A opět, jak načasování tak doba trvání takové vystavení se působení ovlivňují prudkost pozorovaného účinku (*Vieira a spol., 1978*).

Jelikož potenciál nepříznivých účinků na plod u krys byl dobře charakterizován řadou studií, je jako ukliďující zjistit, že neexistuje žádný důkaz o takových účincích při expozicích 500 ppm (0,05 %) nebo nižších a to dokonce i v takovém případě, kdy toto bylo podáváno v průběhu březosti (*Vieira a spol., 1980, Vieira a spol., 1983*). Jelikož vystavení se působení 500 a 1000 ppm nebylo specificky zahrnuto do programů testování, pak tedy se musí učinit závěr, že NOAEL pro účinky na rozmnožování je 500 ppm, avšak pravděpodobně leží mezi 500 ppm a 1000 ppm. Tento závěr je konzistentní s pohledem UK COT (Přezkoumávání COT, 1995).

Omezené studie prováděné na myších a křečcích (*Mazze a spol., 1982, Mazze a spol., 1986, Shah a spol., 1979*) trochu přidaly k informacím, které jsou k dispozici ze studií s krysami, nehledě na potvrzení toho, že pozorované efekty nejsou jako specifické pro krysy. Závislost účinků u jiných druhů s expozicí poskytuje určitý důkaz pro podobnou citlivost u všech testovaných druhů, i když není snadné provést porovnání režimů vystavení se působení.

Vyšetřování plodových efektů *in vitro* (*Baden a Fujinaga, 1991, Fujinaga a spol., 1988*) prokázala, že takové modely mohou předpovědět podobné výsledky a závěry, jako tomu je u *in vitro* studií vřív vysokých expozicích, avšak tyto nebyly rozšířeny na vyšetřování účinků při nízkých hladinách vystavení se působení.

Mechanismus teratogenních efektů a fetotoxických efektů oxidu dusného byl předmětem vyšetřování, avšak nikoliv vyšetřování systematického, proto tedy není obraz kompletní. Dopad inaktivace aktivity MS na syntézu DNA a na dělení buňky byl zaznamenáván v různých kontextech. Zatímco někteří autoři předpokládali, že mechanismus účinku N<sub>2</sub>O na vyvíjející se plod je převážně výsledkem této cesty potlačení methioninové syntázy, mohou také jiné faktory hrát roli při vyšších hladinách vystavení se působení. (*Mazze a spol., 1988, Fujinaga a spol., 1991, Fujinaga a spol., 1987, Hansen a spol., 1993*). Při těchto vyšších hladinách expozice je možné, že jiné fyziologické změny mohou doplňovat metabolické efekty, avšak postižení MS je demonstrováno užitekem pro doplnění folátu a methioninu u krys vystavených působení N<sub>2</sub>O (*Keeling a spol., 1986, Mazze a spol., 1988, Fujinaga a Baden, 1994*). Možnost, že plodnost může být nepříznivě ovlivněna působením oxidu dusného na LH úrovních byla vyzvednuta ve studiích *Kugela a spolupracovníků (1990)*, avšak nebyla dále vyšetřována a jak u zvířat tak ani v rámci klinických studií.

## Teratogenicita a plodová toxicita – Podrobný přehled

### 7.2.2.1 Krysa

#### 7.2.2.1.1 Expozice při nízkých dávkách – v oblasti 0,1 % (1000 ppm)

Corbett a spol. (1973) vystavili malé skupiny březích krys působení N<sub>2</sub>O při koncentraci 0, 100, 1000 nebo 15000 ppm po dobu 8 nebo 24 dní za den po dobu 3 – 9 dní mezi osmým a devatenáctým dnem gestace:

Krysy, vystavené působení N<sub>2</sub>O při 1000 ppm nebo 15000 ppm po dobu 24 hodin / den a dvě skupiny vystavené působení 1000 ppm po dobu 8 hodin/den, vykazovaly zvýšenou míru úmrtí plodu v porovnáním se všemi kontrolami. (Tabulka 6.1). Tyto výsledky ukazují konzistentně vyšší hladiny ztráty plodu při úrovních expozice 1000 ppm. Změny, které se vyskytují mezi skupinami vystavenými ve stejných dnech gestace působení stejné úrovně oxidu dusného ukazují, že pozorované rozdíly nemusí všechny být v důsledku takových vystavení se působení, avšak tato studie má omezenou hodnotu pokud se jedná o stanovení hladin bez nepříznivého účinku.

Skupina	Počet krys	Počet implantací	N <sub>2</sub> O (ppm)	Doba trvání (hod/den)	Gestace dny	Implantace / krysu	Úmrtí plodu - míra
1	12	72	15000	24	8 - 13	6,0*	11,1*
2	10	112	0	24	8 - 13	11,2	1,8
3	6	53	1000	24	12 - 19	8,8*	18,9*
4	9	100	0	24	12 - 19	11,1	4,0
5	10	109	1000	8	10 - 13	10,9	18,4**
6	9	97	100	8	10 - 13	10,8	15,5 ‡
7	7	76	1000	8	14 - 19	10,9	14,5*
8	10	99	100	8	14 - 19	9,9	6,1
9	7	82	1000	8	10 - 19	11,6	7,3
10	7	80	100	8	10 - 19	11,4	5,0
11	11	112	0			10,2	5,4

Výsledky, které jsou označeny hvězdičkou, jsou významně odlišné od kontrol:

\*  $P < 0,05$ . \*\*  $P < 0,01$

‡ Významně odlišné pouze od Kontrolní skupiny 2

Tabulka 6.1

Výhrady plynoucí ze shora uvedené studie jsou podpořeny výsledky studie, kterou publikovali Popea spol. (1978), která zahrnovala malé skupiny (7 – 10) březích krys, které byly vystaveny působení 0 %, 1,0 %, 10,0 % a 50 % N<sub>2</sub>O po dobu 8 hodin denně po celé období gestace.

Zvířecí matky byly usmrceny dvacátého prvního dne a byl vyšetřován uterinní, děložní obsah. Vystavení se působení vedlo ke snížené váze plodu při nejvyšších dvou takových expozicích a ke snížené hmotnosti plodového lůžka při všech expozicích. Pokud se jedná o ztrátu plodu, pak tedy byla uváděna jako mírně vyšší než tomu bylo u souboru kontrol v případě dvou nejvyšších vystavení se působení oxidu dusného, avšak nikoliv při nejvyšší hladině expozice. Je tu však také poznámka, že tyto úrovně se neliší od úrovně obecného základu. Vzhledem k tomu, že nebyla prezentována úplná data a analýza, pak tedy není možno učinit další závěry, avšak mírný efekt na přežití plodu při těch nejnižších mírách expozice byl konzistentní s jinými studiemi.

Avšak studie zabývající se skupinami 12 březích krys Wistar, které byla vystaveny kontinuálnímu působení od dne po páření do devatenáctého dne březosti oxidu dusného se vzduchem o koncentracích 0, 250, 500 a 1000 ppm (Vieira a spol., 1980), odhalila některé nepříznivé účinky při aplikaci úrovně 1000 ppm.

Krysy byly usmrceny po 19 dnech a byl vyšetřován jejich uterinní, děložní obsah. Střední velikost vrhu mlád'at a temeno – kostrční délka u skupiny vystavené působení 1000 ppm byly významnou měrou sniženy v porovnání s kontrolami. Jiné úrovně expozice nevykázaly v těchto ohledech žádný rozdíl od kontrol. Skupina, která byla vystavena působení 1000 ppm také vykázala 4 resorpce v porovnání s nulovým počtem, jak je tomu u kontrol a v porovnání se skupinami, které byly vystaveny působení o nižších dávkách. Abnormality měkkých částí nebyly uváděny u žádné skupiny a abnormality týkající se kostry byly pozorovány pouze u skupiny, která byla vystavena působení oxidu dusného v míře 1000 ppm.

N <sub>2</sub> O (ppm)	Velikost vrhu mlád'at			Měření temeno - kostrční délky (mm)			Resorpce	
	Počet	Rozsah	Průměr ± směrodatná odchylka	Počet	Rozsah	Průměr ± směrodatná odchylka	Počet	Počet
0 (kontrola)	12	9 – 13	11,3 ± 1,4	120	32 - 50	44 ± 1,4	120	0
1000	12	3 – 9	6,3 ± 4,0**	66	30 - 45	35 ± 1,6*	66	4***
500	12	9 - 13	11,0 ± 1,4	118	32 - 50	43 ± 1,3	118	0
250	12	8 – 13	11,3 ± 1,3	120	32 - 50	43 ± 1,4	120	0

- Výsledky, které jsou označeny hvězdičkou, se výrazně odlišují od kontrol: \*  $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ , \*\*\* $P < 0,001$

Tabulka 6.2 Měření u plodů, které jsou vystaveny nízké koncentraci N<sub>2</sub>O /Vieira a spol., 1980).

Při vyšších vystaveních se působení oxidu dusného ta stejná skupina identifikovala abnormality u plodů (Vieira, 1979): 12 březích krys Wistar byl vystaveno působení konstantní hladiny 0,5 % N<sub>2</sub>O (5000 ppm) během březosti a toto bylo porovnáno s podobnou skupinou, která byla vystavena působení pouze vzduchu. Zvířecí matky byly usmrceny po 19 dnech a byl vyšetřován jejich uterinní, děložní obsah. U skupiny, která byla vystavena působení oxidu dusného byly pozorovány zvýšené ztráty plodu. U plodů, které byly vystaveny působení oxidu dusného byla zjištěna také snížená hmotnost plodu a snížená temeno – kostrční délka. U kontrol nebyly pozorovány abnormality ohledně kostry, avšak tyto kostrní abnormality byly pozorovány v 9 % případů plodů, které byly vystaveny působení oxidu dusného. Tyto nebyly podrobně popsány, i když je komentováno, že výskyt takových abnormalit je vyšší u samic než u samců. Nebyly zaznamenány žádné abnormality vnitřních orgánů.

Porovnání efektů přerušovaného vystavování se působení s takovými předchozími výsledky, které se týkají kontinuálního vystavení se působení oxidu dusného, publikoval Vieira a spol. (1983) a toto porovnání demonstruje významně nižší nepříznivé efekty než ty, které byly pozorovány po kontinuální expozici podobným úrovním.

Skupiny 12 březích krys Wistar byly vystaveny po dobu 6 hodin za den a to 5 dní v týdnu hladinám koncentrace oxidu dusného ve vzduchu 0, 250, 500, 1000 a 5000 ppm N<sub>2</sub>O během gestace. Zvířecí matky byly usmrceny po 19 dnech a byl vyšetřován jejich uterinní, děložní obsah. Velikost vrhu mlád'at a temeno – kostrční délka plodu byly sniženy u skupiny, která byla vystavena působení 0,5 % N<sub>2</sub>O. U žádné z těchto skupin nebyly malformace či znetvoření nebo resorpce.

N <sub>2</sub> O (ppm)	Velikost vrhu mlád'at			Měření temeno - kostrční délky (mm)		Tělesná hmotnost	
	Počet plodů	Rozsah	Průměr ± směrodatná odchylka	Rozsah	Průměr ± směrodatná odchylka	Rozsah	Průměr ± směrodatná odchylka
0 (kontrola)	120	9 – 13	11,3 ± 1,4	32 - 50	44 ± 1,4	2,0-3,5	2,6 ± 1,4

5000	98	6 - 10	7,0 ± 2,3***	29 - 50	38 ± 1,2***	2,0-3,1	2,2 ± 1,2
1000	117	8 - 13	10,0 ± 1,2	30 - 50	40 ± 1,3	2,0-3,2	2,4 ± 1,2
5000	117	8 - 13	11,0 ± 1,3	31 - 50	42 ± 1,2	2,0-3,2	2,5 ± 1,3
250	119	9 - 13	11,2 ± 1,3	32 - 50	42 ± 1,4	2,0-3,5	2,6 ± 1,4

Výsledky, které jsou označeny hvězdičkou, se výrazně odlišují od kontrol: \*\*\* $P < 0,001$

Efekty vyplývající z vystavení se působení oxidu dusného během různých období gestace na vývoj mláďat vyšetřovali Vieira a spol. (1978):

Skupiny 8 březích krys byly vystaveny působení vzduchu, který obsahoval oxid dusný s koncentrací 1 % (10 000 ppm) po dobu 6 hodin denně, po dobu pěti dnů v týdnu během prvního týdne gestace, během prvních dvou týdnů gestace nebo po celou dobu 3 týdnů gestace. Všem krysám bylo umožněno vrhnout svá mláďata a takový vrh mláďat byl monitorován po dobu 8 týdnů po vrhu. Velikost vrhu mláďat ve všech skupinách, které byly vystaveny působení oxidu dusného byla významným způsobem nižší ve srovnání s kontrolami a tělesná váha takových mláďat byla nižší než tomu bylo u kontrol a to v průběhu monitorování, které bylo prováděno po dobu 8 týdnů po vrhu. Mláďata matek, které byly vystavené pouze během prvního týdne březosti, měla menší hmotnost ve srovnání se všemi ostatními a to ve všech případech. Délka ocasu a délka těla byly sníženy u všech skupin, na které byl aplikován oxid dusný během 8 týdnů období po vrhu, byly porovnané s kontrolami, i když rozdíly nebyly vždy nějak statisticky významné.

#### 7.2.2.1.2 Jednoduché vystavení se působení po dobu 24 hodin – vysoký expozice (> 5 %, 50 000 ppm)

Potenciální teratogenicitu oxidu dusného byla demonstrována v jedné z dřívějších studií o nepříznivých efektech působení oxidu dusného na reprodukci. (Fink a spol., 1967).

Krasy ve svém osmém dnu březosti byly vystavené působení oxidu dusného o koncentraci mezi 45 a 50 %  $N_2O$  a to po dobu 24 hodin po 2, 4 nebo 6 dní. I když počet krys v každé skupině byl velice malý, byl tu důkaz o zvýšené míře resorpce po dvou dnech, která se potom zvýšila při delším vystavení se působení. Podobný model byl pozorován u kosterních malformací či tedy znetvořeních. Autoři v tomto případě spekulují o možných rozdílech v závislosti na pohlaví a to vzhledem k tomu, že vrhy mláďat od zvířat, které byly vystavené působení oxidu dusného, vykazují významně nižší počet samců v porovnání s kontrolami. Celkově je tato studie příliš omezená, aby mohlo provést závěr o podrobných výsledcích, avšak nepříznivý vliv oxidu dusného na resorpce a na abnormality je v tomto případě jasným způsobem demonstrován.

Při vyšetřování důležitosti časování vystavení se působení během gestace, byly skupiny 20 březích krys vystavené po 24 hodin působení 60 %  $N_2O$  v den 6, 7, 8, 9, 10, 11 nebo 12. V tomto případě jako kontroly působila skupina 30 krys, které nebyly vystavené působení. (Fujinaga a spol., 1989).

Všechny krasy byly usmrčené ve 20. den a podrobně byl vyšetřován obsah jejich plodového lůžka. Každý živý plod byl vyšetřován na abnormality a stejný počet byl určen pro vyšetřování kostry a na vyšetřování měkkých částí. 15 krys ze skupiny 140 krys, které byly vystavené působení, zemřelo v průběhu takové expozice. Tato studie demonstruje široký rozsah abnormalit, které vyplývají z vystavení se působení  $N_2O$ , avšak se špičkovým výskytem abnormalit žeberních a abnormalit vertebrálních či tedy obratlových a to po 9. dnu takového vystavení se působení. Výsledky plodové úmrtnosti v tomto případě vykazují dvě špičkové hodnoty, jedna se objevuje v 8. den, která se bere tak, že představuje výskyt fatálních teratologických efektů, avšak druhá špičková hodnota, která se objevuje v 11. den, u které je obtížnější přiřadit nějakou příčinu. Autoři doporučují, že toto by mohlo být spojeno s poruchou spojenou s náhlou změnou placentární výživy, ke které v tomto případě v normálním případě dochází.

Na základě předpokladu, že devátý den představoval kritickou dobu pro teratogenní nepříznivé účinky, Mazzel a spol. (1984) uvedli výsledky čtyř experimentů, které při jejich provádění zahrnovaly vystavení se březích krys po dobu 24 hodin v devátý den březosti působení oxidu dusného o koncentracích 0 %, 0,75 %, 7,5 %, 25 % nebo 75 %  $N_2O$ .

Celkem tedy, počet zvířat, která byla vystavena působení, byl 160, 27, 25, 49 respektive 62. Výsledky z různých studií byly v tomto případě spojené dohromady k provádění rozboru. Faktory, jako je přepravování ve stavu březosti, napětí plynoucí z přítomnosti v ohraničeném prostoru při vystavování se působení a nedostatek přívodu potravy byly v tomto případě studovány, přičemž nebyl shledán žádný vliv na výsledek takového vystavení se působení oxidu dusného. Nepříznivé efekty, které byly pozorovány u krys po vystavení se působení oxidu dusného při koncentraci 75 %  $N_2O$  po dobu 24 hodin v 9. den březosti, byla zvětšení v resorcích a v malformacích či tedy znetvořeních hlavních měkkých částí a znetvořeních kosterních (jako na příklad zakrnění, rozštěpy patra, exencefalie, zraková znetvoření a deformity či znetvoření údů, končetin). K takovýmto nepříznivým efektům nedochází při aplikování nízkých dávek expozice. Avšak výskyt menších kosterních variant, jako jsou zvláštní bederní žebra, ukázal na zvýšení a to v závislosti na aplikovaných dávkách od 7,5 %

oxidu dusného směrem nahoru. Celkové menší varianty (jako na příklad zvláštní bederní žebra, opožděné kostnatění či osifikace, asymetrická hrudní kost či sternum) byly ze statistického hlediska významným způsobem zvýšené v porovnání s kontrolami a to dokonce i při té nejnižší vystavení se působení oxidu dusného. Potlačení dU se měřilo v kostní dřeni a u plodů zvířat, která byla vystavena působení oxidu dusného, 25 % N<sub>2</sub>O a to jak bezprostředně po expozici, tak o 24 hodin později. Výsledky demonstrují v tomto případě větší potlačení dU, než je tomu u kontrol a to v obou časových bodech, i když se hodnoty vrátily v pozdějším bodu k normálu. Autoři předkládají závěr o prahové hodnotě pro teratologický efekt při tomto režimu vystavení se působení v oblasti mezi 26 % a 75 % N<sub>2</sub>O, přičemž toto je založeno na neexistenci hlavních nepříznivých efektů u skupiny s 25 %.

Existence významných zvýšení ve výskytu menších abnormalit a to dokonce i v případě úrovně expozice 0,75 %, nechává tento závěr otevřený k dalšímu zkoumání.

Fujinaga a spol. (1990) prováděli studování krysu, které byly vystavené působení oxidu dusného v 8. den gestace:

Sledujíc doporučení, že vystavení se působení oxidu dusného ovlivnilo lateralitu (tedy vrozené nebo získané přednostní užívání orgánu jedné poloviny těla) u plodů, bylo 36 březích krysu vystaveno působení oxidu dusného o koncentraci 75 % N<sub>2</sub>O po dobu 24 hodin v 8. den gestace a potom dalších 34 krysu bylo vystaveno působení pouze vzduchu a současně 4 až 6 krysu z každé skupiny bylo usmrceno ve dnech 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18 a 20 a podrobně byl potom vyšetřován jejich uterinní, děložní obsah. Pro všechny živé plody byla zaznamenávána lateralita (tedy vrozené nebo získané přednostní užívání orgánu jedné poloviny těla) u plodů, týkající se ohnutí ohonu, nouze umbilikální či pupečnickové tepny a zakřivení aortálního, srdečnicového oblouku. U skupiny, která byla 14. den vystavena působení oxidu dusného, se dramatickým způsobem zvýšila úmrtnost a resorpce. Za všech okolností byla detekována změněná lateralita (tedy vrozené nebo získané přednostní užívání orgánu jedné poloviny těla) u vysokého podílu plodů od matek, které byly vystaveny působení oxidu dusného.

Za účelem testování hypotézy, že teratogenicita od N<sub>2</sub>O byla pouze v důsledku fyziologických efektů anestetik, bylo provedeno porovnávání účinků xenonu a oxidu dusného. Toto provedli Lane a spol. (1980):

4 skupiny po 8 březích krysách byly vystavené působení 25% O<sub>2</sub>, 70 – 75 % N<sub>2</sub>, 70 – 75 % N<sub>2</sub>O nebo 70 – 75 % xenonu a to po dobu 24 hodin v 9. den březosti. Tato zvířata byla usmrcena 20. den a byl potom vyšetřován jejich uterinní, děložní obsah. Resorpce a počet abnormalit se zvýšil pouze ve skupině N<sub>2</sub>O. Autoři v tomto případě došli k závěru, že nepříznivý účinek N<sub>2</sub>O na plod tedy musí být v důsledku nějakých specifických chemických efektů spíše než obecných fyziologických efektů, které by byly společné pro obě anestetika.

Při vyšetřování možnosti, že efekty oxidu dusného by mohly být podpořeny a pozvednuty použitím jiných anestetik, byla u skupin minimálně 54 březích krysu provedena implantace osmotických mini – čerpadel dodávajících fyziologický roztok nebo Fentanyl v T. den březosti (Mazze a spol., 1987).

V 9. den byly krysy vystaveny působení prostředí, která obsahovala 0,35 nebo 50 % oxidu dusného, po dobu 24 hodin. V 21. den březosti byly zvířecí matky usmrcené a byl potom vyšetřován jejich uterinní, děložní obsah, přičemž současně bylo prováděné plné kosterní vyšetřování nebo vyšetřování měkkých částí všech živých plodů. Byl tu významně velký počet mrtvých během vystavení se působení oxidu dusného ve skupinách, kterým byla dána obě anestetika. Zvýšená míra resorpce a následující snížené počty plodů byly zjištěny u krysu, které byly vystaveny působení oxidu dusného o koncentraci 50 % N<sub>2</sub>O, avšak nikoliv v případě expozice 35 % N<sub>2</sub>O. Menší kosterní abnormality byly méně časté, než tomu bylo v případě kontrol a to pokud se jedná o plody ze skupiny, která byla vystavena působení oxidu dusného v míře 50 % N<sub>2</sub>O. Vývojové kosterní varianty byly významným způsobem sníženy u plodů ze skupiny, které byly vystavené kombinovanému působení s použitím obou hladin působení N<sub>2</sub>O. Zvýšení u těchto variant ve skupinách, které byly vystavené pouze působení oxidu dusného, nebyly ze statistického hlediska významné.

#### **7.2.2.1.3 Vysoká expozice (větší jak 5%) po dobu více jak 1 den**

Nepříznivé účinky vyplývající z krátkých časových období vystavení se působení oxidu dusného během březosti byly studovány Ramazzottem a spolupracovníky (1979).

Skupiny 10 březích krysu byly vystavené účinku působení oxidu dusného s koncentrací 50 % N<sub>2</sub>O po dobu 25 minut každý den po dobu po sobě následujících tří dní během březosti (9 – 11, 12 – 14, 15 – 17) a tyto byly obětované ihned po posledním vystavení se působení oxidu dusného (dny 14 nebo 17) nebo po 20 dnech. Kontrolní skupina čítající 10 krysu byla obětována současně s těmi skupinami, které byly vystavené působení oxidu dusného. Procentuální hodnota resorpcí se zvýšila v porovnání s kontrolami a to u všech krysu, které byly vystavené působení oxidu dusného mezi dnem 12 a 14 a trochu, pokud se jedná o ty, které byly vystavené působení oxidu dusného mezi dny 15 a 17. V rámci této studie nebyly uvedeny žádné jiné rozdíly, i když plody byly předmětem pouze jen omezeného vyšetřování.

Vliv vystavení se působení oxidu dusného během gestace vyšetřovali Tassinari a spol. (1986):

Malé skupiny březích krys (5 – 7 zvířat) byly vystaveny působení oxidu dusného o koncentraci 75 % N<sub>2</sub>O a to po dobu 8 hodin za den mezi dny 9 – 13 a 11 – 15 březosti nebo po dobu 24 hodin za den mezi dny 11 – 15 nebo 16 – 20 březosti. Všechny zvířecí matky byly usmrceny 21. dne. Velikost vrhu mláďat a resorpce nebyly ovlivněny žádným z režimů aplikace působení oxidu dusného, avšak 24 hodinové vystavení se působení vedlo k nižším hmotnostem těla plodu a matky. Nebyly identifikované žádné takové významné nepříznivé efekty na plody s ohledem na malformace či znetvoření, s ohledem na kosterní malformace či znetvoření nebo s ohledem na celkový mozkový a játrový protein nebo na obsah DNA.

Autoři v tomto případě také uvádějí podrobnosti o prováděných vyšetřováních na mláďatech, která byla vychovávána zvířecími matkami, které byly vystavené působení oxidu dusného po dobu 8 hodin denně ve dnech 14 – 15 březosti. Zde se projevuje v tomto případě velice mírná retardace ve vývoji mláďat, která byla vystavena působení oxidu dusného v prvních 14 dnech života, jinak totiž nebyl pozorován žádný rozdíl.

### 7.2.2.2 Myši

Mazze a spol. (1982, 1986) studovali účinky působení oxidu dusného na myši:

Skupiny březích myší o počtu 34 a 24 byly vystavené působení prostředí oxidu dusného, která obsahovala 0 %, 0,5 %, 5,0 % nebo 50 % N<sub>2</sub>O po dobu 4 hodin za den a to od 6. do 15. dne gestace. Zvířecí matky byly 18. dne usmrcené a bylo prováděno potom vyšetřování jejich uterinního, děložního obsahu. Nebyl zjištěn žádný rozdíl mezi kontrolami a jakoukoliv jinou skupinou, která byla podrobena expozici, pokud se jedná o výskyt nebo existenci resorpcí nebo abnormalit plodu.

Mezze a spol. (1986) uvádějí výsledky vystavení se působení oxidu dusného u skupin 18 – 29 březích myší, kdy se jednalo o koncentrace 75 % N<sub>2</sub>O nebo výsledky vystavení se působení jednoho ze tří jiných anestetik a to po dobu 6 hodin za den po dobu tří dnů (buď 14 – 16, 11 – 13 nebo 8 – 10). Zvířecí matky byly usmrceny v den 21 a bylo prováděno potom vyšetřování jejich uterinního, děložního obsahu. Došlo k určitému snížení hmotnosti plodu při použití všech anestetik po expozici po 14 – 16 dnech a se všemi mimo N<sub>2</sub>O po jiných časových obdobích expozice. Jinak tedy, jediným pozorovaným efektem tedy bylo zvýšení resorpcí po vystavení se působení oxidu dusného ve dnech 14 – 16. Při jakémkoliv vystavení se působení oxidu dusného nedošlo ke zvýšení, pokud se jedná o abnormality plodu.

### 7.2.2.3 Křeček

K potvrzení toho, že nepříznivé účinky, které byly pozorované u krys byly významné pro jiné druhy, byly skupiny 5 nebo 6 křečků vystavené působení oxidu dusného v koncentracích 0 %, 70 %, 80 %, 90 % nebo 95 % N<sub>2</sub>O po dobu 24 hodin v 7., 8., 9., 10. nebo 11. den březosti (Shah a spol., 1979):

Všechna zvířata byla usmrcena v 15. den březosti a bylo prováděno potom vyšetřování jejich uterinního, děložního obsahu. Byl pozorován zvýšený výskyt resorpcí v případě aplikace 95 % N<sub>2</sub>O v sedmý den a při aplikaci 90 % N<sub>2</sub>O v den 10 a 11. Celkový počet 44 z počtu 1109 plodů ze skupin, které byly vystaveny působení oxidu dusného, vykázal malformace či tedy znetvoření, zatímco žádné takové malformace nebyly pozorovány u kontrol. Výskyt těchto malformací byl vyšší u skupin, které byly vystaveny působení vyšších koncentrací oxidu dusného a u zvířat, které byly vystaveny působení ve dnech 9, 10 a 11 březosti. Takové malformace zahrnovaly rozštěp patra, defekty končetin, vyhrznutí střeva a celkový otok. Další skupina křečků, která byla vystavená působení oxidu dusného v koncentraci 50 % N<sub>2</sub>O po 4 nebo 5 dní od 7. nebo 8. dne březosti, nevykázala žádná znetvoření nebo nějaké zvýšené míry resorpce.

### 7.2.2.4 In vitro

Bylo vynaloženo určité úsilí k namodelování účinků působení oxidu dusného s použitím modelů in vitro, avšak zatím tyto nějakou významnější měrou nepříspěly k pochopení těchto účinků:

Baden a Fujinaga (1991) studovali účinky na *in vitro* vývoji v 9. den embryí krys při vystavení se působení oxidu dusného po dobu 24 hodin při koncentracích 0 %, 5 %, 25 % nebo 75 % N<sub>2</sub>O. Kultury byly po takovém vystavení se působení udržovány po dobu dalších 24 hodin bez N<sub>2</sub>O. Embrya, která byla vystavena působení oxidu dusného o koncentracích 25 % nebo 75 % N<sub>2</sub>O vykazovala menší temeno – kostrční délku, počet somitů a menší obsah proteinu v porovnání s kontrolami. Zvýšený výskyt abnormalit byl pozorován u skupiny s expozicí 75 % a některé efekty byly zjištěny již v případě koncentrace 25 %. Skupina, která byla vystavena působení s 5 % nebyla rozlišitelná od kontrol.

Fujinaga a spol. (1988) vystavili 10 – denní embrya krys po dobu 22 hodin vystavení působení buď kontrolní atmosféry (75 % N<sub>2</sub>, 20 % O<sub>2</sub> a 5 % CO<sub>2</sub>) nebo atmosféry, ve které byl N<sub>2</sub> nahrazen N<sub>2</sub>O. Nebyly zjištěny žádné rozdíly mezi těmito působeními, pokud se jedná o temeno – kostrční délku, počet somitů a o index končetinových pupenů. Průměrný obsah DNA byl o 20,5 % nižší v případě embryí, která byla vystavena působení oxidu dusného, než tomu bylo u kontrol, zatímco průměrný obsah proteinu byl o 9,3 % nižší. Ve skupině, která byla vystavena působení oxidu dusného bylo zjištěno 7



abnormálních embryí v porovnání s žádným abnormálním embryem u kontrol. Abnormality zahrnovaly zauzlené ocase, některé malformace hlavy a vlevo umístěné ohony. Ačkoliv tyto výsledky jsou indikativní ohledně přímého nepříznivého vlivu na plod, interferujícího se syntézou DNA, autoři se zdráhají toto přijmout jako za jediný mechanismus N<sub>2</sub>O teratogenecity.

V krátké poznámce Fujinaga a Baden uvádějí, že ustavili robustnější in vitro teratologický model s použitím plodů na 9. dni. Tento model ukazuje významné efekty při 24 hodinovém vystavení se působení oxidu dusného o koncentraci 50 – 75 % N<sub>2</sub>O na výskyt znetvoření a na obsah proteinu u embryí.

### 7.2.2.5 Mechanismus teratogenecity a fetální toxicity

Jestliže se předpokládá, že cesta syntázy metioninu je zapletena do fetální toxicity N<sub>2</sub>O, pak tedy doplnění folátem by mohlo snížit efekty a byly vedeny studie o takovém doplnění demonstrující určitý prospěšný účinek:

Skupinám 6 – 10 březích krys Sprague – Dawley byla podávána voda nebo kyselina folinová i.p. intraperitoneální, nitropobřišnicovou injekcí odpoledne v 8. den březosti a opět potom o 12 hodin později (Keeling a spol. 1986). Tyto krysy byly vystaveny působení buď vzduchu nebo 70 – 75 % N<sub>2</sub>O po dobu 24 hodin bezprostředně po druhé injekci. Jedna skupina, které byla podávána voda injekcí, byly ponechána bez potravy po dobu 24 hodin expozice. Další skupina, před jejím vystavení působení vzduchu, nedostala žádnou injekci. Ve 21. den byly zvířecí matky usmrceny a bylo prováděno potom vyšetřování jejich uterinního, děložního obsahu. Po vystavení působení vzduchu nebo oxidu dusného byly měřeny hladiny kyseliny folinové a jak methylfoláty tak nemethylfoláty byly trochu zvýšené v porovnání se skupinou bez doplňování a to jak u krys vystavených působení vzduchu tak N<sub>2</sub>O. Nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi skupinami vystavenými působení a skupinami kontrolními a to v počtu implantátů, v počtu živých plodů nebo resorpcí. Hmotnost plodu byla významně snižena v obou skupinách vystavených působení N<sub>2</sub>O. Za nepřítomnosti kyseliny folinové vedlo vystavení se působení N<sub>2</sub>O k významně zvýšenému výskytu větších kosterních znetvoření. Výskyt těchto znetvoření u krys, na které byla aplikována kyselina folinová a které byly vystavené působení N<sub>2</sub>O, byl vyšší v porovnání s kontrolami, avšak nejedná se o statisticky významný rozdíl.

V rámci další studie, která byla založena na stejných předpokladech Mazze a spol. (1988) vyšetřovali účinek doplňování kyseliny folinové nebo ko-podávání (či společného podávání) 0,27 % halotanu na teratogenní efekty (působící na vznik vývojových defektů) vyvolané vystavením březích krys působení oxidu dusného o koncentraci 75 % N<sub>2</sub>O po dobu 24 hodin v 8. den březosti. Zatímco doplňování kyseliny folinové snížilo pouze mírně prudkost některých z efektů N<sub>2</sub>O, uvedené ko- podávání (či společného podávání) halotanu eliminovalo tyto efekty zcela. Autoři docházejí k závěru, že toto ukazuje, že teratogenní účinky oxidu dusného mohou být spíše v důsledku fyziologických efektů na přívod krve do dělohy než v důsledku inaktivace syntázy metioninu. Významnost tohoto výsledku na nižší hladiny vystavení se působení N<sub>2</sub>O je nejistá.

Fujinaga a spol. (1987) se ptali, zda inhibice syntázy metioninu představovala ten jediný zdůvodňující faktor teratogenecity N<sub>2</sub>O a porovnávali efekty jiného anestetika:

V osmý den byl skupině 30 březích krys podáván 0,35 % isofluran, 50 % N<sub>2</sub>O nebo kombinace 50 % N<sub>2</sub>O a 0,35 % isofluranu po dobu 24 hodin. Kontrolní skupině 40 krys byl ve stejnou dobu podáván vzduch. Zatímco účinek aplikace 50 % N<sub>2</sub>O vykazoval očekávaná zvýšení resorpcí a ztrát plodu, byly tyto efekty významným způsobem snižené současným podáváním isofluranu. Stejný model byl patrný u abnormalit měkkých částí, avšak kosterní varianty byly v porovnání s kontrolami zvýšené a to jak v případě pouze vystavení se účinku N<sub>2</sub>O, tak při kombinovaném vystavení se působení. Ochranné efekty ko-podávání (či společného podávání) isofluranu vedou autory k otázce ohledně inhibice či potlačení syntázy metioninu jako mechanismu teratogenecity N<sub>2</sub>O a efekt potlačování toku krve do dělohy je citován jako možná alternativa.

V důsledku pokračující představy, že efekty N<sub>2</sub>O mohou být v důsledku faktorů jiných než inaktivace syntázy metioninu, byly skupiny krys vystaveny působení vzduchu nebo 60 % N<sub>2</sub>O v osmý den březosti po předchozí aplikaci Fenoxibenzaminu při 0, 2, 5, 5, 25, 50, 100, 250, 300, 500 nebo 3000 µg/kg (Fujinaga a spol., 1991). Tato předběžná aplikace fenoxibenzaminu při koncentraci 5 nebo 50 µg/kg snížilo míru některých menších abnormalit a celkovou úmrtnost plodů včetně resorpcí. Výsledky byly interpretovány tak, že ukazují zapojení stimulace α-1 adrenergického receptoru jako součást mechanismu teratogenecity N<sub>2</sub>O. Celkově výsledky ukazují na určitou prospěšnost uvedené předběžné aplikace, avšak toto není dostačující k tomu, aby na to byl brán ohled jako na nějakou významnou součást celkového mechanismu.

Hansen a spol., 1993 studovali účinek N<sub>2</sub>O adenosylmetionin (AdoMet) matky a plodu a adenosylhomocystein (AdoHcy) matky a plodu.

Skupiny přibližně 10 březích krys byly v 10. den březosti vystavené působení oxidu dusného 0 % nebo 50 % N<sub>2</sub>O po dobu 24 hodin nebo po dobu 22 hodin, přičemž potom následovala nitropobřišnicová, intraperitoneální injekce metioninu a potom následovaly další 2 hodiny vystavení se N<sub>2</sub>O. Krysy byly usmrčené okamžitě po uvedené expozici a vzorky jater matky a plody byly zmrazeny pomocí suchého ledu. Vzorky tkání byly analyzovány na obsah folátů, methylovaných folátů, dekarboxylázy ornitinu (kyseliny diaminovaleřianové) (ODC), AdoMet a AdoHcy. I když ztráty po implantaci byly větší u skupin, které byly vystavené působení oxidu dusného, nebyly tyto rozdíly statisticky významné a aplikace metioninu neměla na frekvenci či tedy četnost žádný vliv. Vystavení se působení N<sub>2</sub>O snížilo celkové hladiny folátu, avšak nikoliv procentové hodnoty, které jsou tu přítomné jako methylované foláty a injekce metioninu tuto situaci nezměnily. Nebyl žádný efekt vystavení se působení oxidu dusného na AdoMet matky nebo plodu nebo AdoHcy matky, ale injekční vstřikováním metioninu zvýšilo u matek hladiny obou, přičemž byl udržen mezi nimi stejný poměr. ODC nebylo ovlivněno vystavením se působení oxidu dusného nebo injekčním vstřikováním metioninu. Celkově tato studie neposkytuje žádné vysvětlení ohledně mechanismu, pokud se jedná o fetotoxické efekty N<sub>2</sub>O a to hlavně v důsledku selhání protokolu k reprodukování předchozích pozorování.

S použitím 9 – denních embryí krys Fujinaga a Baden (1994) prováděli vyšetřování preventivních efektů  $\alpha_1$  adrenergického antagonistu (Prazocin), metioninu a kyseliny folinové na teratogenní změny vyvolané N<sub>2</sub>O:

Plody byly vystaveny působení oxidu dusného o koncentraci 75 % N<sub>2</sub>O po dobu 24 hodin. Nejvýraznější efekt různých aplikací byl v případě metioninu, který téměř úplně eliminoval všechny účinky vystavení se působení N<sub>2</sub>O, pokud tedy se jedná o malformace, temeno – kostrční délku a počet somitů. Jiná doplnění vedla jen k malému rozdílu vzhledem k modelu změn vyvolaných působením oxidu dusného.

## Teratogenicita a fetální toxicita – Klinické údaje

### 7.2.3.1 Přehled

#### 7.2.3.1.1 Vystavení se působení koncentrací anestetik v průběhu těhotenství

Použití anestetik během chirurgie v průběhu těhotenství a následné potom efekty na vývoj plodu byly studovány několika skupinami (Mazze a Kallan, 1989, Smith, 1963, Shnider a spol., 1965, Brodsky a spol., 1980, Duncan a spol., 1986, Crawford a Lewis, 1986, Konieczko a spol., 1987) a i když chirurgie je sama spojena s určitými riziky pro přežití plodu, neexistuje tu žádný důkaz o tom, že vystavení se působení anestetik a to včetně oxidu dusného, má nějaký vliv na jakýkoliv aspekt vývoje a to včetně potratu a vývoje kongenitálních či tedy vrozených abnormalit.

#### 7.2.3.1.2 Důkaz teratogenicity

I když dvě studie (Cohen a spol., 1980, Corbett a spol., 1974) ukázali na zvýšenou míru vrozených abnormalit u potomků anesthesiologů a zubních asistentů vystavených působení anestetik, tyto studie trpěly velkými nedostatečnostmi ohledně přístupu, kdy obě tyto studie byly založené na retrospektivních datech z dotazníků, která téměř jistě povedou k předpojatosti u takových výsledků. Další studie neukázaly žádné takové indikace takového efektu (Crawford a Lewis, 1986, Konieczko a spol., 1987, Mazze a Kallan, 1989, Cohen a spol., 1971).

#### 7.2.3.1.3 Účinky vystavení se působení při výkonu povolání

Vystavení se působení anestetik při výkonu povolání během těhotenství bylo předmětem velkého počtu studií, které jsou v souhrnu uvedené v Tabulce 5.4. Některé z těchto studií poskytly indikace o možném zvýšeném výskytu spontánního potratu u lidí, kteří byli vystaveni anestetikům v rámci výkonu svého povolání (Cohen a spol. 1971, 1980, Knill-Jones a spol., 1972, Rosenberg a Kirves, 1973, Knill-Jones a spol., 1975, Mirakhur a spol., 1975, Cohen a spol., 1980, Guirgis a spol., 1990, Saurel – Cubizolles a spol., 1994). Jiné studie neukázaly žádné takové účinky (Cohen, 1974, Pharoah a spol., 1977, Lauwerys a spol. 1981, Axelsson a spol., 1982, Heidam, 1984, Ericson a Kallen, 1985, McDonald a spol. 1986, McDonald a spol. 1988, Rowland a spol. 1995, Hemminki a spol. 1985, Johnson a spol. 1987). Mělo by se na tomto místě poznamenat, že některé z pozdějších studií si mohou nárokovat, že v jejich rámci byly zjištěny rozdíly, avšak intervaly důvěry v tato data neposkytují žádný pocit jistoty, že takový rozdíl je skutečný. Analýza mnoha z těchto studií, které si nárokovaly, že ukázaly, že celkově se zde jedná o pozitivní účinek, avšak, že je zapotřebí zahrnout data a provést posouzení hodnoty takové studie, představuje subjektivní zhodnocení, které má určitá významná omezení. Bohužel je třeba konstatovat, že mnoho z těchto dat vychází z retrospektivních studií na bázi dotazníků bez jakéhokoliv nezávislého ověření takových údajů. Takovéto studie se ve velké míře uznávají jako za takové, které jsou předmětem předpojatosti či zaujatosti a to v důsledku toho, že se tu jedná o vlastní výběr respondentů a v důsledku nepřesností spojených s připomínáním si okolností traumatizujících událostí, jako je tomu v případě narození mrtvého plodu (po 28 týdnech těhotenství), spontánní potrat nebo potrat. Celkově tedy tyto studie představují indikaci trendu směrem ke zvýšeným ztrátám plodu u žen, které jsou

vystaveny anestetiku během těhotenství a toto může být v důsledku předpojatosti, jak to bylo shora popsáno, ale může to být stejně tak skutečný rozdíl, ale v důsledku napětí nebo jiných faktorů, které jsou spojené s výkonem povolání. Studie o vyšší kvalitě, které byly identifikovány (Hemminki a spol. 1985, Ericson a Kallen, 1985), které zahrnují některé kontroly přesnosti dat, nepodporují spojování ztráty plodu a vystavení se anestetiku. Ve dvou studiích, kde expozice známá jako taková, že se jedná o vystavení se působení oxidu dusného (Axelsson a spol., 1996, Heidam, 1984), nebylo žádné takové spojení nalezeno. Studie, kterou vypracovali Bodin a spol. (1999) indikovala možnou spojitost mezi vystavením se působení oxidu dusného u těhotných porodních asistentek a nízkou porodní váhou, avšak v tomto případě použitý soubor dat nebyl přiměřený k tomu, aby byly učiněny pevné závěry a pozorovaný rozdíl by snadno mohl být výsledkem jiných faktorů, o kterých je známo, že nepříznivě ovlivňují porodní váhu.

### 7.2.3.2 Teratogenicita a fetální toxicita – Podrobný přehled

Prošetřování a přehled dat účincích N<sub>2</sub>O na reprodukci, jako to bylo připraveno v roce 1995 pro Výbor pro toxicitu (COT) Spojeného království identifikovaly řadu vyšetřování účinků chirurgie během těhotenství, přičemž žádná z těchto vyšetřování nepřinesla žádný důkaz o nepříznivých účincích takových postupů mimo důsledky vlastní chirurgie:

Smith (1963) informoval o 67 ženách, které prodělaly chirurgický zákrok během těhotenství a to z počtu těhotenství, jak byla zaznamenána americkou (US) námořní nemocnicí. Ke ztrátě plodu došlo v 10 z těchto případů, ale nemohly být učiněny žádné závěry. Nebyly identifikovány žádné plodové abnormality u potomků žen, které prodělaly chirurgii v průběhu těhotenství.

Shnider a spol. (1965) uvádějí dva soubory dat. Ten první soubor se vztahuje na 9073 těhotenství mezi léty 1959 a 1964. 1,6 % z nich mělo chirurgii během těhotenství (47 v prvním čtvrtletí, 58 ve druhém čtvrtletí a 42 ve třetím čtvrtletí). Vady při porodu se vyskytly v 5,4 % skupiny chirurgické, což je porovnatelné se 6 % ve skupině kontrolní. K předčasnému porodu došlo po chirurgii s frekvencí 6,3 % v případě, kdy k tomu došlo po chirurgii v prvním čtvrtletí, 8,62 % v případě, kdy k tomu došlo po chirurgii ve druhém čtvrtletí a 11,4 %, jestliže k tomu došlo v posledním čtvrtletí. Perinatální úmrtnost byla vyšší, než tomu bylo u kontrol, tedy 7,5 % v porovnání se 2 % a porodní váha < 250 g byla také častější (15,6 % v porovnání s 9,9 %), avšak vyloučení takových případů, ve kterých se postoupila procedura Shirodkar pro šití děložního hrdla, snížilo výskyt obou z těchto nálezů vůči úrovním u kontrol.

Druhý soubor dat byl založen na všech případech týkajících se porodnictví ze 17 nemocnic za dobu jednoho roku (1961). Celkový počet těhotenství byl 10912, z nichž ve 2,4 % ženy během těhotenství podstoupily chirurgii. Ty ženy, které prodělaly proceduru Shirodkar vykazovaly mnohem větší míru předčasné úmrtnosti a nízké porodní hmotnosti v porovnání s kontrolami. Ty ženy, které podstoupily jiné chirurgické zákroky a to včetně excize červovitého přívěsku se moc neodlišovaly od kontrol, pokud se jedná o výskyt anomálií při narození, předčasné úmrtnosti a nízké porodní hmotnosti.

Brodsky a spol. (1980) uvádějí výsledky studie, kterou prováděli prostřednictvím poštu zasílaných dotazníků u zubních lékařek a u zubních asistentek. Tato studie byla prováděna mezi léty 1962 a 1978. Bylo identifikováno 287 žen, které prodělaly chirurgii během těhotenství. Analýza v tomto případě ukázala významně zvýšenou míru spontánních potratů a to zvláště v takových případech, kdy tyto ženy podstoupily chirurgii během prvního čtvrtletí, tedy 8% v porovnání s 5,1 %, jak tomu bylo u kontrol. Je tu také názor či domněnka, že tu byl větší výskyt spontánního potratu mezi těmi, které předtím při výkonu povolání byly vystaveny působení anestetik a podstoupily chirurgii v prvním čtvrtletí. Zdá se, že při této analýze nebyl brán ohled na povahu příslušného chirurgického zákroku a na jiné faktory, které také mohly ovlivňovat takové míry spontánního potratu.

Duncan a spol. (1986) použili data z nemocenského pojištění k identifikaci 2565 žen, které podstoupily během těhotenství neplánovaný, tedy náhodný chirurgický zákrok v Manitobě, Kanada. Každý z těchto případů byl spojen se specificky srovnatelným protějškem, tedy kontrolním těhotenstvím, kdy se jednalo o případy, kdy nebyl podstoupen takový chirurgický zákrok. Mezi těmito dvěma skupinami nebyl zjištěn žádný rozdíl, pokud se tedy jedná o výskyt anomálií. Jevilo se zde zvýšené nebezpečí spontánního potratu po takovém chirurgickém zákroku, kdy bylo použito celkové anestezie, avšak toto je jasně ovlivněno typem prováděného chirurgického zákroku (Týkající se porodnictví / gynekologický – RR 2,0 95 % CI 1,10 - 3,64) (Ostatní místa – RR 1,54 95 % CI 1,03 – 2,30) s některými místy chirurgie ukazujícími na žádný rozdíl v porovnání s kontrolami (Abdominální či tedy břišní – RR 1,38 95 % CI 0,66 – 2,83).

Crafword a Lewis (1986) specificky prováděli vyšetřování účinku anestézie s použitím oxidu dusného v těhotenství. Případy uvádějí 433 chirurgických postupů, které byly prováděny při celkové anestézii (přičemž toto tu zahrnuje minimálně v 33% použití oxidu dusného), při čemž toto se týká jedné z porodic ve Spojeném království během prvních dvou čtvrtletí těhotenství a to po dobu časového období 12 měsíců v roce 1968 / 1969, které byly analyzovány. Ve 375 případech těchto procedur se jednalo o procedury serkláže děložního hrdla, přičemž toto zahrnovalo v průměru 22 minut vystavení se působení anestetik. Výskyt vrozených, kongenitálních abnormalit, spontánního

potratu a nízké porodní hmotnosti byl stejný jako v případě, kdy takové procedury byly prováděny s použitím lokálních anestetik. 58 případů zahrnující jiné chirurgické procedury, si vyžadovaly aplikaci průměrné anestézie po dobu 38 minut. V těchto případech nebyl vykázan jakýkoliv důkaz nepříznivého účinku takové procedury na výsledek těhotenství. Na základě těchto omezených dat ti neexistuje žádný důkaz o nepříznivém účinku krátkého vystavení se působení anestetik během těhotenství na osud plodu.

Konieczko a spol. (1987) uvádí rozbor a přehled výskytu anestézie u žen, které porodily abnormální děti nebo měly spontánní potrat v jedné nemocnici ve Spojeném království v období let 1982 – 1984. V rámci další skupiny byly studovány případy všech těhotenství během let 1977 – 1984, kdy výsledkem bylo dítě s vadou neurální trubice. Tento soubor dat sestával z 53 dětí, u kterých se vyskytla tato vada neurální trubice a z 97 dětí s jinými vrozenými či tedy kongenitálními abnormalitami. Pouze v jednom takovém případě byla matka vystavena působení anestetik a toto bylo podáváno po kritickém časovém období vývoje.

V rámci druhého vyšetřování bylo u stejné skupiny prováděno vyšetřování případů 471 matek, přičemž 72 z nich byla podávána anestetika během jednoho roku před těhotenstvím. Nebyl tu žádný důkaz o jakémkoliv nepříznivém účinku na výsledek těhotenství a 6 z těchto matek, kterým byla podávána anestetika během těhotenství, nevykázalo žádný takový neobvyklý výskyt abnormalit.

Důsledky vystavení se působení anestetik během těhotenství na výsledek těhotenství byly vyšetřovány v rámci studie na bázi registrace či soupisů u počtu 5405 matek, které podstoupily nikoliv porodnickou operaci s anestézií během těhotenství (Mazze a Kallen, 1989).

V rámci statistické skupiny byly identifikovány tři podskupiny, přičemž toto bylo provedeno na základě čtvrtletí těhotenství. Tato data byla vyšetřována na kongenitální či tedy vrozené vady, na narození mrtvého plodu, na kojence, či tedy děti do jednoho roku, které zemřely do 7 dní po porodu a na kojence, či tedy děti do jednoho roku, které měly nízkou porodní hmotnost (Jedná se tu o dvě kategorie: < 1500 g, < 2500 g). Výskyt abnormalit, jak byl pozorován u kojenců či tedy dětí do jednoho roku se v celku nelišil od výskytu v celkové populaci a toto nebylo ovlivněno čtvrtletím operace. Je v tomto případě jako obzvláště důležité poznamenat, že 2252 operací, které byly provedené v prvním čtvrtletí, vedly k téměř identickému počtu abnormalit, jako jsou ty, které se očekávají u náhodného vzorku populace (44:42.6).

Počet mrtvě narozených dětí nebyl operacemi ovlivněn. Porodní hmotnost a 7 – denní přežití byly oboje významným způsobem nepříznivým způsobem ovlivněné operacemi. I když v tomto případě nejsou k dispozici žádné informace o trvání vystavení se anestetickému působení, byla v tomto registru dat zaznamenána specifická anestetika, která byla použita ve více jak polovině operací. V průběhu více jak 98 % zde zahrnutých operací se používalo oxidu dusného, ale ve spojení s jiným činidlem.

Možnost výskytu nepříznivých efektů na dítě se může snížit pomalým přenosem oxidu dusného prostřednictvím placenty a to minimálně v pozdějších stádiích těhotenství:

Karasawa a spol. (2003) měřili koncentrace oxidu dusného v mateřské krvi a v placentálních cévách a to okamžitě po porodu s Císařským řezem, kdy bylo použito aplikace anestézie s použitím oxidu dusného. Rozdělením vystavení se působení do tří kategorií, krátké vystavení se působení (2 – 9 minut), střední expozice (9 – 14 minut) a dlouhé vystavení se působení (14 – 50 minut), bylo možno ukázat na významný rozdíl v koncentracích N<sub>2</sub>O v mateřské krvi, jelikož tyto hladiny se s časem zvyšují. Hladiny v pupečnickové arterii a hladiny v cévách se zvyšují mnohem pomaleji.

Možnost účinků vystavení se působení oxidu dusného v rámci vykonávání svého povolání na vývoj plodu byla předmětem několika vyšetřování. Studie ohledně novorozenecké hmotnosti u dětí, které se narodily porodním asistentkám, je popsána v práci Bodina a spol. (1999):

V další analýze dat, která byla získávána prostřednictvím akce na bázi dotazníků ohledně prošetřování švédských porodních asistentek, jak to bylo uvedeno někde jinde (Axelsson a spol. 1996) byly vyšetřovány účinky modelu práce a vystavení se působení oxidu dusného během těhotenství na novorozeneckou hmotnost a na gestační, či tedy těhotenský věk:

Soubor, který byl v tomto případě použit, použil dodatkové údaje o porodech ze švédského registru porodů. Po vyloučení nevhodných informací potom tento soubor dat obsahoval 1685 těhotenství z 1244 žen a tento soubor byl potom analyzován hlavně na účinky během druhého čtvrtletí těhotenství. Vystavení se působení oxidu dusného bylo vyšetřováno pouze na základě ano/ne. Byla prováděna potom dodatková analýza ohledně 1125 těhotenství, kdy matka ve druhém čtvrtletí těhotenství stále ještě pracovala.

Téměř 50 % matek uvedlo použití oxidu dusného a i když toto není ve zprávě specifikováno, tento podíl byl pravděpodobně vyšší v dodatkové analýze takových matek, které pokračovaly v práci jako porodní asistentky ve druhém čtvrtletí. U matek jako porodních asistentek, které pokračovaly v práci ve druhém čtvrtletí, použití oxidu dusného bylo spojeno s vyššími poměrem vyhlídek na nízkou novorozeneckou hmotnost (OR 3,4 a 95 % CI (0,9 – 13,4) a na děti, které byly malé v gestačním věku (OR 3,0 a 95 % CI (1,2 – 7,2)). V celém souboru dat se vyskytovalo pouze 43 případů s nízkou porodní hmotností. Mělo by se na tomto místě poznamenat, že celý soubor dat vykázal mírně vyšší porodní hmotnost než by to odpovídalo švédskému národnímu průměru.

I když tu bylo spojení mezi studovanými dvěma proměnnými veličinami (model posunutí a použití oxidu dusného), bylo toto uznáno a poznáno a v určitých podrobnostech se to bere v úvahu, ale ještě by to mohlo vést v uvedení takové analýzy ve zmatek.

Vzhledem k tomu, že analýza žen, které pokračovaly v práci jako porodní asistentky, ukázala nejvýraznější efekty a toto pravděpodobně zahrnuje více jak 70 % žen vystavených působení oxidu dusného, je tedy v tomto případě jako možné a představitelné, že všechny proměnné veličiny nemusely být brány v úvahu a to zvláště pokud se jedná o rozdíl mezi různými typy práce v tomto stádiu těhotenství. Tato studie poskytuje indikaci malého účinku na vývoj plodu v této skupině porodních asistentek, ale takové faktory, které do této záležitosti vnášejí zmatek, jako je neostatečná kvantifikace vystavení se působení vlivu oxidu dusného a široké intervaly důvěry ve výsledky neposkytují v tomto případě solidní důvod k tomu, aby se vystavení se účinku oxidu dusného považovalo za příčinný faktor pozorovaných diferencí.

Druhým konečným výsledkem, který vyvolává podezření se spojitostí s vystavením se působení  $N_2O$  na pracovišti, je ztráta plodu nebo potrat. Tento konečný výsledek byl předmětem vyšetřování mnoha studií. Takovou meta-analýzu 19 studií provedl Boivin (1997):

Studie, které jsou zahrnuté v této meta-analýze, nejsou obecně citované zvláště v tomto kritickém rozboru, přehledu, i když bylo prováděno kritické prošetřování původních publikací, kde se zjistilo, že by měly být získávány další informace. Podrobnosti výše uvedené meta-analýzy jsou uvedené v Tabulce 6.4.

Autor	Typ studie	Počet vystav.	Počet kontrol	Vystavená populace	Nevystavená populace	Meta - skóre	RR	95% CI
- Cohen a spol. 1971	- Int	- 3	- 34	- Sestry na operačním sále	- Jiné sestry	- 0	- 3	- 0,95
-	- Int	6	- 58	- Anestesiologové	- Jiní lékaři	- 1	0,15	- 10,5
		- 3					- 3	- 1,54
		7					0,66	- 8,67
- Knill – Jones a spol. 1972	- Q	- 7	- 215	- Anestesiologové	- Jiní lékaři	- 3	- 1	- 1,03
		37	0				0,24	- 1,49
- Rosenberg a Kirves, 1973	- Q	- 2	- 150	- Anesteziologické sestry	- Jiné sestry	- 3	- 1	- 1,03
		57					0,72	- 2,86
- Cohen, 1974	- Q	- 4	- 138	- Anestesiologové	- Nevystavení	- 4	- 1	- 0,67
	- Q	68					0,07	- 1,72
-	- Q	- 1	- 676	- Anesteziologické sestry	- Nevystavení	- 3	- 1	- 0,95
		826					0,18	- 1,47
-	- Q	- 2	- 153	- Sestry na operačním sále	- Nevystavené	- 3	- 1	- 1,08
		781	3				0,29	- 1,55
Nill - Jones a spol. 1975	Q	435	435	Pracovníci na operačním sále	Není specifikováno	3	2,71	1,73 – 4,24
Mirakhur a spol., 1975	Q	114	118	Anestesiologové	Není specifikováno	1	3,11	1,37 – 7,02
Pharoah a spol., 1977	Q	670	6337	Anestesiologové	Jiní lékaři	2	1,01	0,83 – 1,23
Cohen a spol., 1980	Q	400	8184	Zubní asistentky	Zubní asistentky	5	2,35	2,07 – 2,65
Lauwerys a spol., 1981	Q	259	1651	Operační sál, lékaři a sestry	Jiní lékaři a sestry	1	1,35	0,87 – 2,1
Axelsson a spol., 1982	QR	139	573	Pracovníci nemocnice	Všichni ostatní	3	1,19	0,67 – 2,12
Heidam, 1984	Q R	179	80	Zubní asistentky	Zubní asistentky	6	0,9	0,4-2,1
	Q R	76	17	Zubní asistentky	Zubní asistentky	6	0,3	0,0-1,8
Ericson a Kallen, 1985	R	1436	1495	Sestry na operačním sále	Jiné sestry	2	1,04	0,78 – 1,39
McDonald a spol., 1986	Int	45	30919	Sestry na operačním sále	Všichni ostatní	4	0,29	0,01 – 16
McDonald a spol., 1988	Int	70	22543	Zdravotníci	Všichni ostatní	4	1,07	0,67- 1,72
Guirgis a spol., 1990	Q	4659	2113	Pracovníci nemocnice	Pracovníci nemocnice	5	1,98	1,53 – 2,56
Saurel – Cubizolles a spol., 1994	Int	284	480	Sestry na operačním sále	Jiné sestry	5	1,9	1,1 – 3,5
Rowland a spol., 1995	Q	356	684	Zubní asistentka	Zubní asistentka	5	1,0	0,8– 1,1
Hemminki a spol., 1985	CC	169	469	Zdravotní sestry	Zdravotní sestry	4	1,2	0,7-2,4
Johnson a spol., 1987	CC	?	?	Veterináři	Veterináři	4	2,86	0,86-9,53

**Q = Studie prováděná na základě dotazníků, Int = Studie prováděná na základě pohovoru, R = Registrační studie, CC = Studie na bázi kontroly případu**

Tabulka 6.4. Meta – analýza studií, ve kterých se prošetřovala závislost mezi potratem v důsledku vykonávání povolání nebo potratem spontánním či tedy samovolným. (Boivin, 1997).

Mezi studovanými populacemi byly často vidět rozdíly, avšak skutečná příčina takových rozdílů není jasná a to vzhledem k tomu, že populace nejsou dostatečným způsobem uzpůsobené k tomu, aby se vyloučilo mnoho příčinných faktorů, které zahrnují takové, které jsou známy jako faktory ovlivňující míry potratů, jako jsou například fyzické nároky příslušné práce. Žádné ze studií nebyly prováděné takovým způsobem, aby bylo možno provést jakékoliv posouzení role anestetik v pozorovaných výsledcích. Ve skutečnosti je možno v tomto případě konstatovat, že ve většině těchto studií je velice slabě uváděno vystavení se anestetickým látkám. Bohužel, je třeba konstatovat, že většina těchto studií jsou studie na základě dotazníků a v takovém případě je třeba se obávat toho, že to v takovém případě vede k určité předpojatosti ohledně podávání příslušných zpráv a údajů. (Ericsson a Kallen, 1979) a to vzhledem ke skutečnosti, že respondenti jsou v takovém případě v určitém rozsahu na základě vlastní volby a

výběru a data, která jsou těmito respondenty poskytnutá, nelze podrobit nějaké nezávislé kontrole ohledně přesnosti takových dat.

Meta – analýza výše uvedených datových souborů poskytuje celkový odhad relativního rizika, které v tomto případě činí 1,48 (95% CI 1,4 – 1,58). Vyloučení studií s globální klasifikací < 3 zvýšilo odhad takového relativního rizika na 1,57. V takovém případě, kdy studie se skóre 5 nebo větším, byly brány v úvahu odděleně, pak tedy odhad se zvýšil na 1,9. Při globálním posuzování skóre, které bylo přiřazováno každé ze studií byly brány v úvahu faktory, které v této záležitosti způsobují jakýsi zmatek, avšak ve většině případů toto je docela omezené a konečné přiřazení takového skóre nemusí být univerzálně odsouhlaseno. I když tato meta-analýza poskytuje celkovou indikaci toho, že může existovat nějaký příčinný faktor nebo že mohou existovat nějaké příčinné faktory ohledně zkušenosti při výkonu povolání u pracovníků personálu, kteří pracují v anesteziologických jednotkách, je třeba konstatovat, že neposkytuje jakékoliv další indikace toho, jaké by to mohly být takové faktory nebo takový faktor.

Při přezkoumávání účinků N<sub>2</sub>O na reprodukci, jak to bylo prováděno v roce 1995, byly ze strany COT Spojeného království brány v úvahu všechny takové studie, které byly zahrnuté v uvedené meta-analýze a to odděleně od posledních studií. Závěr, který byl učiněn ze strany COT Spojeného království na základě těchto informací, byl takový, že se nezdá, že by bylo nějaké spojení mezi prací na operačních sálech a mírným zvýšením rizika samovolného potratu, bylo však také indikováno, že takové zvýšené riziko „může odrážet napětí, které je spojeno s takovou prací spíše než vystavení se škodlivému působení takových anestetických plynů“.

Není žádný základ k tomu a to že žádných takových studií, aby se vystavení anestetikům považovalo za takový příčinný faktor tohoto rozdílu. Dvě studie, jak jsou podrobně popsány v textu, jak je níže uvedeno, se speciálně zaměřovaly na otázku vystavení se působení oxidu dusného a byl v rámci těchto studií učiněn závěr, že neexistuje žádný účinek vystavení se působení N<sub>2</sub>O na míru potratů.

Axelsson a spol. (1996) uvádí analýzu dat, která byla shromážděna v rámci vyšetřování, které bylo prováděné na základě vyplňování dotazníků ze strany švédských porodních asistentek. Příslušná analýza byla vedena na datovém souboru z počtu 1717 těhotenství, ke kterým došlo v průběhu doby, kdy tyto ženy pracovaly jako porodní asistentky. Byly v tomto případě uvažovány účinky pracovního modelu a vystavení se účinkům oxidu dusného na míru výskytu spontánního potratu a byl v tomto případě brán v úvahu plný rozsah proměnných veličin, které působí jakýsi zmatek a nejasnosti, jak to bylo zmíněno v předchozím textu. Zatímco různé aspekty práce, jako jsou v tomto případě směny a noční práce, zvýšily míru potratů, nebyla taková míra potratů ovlivněna vystavením se působení N<sub>2</sub>O.

Heidam (1984), v nejvíce hodnocené studii v rámci meta-analýzy popisuje historickou perspektivní studii ženské populace v oblasti Dánska, v rámci které se provádělo prošetřování míry spontánních potratů podle 10 různých povolání, přičemž tímto byl pokryt celý reprodukční věk účastnic a ž do roku 1980. Jednou ze studovaných kategorií byly zubní asistentky, jichž bylo identifikováno 772 a podrobnosti byly vyhledávány prostřednictvím dotazníků. (Další podrobnosti o tomto postupu jsou uvedené a popsány v druhém pojednání). Míra odezvy byla v tomto případě 94%. Pravděpodobnostní poměr pro samovolný potrat pro tuto kategorii činil 1,0, což ukazuje, že není žádný rozdíl v porovnání s kontrolami a to dokonce i tehdy, když toto je specifickým způsobem analyzováno na základě dotazníkových dat pro podskupiny, které byly vystavené rtuti, rozpouštědlům nebo oxidu dusnému.

Jedna z posledních studií takové meta-analýzy nebyla předtím přezkoumávána UK COT Spojeného království a zaslouží se podrobného posouzení:

Rowland a spol. (1995) prováděli přezkoumávání 4 855 odpovědí, které byly nashromážděny v rámci přezkoumávání na bázi dotazníků aplikovaných na počet 7000 zubních asistentek ve věku 18 – 39 let. Z těchto odpovědí byl výskyt potratu analyzován u celkem 1465 respondentek, které tam pracovaly v období početí a v době těhotenství. Trvání vystavení se působení anestetik pro každou z nich byl klasifikován *post hoc* do jedné ze čtyř kategorií (0,5 – 2, 3 – 4, 5 – 9 nebo více jak 10 hodin za týden) a zda použité zařízení je s odsáváním či nikoliv. Analýza, která vyloučila *post hoc* kategorizaci vystavení se působení, nevykázala žádný rozdíl v úrovni rizika, pokud se jedná o samovolný potrat. Další analýzy potom obsahovaly úpravy ohledně týdne těhotenství, ohledně věku, ohledně kouření a ohledně počtu amalgamů každý týden připravených.

Prostřednictvím rozepsání vystavení se působení do podskupin bylo potom identifikováno větší riziko u žen, u kterých docházelo k vystavení se působení anestetikům po dobu mezi 3 až 9 hodin za týden bez aplikování odsávání. Míry nad touto hodnotou a pod touto hodnotou byly jako nerozlišitelné od kontrol. Celkový počet asistentek, které padly do této skupiny bez odsávání, činil 113 a z tohoto počtu pouze 64 asistentek mělo vystavení se anestetickým látkám

více jak 3 hodiny / týden. Skupina o počtu 28, která byla vystavena působení více jak 10 hodin za týden, vykazovala úroveň rizika takovou, která byla jako nerozlišitelná od kontrol, i když v tomto případě bylo rozprostření větší. Přílišné riziko tedy vyplývá u skupiny 36 žen, tudíž tedy je pravděpodobné, že se bude vyskytovat rozdíl mezi malým počtem skutečných potratů pro takovou skupinu v porovnání s očekávanou hodnotou, která v tomto případě činí asi kolem 2,5. Tato zpráva neposkytuje skutečná čísla pro kteroukoliv z proměnných veličin, pro které byla tato konečná analýza prováděna, tedy jednoduše, aby se stanovily relativní úrovně rizika.

Při sledování vlivu a při ignorování původního nedostatku resp. neexistence vztahu, který by vyjadřoval odezvu na dávku, se autoři v tomto případě rozhodují tak, že přeruší vystavení se působení v době 3 hodin, což stále ještě ponechává významný rozdíl v míře potratů pro takové ženy, které byly vystaveny působené podobu více jak 3 hodin. Byly zařazeny různé podsystémy analýzy, přičemž všechny byly založeny na libovolném místě přerušení. Počty a velikosti skupin, které jsou zahrnuté v tomto specifickém bodě studie, jsou příliš malé pro tuto studii, aby mohly být jako užitečné navzdory původní datové bázi činící 7000, na které je to, jak je to deklarováno, založené. Meta – analýza, jak to shora v textu bylo již popsáno, využívala poměr celkové pravděpodobnosti, jak to bylo uvedeno v této studii, která vykazovala, že tu není mezi uvedenými skupinami žádný rozdíl. Toto by se mohlo zdát jako ta nejpříjemnější volba, jestliže jsou dány meze jiných analýz.

Dalším předmětem zájmu ohledně vystavení se působení oxidu dusného při výkonu povolání byla možnost, že by vystavení se takovému působení a to zvláště v raném stádiu těhotenství mohlo vést ke kongenitálním či tedy vrozeným vadám. Ztráty plodu a abnormality byly vyšetřovány v rámci vyšetřování na bázi registru, přičemž tedy byly vyšetřovány porody, potraty a abnormality mezi zdravotními sestrami pracujícími na švédských operačních sálech v období mezi léty 1973 a 1978 (Ericson a Kallen, 1985):

Vzhledem ke skutečnosti, že všechna data, která byla analyzována, byla získána na základě informací z oficiálního registru, je v rámci této studie tedy eliminována příležitost k nějakému zaujatému podávání zpráv. V takových případech, kdy to jen bylo možné, byly brány v úvahu jiné faktory, které byly identifikovány a které působí jakýsi zmatek. I když se předpokládá vystavení se působení anestetického plynu, neexistuje tu žádná kvantifikace takového vystavení se působení. Celkem tedy 1323 porodů, 87 spontánních potratů a 6 legálních potratů se vyskytlo ve skupině operačního sálu a to v porovnání s 1382 porody, 85 spontánními potraty a s 28 legálními potraty ve skupině pracujících na lékařských, nemocničních odděleních. Neexistovaly žádné rozdíly mezi těmito skupinami a to neohledně na mírně nižší míru malformací ve skupině týkající se operačního sálu, přičemž toto je považováno za variaci šance. 25 dětí, které zemřely perinatálně nebo u kterých došlo k silným malformacím, bylo porovnáno se dvěma kontrolami, kdy každá z těchto kontrol se narodila ve stejném roce podobné matce, přičemž toto bylo prováděno prostřednictvím shromažďování více podrobných informací vyplývajících z příslušných dotazníků aplikovaných na matky. V průběhu této analýzy se zjistilo, že nejsou žádné takové rozdíly, které by byly důležité, avšak matky, které ukončily práci před 28. týdnem, vykazovaly vyšší úroveň malformací u novorozenců v porovnání s matkami, které takto nečinily. Jedná se o rozdíl, který se nemůže připsat jakémukoliv faktoru v souvislosti s výkonem povolání.

Výskyt vrozených abnormalit u dětí, které se narodily matkám, které jsou v průběhu vykonávání svého povolání vystavené účinku anestetik, byl také vyšetřován, přičemž toto je uvedeno v popsanych studiích:

Corbett a spol. (1974) zaslali dotazník 625 anestezioložkám registrovaným ve státě Michigan v USA.

Z celkového počtu 525 odpovědí vyplývá, že 268 žen porodilo minimálně jedno dítě a celkově bylo 695 porodů. Matky byly rozděleny do kategorií podle praxe s anestetiky během těhotenství či nikoliv. Není tu žádná zmínka v tomto dotazníku o uvažování jiných rizikových faktorů. Na základě jednoduchého rozboru 62,4 % matek pracovalo s anestézií v určité době během těhotenství a 16,4 % dětí, které se této skupině narodily, měly vady u novorozenců a to v porovnání s pouze 5,7 % těch, které nevykonávaly praxi s anestézií.

Výsledky byly analyzovány ve větších podrobnostech pro každý typ novorozenecké vady. Z tohoto podrobnějšího porovnání vyplynulo, že největší rozdíly mezi studovanými populacemi se projevovaly ve výskytu kožních abnormalit a muskuloskeletárních (týkajících se svalů a kostí) abnormalit.

Cohen a spol. (1980) souhrnně uvedli rozsah závěrů z vyšetřování na základě dotazníkové akce, kdy se jednalo o 30 650 zubních lékařek a 30547 zubních asistentek.

Toto vyšetřování bylo založeno na odpovědích na korespondenčních lístcích zaslaných všem americkým zubním lékařům, kdy tyto korespondenční lístky obsahovaly dotaz ohledně použití anestetik. Na základě odpovědí na tyto otázky byly zubní lékaři vybráni pro další vyšetřování s přibližně stejnými počty uživatelů anestetických látek a takových, kteří taková anestetika nepoužívají. Každý zubní lékař byl také požádán, aby poskytl údaje o svých zubních asistentkách. Odpovědi byly přijaté od 22555 zubních lékařů a 21390 zubních asistentek. V tomto případě



většina zubních lékařů byli muži a většina zubních asistentů či asistentek byly ženy. Míry vrozených abnormalit a spontánního potratu byly vyšší u skupiny s používáním anestetik v porovnání se skupinou nepoužívající anestetické látky. Takový výsledek nebyl neočekávaný, když cíle vyšetřování byly všem účastníkům zřejmé a ti účastníci, u kterých se vyskytly problémy se spontánním potratem nebo vrozenými abnormalitami, přirozeně více inklinovali k tomu, aby odpověděli. Výsledky jsou uváděné jako střední hodnota  $\pm$  směrodatná chyba (SE), zatímco intervaly relativního rizika a důvěry u takového rizika by poskytly více informací. Všeobecně lze říci, že navzdory velkému počtu osob, které byly v rámci této studie dotazované, nemůže se na tuto studii pohlížet jako na takovou, která poskytuje dokonce i oznamovací, indikativní informace ohledně míry rizika účinků na reprodukci a to v důsledku použité nespolehlivé metodiky. S největší pravděpodobností by byl výsledek takové studie podporou předem učiněných úsudků a toto je téměř přesně to, co bylo poskytnuto.

Jedna dřívější studie Cohen a spol. (1971) byla vedena osobními rozhovory na 67 operačních sálech a s 92 všeobecnými zdravotními sestrami a v druhé fázi byla vedena prostřednictvím dotazníků se skupinou 131 žen zahrnujících 50 žen, specialistek na anestézii. Věkový rozsah v obou skupinách se pohyboval od 25 do 50 let.

V první části studie shoda těhotenství a práce s anestézií nebylo dobře kontrolována, ale po dobu pěti let studie (1966 – 1970) skupina na operačních sálech vykazovala 78 % plného času zaměstnání touto činností. Míra spontánního potratu u sester na operačních sálech byla 29,7 % těhotenství a to v porovnání s 8,8 % s jinými zdravotními sestrami.

V druhé fázi této studie byly uvažovány porodů během období let 1965 – 1970 a zde tedy byla míra spontánních potratů u skupiny anesthesiologů 37,8 % v porovnání s mírou 10,3 % u kontrol. Míra vrozených abnormalit byla mírně nižší u skupiny anesthesiologů v porovnání s kontrolami (2 % proti 4,2 %).

Počty zahrnuté v obou fázích této studie a kontrola dodatečných proměnných veličin jsou velice omezené (tak na příklad střední věk sestry na operačním sále byl o 3,4 roku vyšší než tomu bylo u kontrolní skupiny, kdy byl 34,3 roku, střední věk anesthesiologů ve druhé fázi činil 39,6 roku v porovnání s 36,8 roku, jak tomu bylo u kontrol). Ačkoliv se zde zdá, že existuje konzistentní rozdíl mezi skupinami v této studii, výběr a charakterizace nejsou přiměřené k tomu, aby to dovolilo činit jakékoliv takové závěry týkající se příčiny takových rozdílů.

Vyšetřování, která prováděli Craford a Lewis (1986), Konieczko a spol. (1987) a Mazze a Kallen (1989), jak to bylo v předchozím popsáno, nezjistila žádnou spojitost mezi výskytem vrozených abnormalit a omezeného vystavení se působení  $N_2O$  v důsledku provádění chirurgie během těhotenství.

## Účinky na chování

### Účinky na chování – nikoliv klinická data

#### 7.3.1.1 Přehled

Vystavení březích krys působení oxidu dusného až do hodnoty 10 000 ppm v průběhu březosti neovlivňuje následný vývoj chování potomků (Holson a spol., 1995), zatímco 50000 ppm po více omezené časové období (Rice, 1990), může mít velice mírný efekt na následné chování, jak se to měří prostřednictvím šokového reflexu.

Omezené vystavení myši a krys 75 %  $N_2O$  ve dnech 14 a/nebo 15 březosti bylo spojeno s malými rozdíly ve srovnání s kontrolami, pokud se jedná o dosažení vývojových milníků a o chování (Mullenix a spol., 1986, Koeter a Rodier, 1986).

#### 7.3.1.2 Účinky na chování – podrobné neklinické přezkoumávání

Možnost toho, že by vystavení se působení  $N_2O$  mohlo ovlivnit chování potomků matek, které byly během březosti vystavené takovému působení, byla předmětem vyšetřování v rámci čtyř zvláštních studií:

Holson a spol. (1995) popisují účinky vystavení se skupin 12 březích krys působení 0 %, 0,1 %, 0,5 %, nebo 1,0 %  $N_2O$  ve vzduchu po dobu 6 hodin za den po dobu 20 po sobě následujících dnů od prvního dne březosti. Zvířecím matkám bylo dovoleno vrhnout jejich vrhy mláďat a chování mláďat potom bylo vyhodnocováno ve specifických bodech až do doby 100 dní po vrhu. K tomuto vyhodnocování bylo použito osmi různých parametrů (negativní geotaxis, vývojová aktivita, auditivní či sluchový šok, amfetaminové vyvolání odezvy, 23 – hodinová aktivita, trvání

anestézie barbituráty, komplexní odezva na labyrintové bludiště a na pasivní zamezení). I když byly vidět některé rozdíly mezi odezvami skupin, jsou výsledky autory interpretovány jako takové, které vznikly náhodou. Otcovský zprostředkované efekty byly studované u potomků skupin 12 samců, kteří byli vystaveni koncentraci oxidu dusného po dobu 6 hodin denně, po dobu 5 dnů v týdnu, po dobu 9 týdnů před pářením. Každý samec byl pářen se dvěma samicemi. A opět, nebyly identifikovány žádné efekty takového působení.

Za účelem provádění vyšetřování účinků po narození, mláďata od březí myši, která byla vystavená koncentracím 0 %, 5 %, 15 % nebo 35 %  $N_2O$  *in utero* ode dne 6 – 15 březosti, byla předmětem vyšetřování růstu a chování až do doby 90 dnů po narození (Rice, 1990). Vyšetřování se prováděla na 10 mláďatech z každého působení. (Mláďata byla zvířata vybíraná v den 1 až osm a bylo dodržováno přibližně stejné zastoupení ohledně pohlaví). Nebyly mezi skupinami zjištěny žádné rozdíly v jakýchkoliv ukazatelích ohledně rozmnožování nebo ohledně přežití potomků. Autoři tvrdili, že tělesná hmotnost vykazovala určité rozdíly před odstavením mláďat a po odstavení mláďat, i když poskytnutá grafická znázornění neindikují jakékoliv konzistentní účinky spojené s vystavením se působení. Když se jako indikátory v tomto případě použije odchlípení ušního boltce, prořezávání řezáku, otevření oka, nebyl nalezen žádný důkaz o nějakém účinku působení na vývoj. Zkoušky s rotační tyčkou v čase 49 dní po narození neukázaly žádné účinky, které by byly spojené s vystavením se působení. Byl testován šokový reflex a to s použitím jak akustického tak hmatového stimulu v čase 60 a 95 dní po narození a to u dvou myší každého z pohlaví z každého vrhu mláďat. Šedesátého dne se celá skupina, která byla vystavena působení  $N_2O$ , jevila jako méně reagující v porovnání s kontrolami, přičemž nejznatelnější rozdíl byl u skupiny, která byla vystavena tomu nejnižšímu působení. Rozdíly však nebyly statisticky významné. V 95. den byla odezva u skupiny, která byla vystavena působení oxidu dusného, opět nižší, než tomu bylo u kontrol, avšak v tomto případě byly rozdíly statisticky významné, ačkoliv u skupin, které byly vystavené působení oxidu dusného, nebyla žádná závislost na dávce. Je pozoruhodné, že velikost základní čáry pro kontrolní odezvu vykazovala větší rozdíl mezi dvěma dny zkoušek než byl jakýkoliv rozdíl skupinami experimentu.

Ve snaze identifikovat nějaké účinky oxidu dusného na chování u potomků bylo 15 březích krys vystaveno působení  $N_2O$  o koncentraci 75 % po dobu 8 hodin v patnáctý den březosti. Dalších 5 březích krys bylo vystaveno působení podobné atmosféry po dobu 8 hodin v následujících dvou dnech (čtrnáctý a patnáctý den březosti), zatímco kontrolní skupina byla vystavena pouze působení vzduchu během stejného takového časového období dvou dnů (Mullenix a spol., 1986). Všem krysám bylo dovoleno vrhnout své vrhy mláďat, která byla vybrána po čtyřech mláďatech každého z pohlaví při narození. U těchto mláďat byl monitorován růst a bylo u nich prováděno testování v sídelním bludišti a to ve věku 1 měsíce a 5 měsíců. Tělesná hmotnost mláďat nebyla nepříznivě ovlivněna vystavením se působení oxidu dusného. Došlo se k závěru, že vystavení se působení  $N_2O$ , zvláště po dobu dvou dní, vedlo k hyperaktivitě u potomků, což bylo zjištěné mnohem jasněji u samic a v době 5 měsíců po narození. Hyperaktivita popisuje pouze větší frekvenci normálních činností, jako otáčení, čichání a vztyčování se, narovnávání se spíše než jakékoliv abnormální chování.

Koeter a Rodier, (1986) vystavily březí myš působení dusíku / kyslíku (75 / 25),  $N_2O$  / Kyslíku (75 / 25) nebo halotanu (tekuté anestetikum) po dobu 6 hodin ve čtrnáctém dni březosti. Další vrhy mláďat od kontrolních zvířat byly vystaveny působení stejných prostředí v druhý den po narození a to po dobu 4 hodin. Tyto vrhy byly vyšetřovány na vývojové změny a na změny chování po dobu 24 dní po narození. Otevírání očí bylo zpožděné ve všech skupinách, které byly vystavené působení, v pátý den po narození a otevírání očí bylo opožděné v patnáctý den u vrhu mláďat, který byl vystaven působení oxidu dusného po narození. Existoval důkaz o opožděné pohybové koordinaci u všech vrhů mláďat, které byly vystavené působení oxidu dusného a stejně tak o všeobecném snížení aktivity během všech časových období provádění měření.

## Účinky na chování – klinická data

### 7.3.2.1 Přehled

Řada klinických zpráv (Ou a spol., 2001, Hay, 1978, Su a spol., 2002, Wang a spol., 1994) popisuje pozorování prováděná na zvířecích matkách a na nově vržených mláďatech v takovém případě, kdy jako analgetika během práce bylo použito oxidu dusného. Celkově tyto neindikují žádný nepříznivý účinek plynoucí z použití oxidu dusného, avšak existuje indikace plynoucí z jedné studie (Palahniuk a spol. 1977) porovnávající 3 anestetika, že mohou být mírné účinky během časového období 24 hodin po narození.

### 7.3.2.2 Účinky na chování – podrobné klinické přezkoumávání

V rámci některých studií bylo prováděno přezkoumávání účinků oxidu dusného během porodu a to včetně použití APGAR skóre pro novorozence. Prostřednictvím použití skóre APGAR se vyhodnocuje aktivita, puls, grimasa, vzhled a dýchání, tedy představuje to velice základní míru duševní či tělesné pohody, zdraví.

Ou a spol., (2001), kteří pracují v čínské nemocnici, prováděli porovnávání 100 normálních porodů, při kterých bylo použito oxidu dusného, se 100 normálními porody, při kterých nebylo použito analgesie (snížená vnímavost pro bolest). Skóre APGAR pro děti bylo podobné v obou skupinách a nebyly v tomto případě uvedeny žádné jiné nepříznivé efekty.

Hay (1978) podává zprávu o prospěšném pozitivním vztahu mezi skóre APGAR a dosaženou koncentrací oxidu dusného v pupečnickové žíle v porovnání s mateřskou krví. Toto pozorování však bylo založeno pouze na 14 porodech.

Palahniuk a spol. (1977) prováděli porovnávání účinků metoxyfluranu, oxidu dusného a epidurální injekce jako anestetika v případě 37 porodů prováděných císařským řezem v jedné kanadské nemocnici. Mezi skupinami nebyl vidět žádný rozdíl ve skóre APGAR. Avšak intenzivnější neurofysiologické testování novorozenců na 6 a na 24 hodinách ukázalo sníženou úroveň stavu svalů a čilosti a bystrosti a tendenci ke sníženému celkovému počínání u skupiny, která byla vystavena působení oxidu dusného a to v porovnání s jinými použitými anestetiky.

Su a spol., (2002) prováděli porovnávání 658 porodů, při kterých bylo použito analgesie s použitím oxidu dusného, se 642 porody, během kterých nebylo použito žádné analgesie, přičemž toto porovnání bylo prováděno během období 8 měsíců v jedné čínské porodnické jednotce. Celkový pracovní čas byl podobný v obou skupinách, avšak přechod na porod císařským řezem byl větší u kontrolní skupiny. Zabarvení plodové vody a fetální potíže byly ohodnoceny jako podobné v obou skupinách. Novorozenecká hmotnost byla také podobná. Krevní rozbor, které byly prováděny na podobném počtu z obou skupin, nevykázaly žádné rozdíly. Vedlejší efekty, které byly uváděny v souvislosti se skupinou, která byla vystavena působení oxidu dusného, jako jsou závratě, ospalost, netečnost, pocit necitlivosti kolem pysků a lechtání v hrdle, nebyly uváděny u kontrolní skupiny. Úrovně nucení na zvracení nebo pocitů nevolnosti byly uváděny jako podobné v obou skupinách.

Wang a spol., (1994) prováděli porovnávání 34 porodů asistovaných s použitím oxidu dusného v jedné čínské nemocnici se zůstatkem 305 porodů po dobu 3 měsíců. Nebyly zjištěny žádné rozdíly, pokud se jedná o míru porodů s použitím císařského řezu, ohledně trvání práce, ohledně zadušení novorozenců nebo ohledně krvácení po porodu. Byl pozorován pouze jediný případ zvracení v této experimentální skupině, jinak nebyly pozorovány žádné nepříznivé účinky, které by plynuly z použití oxidu dusného.

## Účinky na plodnost

### Účinky na plodnost – nikoliv klinické údaje

#### 7.4.1.1 Přehled

Histologické změny, které jsou tu reprezentovány vyčerpáním buněk pro tvorbu spermií, byly identifikovány během testů na krysách, které byly vystaveny kontinuálnímu působení 20 % oxidu dusného po dobu až 35 dní. (Kripke a spol., 1976). Podobné efekty nebyly pozorovány u myši vystavené po dobu 14 týdnů, při vystavení působení po 4 hodiny denně, působení oxidu dusného v úrovních až do 50 % (Mazze a spol., 1983). Toto je v rozporu s efekty, které byly pozorovány u krys, které byly vystaveny působení oxidu dusného o koncentraci 0,5 % N<sub>2</sub>O po dobu 6 hodin týdně po dobu 30 dní, které vykázaly určitý důkaz o snížené plodnosti v jedné studii (Vieira a spol., 1983), ale pouze mírný a nevýrazný rozdíl v jiné studii (Holson a spol., 1995). Vystavení se působení oxidu dusného o koncentraci 80 % N<sub>2</sub>O po dobu pěti dní při působení po dobu 4 hodin denně nezpůsobilo žádné morfologické změny spermatu (Land a spol., 1981).

Inaktivace metiononové syntázy (MS) byla demonstrována při zkouškách na krysách po vystavení se působení oxidu dusného o koncentraci 10 %  $N_2O$  po dobu jedné hodiny, přičemž obnovení bylo kompletní během 24 hodin po skončení takového vystavení se působení (Brodsky a spol., 1984). Pozorované efekty takového vystavení se působení po delší časová období a/nebo nebo při aplikování vyšších hladin oxidu dusného jsou pravděpodobně všechny v důsledku tohoto účinku na syntázu metioninu.

Nejnižší testované hladiny expozice za účelem zjištění účinků na plodnost byly 1000 ppm oxidu dusného po dobu 6 hodin za den po dobu 9 týdnů a toto se může považovat jako za hladinu bez účinku, pokud se jedná o tyto efekty na kryse. Takováto neexistence účinku při úrovni 1000 ppm by byla více uklidňující, jestliže by tato studie reprodukovala pozitivní výsledek, jak to bylo vidět v předešlém při 5000 ppm, avšak pozorované rozdíly mohou představovat mimořádné rozdíly v odezvě. (Buckley a Brodsky, 1987).

Studie o plodnosti žen poskytly smíšené výsledky. Webman 1980 při studiu krys, které byly denně vystaveny po dobu dvou hodin za den a po dobu 30 dnů působení oxidu dusného o koncentraci 70 %  $N_2O$ , nevykázal žádný nepříznivý účinek na plodnost a to u obou pohlaví, když byly spářeny se zvířaty, která nebyla vystavená působení nebo když byla spářena zvířata obou pohlaví, která byla vystavena působení. Nebyl vidět žádný účinek v histologii vaječníků nebo v testech, které byly prováděné po tomto režimu vystavení se působení. Naopak Kugel (1990) zjistil významné snížení plodnosti, které následovalo pouhé čtyři dny po vystavení se působení oxidu dusného při koncentraci 30 %  $N_2O$  po dobu 8 hodin za den. Tyto rozdíly se zdají příliš velké než aby bylo možno je přiřknout mimořádnému rozdílu, i když tyto rozdíly mohou hrát určitou roli. Jestliže se vezmou v úvahu všechny studie, pak se tedy zdá, že v takových případech, kde účinky na plodnost vyplývají z vystavení se působení oxidu dusného většímu než je koncentrace 10 %  $N_2O$ , pak tedy v takovém případě je denní trvání takové expozice důležitější než je celkové trvání nebo úroveň expozice. Přerušované vystavení se působení až do 8 hodin denně po dobu pět dní v týdnu, simulující situaci při vykonávání povolání, je spojeno s mnohem menší úrovní účinků, než je tomu v případě konstantního vystavení se působení při stejných koncentracích oxidu dusného. Přiřazení účinků na plodnost žen, jak to učinil Kugel a spol., (1990), účinkům oxidu dusného na luteinizační hormon uvolňující hormon (LHRH) si vyžaduje provádět další vyšetřování a to vzhledem k tomu, že tento mechanismus nebyl předtím identifikován. Neexistence jakéhokoliv nepříznivého účinku oxidu dusného, jestliže se použije jako anestetikum, během nějakého klinického postupu asistovaného oplodnění, poskytuje značné uklidnění, pokud se jedná o účinky na plodnost.

#### 7.4.1.2 Účinky na plodnost – podrobné neklinické přezkoumávání

Účinky vystavení se působení oxidu dusného na mužskou plodnost bylo předmětem vyšetřování v rámci několika studií:

Vieira a spol. (1983a) vystavil skupiny 12 samic krys wistar působení vzduchu nebo působení 0,5 %  $N_2O$  po dobu 6 hodin za den, po dobu 5 dní v týdnu po celkovou dobu 30 dní. Okamžitě po ukončení uvedené expozice a opět potom po uplynutí 6 týdnů byla každá krysa spářena se třemi samicemi. Těmto samicím bylo umožněno uskutečnit jejich vrh mláďat a bylo prováděno monitorování těchto mláďat na abnormality a na velikost a na jejich hmotnost po době 8 týdnů. Střední počet mláďat na vrh mláďat se snížil z 12 (9 – 15) u kontrol na 7 (2 – 14) u vrhů mláďat, které byly odvozené od samců, kteří byli vystaveni působení oxidu dusného okamžitě po ukončení expozice. Tento efekt se neobjevil o šest týdnů později. Tělesná hmotnost, délka těla a délka ocasu, to všechno bylo redukováno u takových mláďat prostřednictvím samců, kteří byli vystaveni působení oxidu dusného a to v porovnání s kontrolami a se stejnými samci po 6 týdnech obnovení.

Je to popsán jako Dominantní letální studie (Holson a spol., 1995) a tedy, skupiny přibližně 15 křížených krys Crl: COBS CD (SD) BR byly vystaveny působení oxidu dusného o koncentraci 0 %, 0,1 %, 0,5 % nebo 1,0 %  $N_2O$  ve vzduchu a to po dobu šesti hodin za den a po dobu celého spermatogenního (kdy se tvoří sperma) cyklu (5 dní v týdnu po dobu 9 týdnů). Na konci tohoto časového období byl každý se samců společně umístěn se dvěma samicemi po dobu 5 dnů. Všechny samice potom byly po 14 dnech usmrcené a byl vyšetřován obsah jejich dělohy. Existoval tu trend spojený s dávkami, který byl směrem ke zvýšené míře resorpce při zvýšených dávkách oxidu dusného a k mírnému trendu spojenému s dávkami, který byl směrem ke snížení počtu živých plodů. Tyto rozdíly nebyly statisticky významné.

N <sub>2</sub> O (ppm)	Počet implantátů	Živé plody	Resorpce	Mrtvé
0 (kontrola)	15,6 ± 0,4	14,4 ± 0,4	1,1 ± 0,2	0,07 ± 0,05
1000	15,6 ± 0,5	13,8 ± 0,6	1,1 ± 0,3	0
5000	14,6 ± 0,5	13,3 ± 0,6	1,3 ± 0,3	0,04 ± 0,04
10000	14,8 ± 0,5	13,0 ± 0,6	1,8 ± 0,5	0,03 ± 0,03

Tabulka 6.5. Výsledky dominantní letální studie u kryš (Holson a spol., 1995)

V rámci studie o testikulárních účincích (týkajících se varlete) byly skupiny přibližně 45 samců kryš vystavené působení 20 % N<sub>2</sub>O, 20 % O<sub>2</sub>, nebo 60 % N<sub>2</sub> po dobu buď 8 hodin za den nebo 24 hodin za den po dobu 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 14, 21, 28, 32 nebo 35 dní (Kripke a spol., 1976). Skupiny 4 – 6 kryš byly usmrcené okamžitě po ukončení vystavení se působení a bylo prováděno vyšetřování makroskopických abnormalit. Tkáně byly ponechávány pro potřeby histologického vyšetření a krevní vzorky byly zkoušeny na testosteron. Výsledky nejsou systematickým způsobem analyzovány a to zvláště ve vztahu k časovému průběhu změn, avšak histologie konečných účinků na varle je popsána podrobně. Vystavení působení oxidu dusného ovlivnilo pouze takové buňky, které se dělily. Kontinuální vystavení se působení po dobu více jak 35 dní vedlo k tomu, že trubice byly téměř prázdné, tedy bez spermatidů a bez spermií, zatímco přerušované vystavování se působení mělo mírnější efekty, které byly prezentované snížením počtu spermatogenních buněk (tvorba a vývoj spermií). Po následujících 6 dnech bez vystavení se působení tu existuje jasný důkaz o obnovení spermatogeneze, tedy tvorby a vývoje spermií, avšak u některých zvířat toto trvalo déle. Nevyskytoval se žádný účinek na hladinu testosteronu, která byla konzistentní s neexistencí jakýchkoliv histologických změn intersiciálních či vmezeřených buněk.

Land a spol., (1981) vystavili skupiny 5 samic myší působení jednoho z devíti anestetik a to včetně N<sub>2</sub>O při koncentraci 80 %, po dobu 4 hodin denně, po dobu 5 dní. Po 28 dnech bylo prováděno vyšetřování vzorků spermií na morfologické abnormality. Při tomto testování byly identifikovány nepříznivé efekty chloroformu, trichlorethylenu a enfluranu, avšak neprojevil se žádný účinek, který by byl výsledkem vystavení se působení oxidu dusného.

V rámci dvou studií byly hledány histologické efekty vystavení se působení N<sub>2</sub>O ohledně plodnosti obou pohlaví:

K identifikaci mechanismu účinků vystavení se působení oxidu dusného na varlata byly skupiny 24 kryš Sprague-Dawley vystaveny působení oxidu dusného o koncentracích 0 %, 10 % nebo 50 % N<sub>2</sub>O po dobu jedné hodiny (Brodsky a spol., 1984):

Šest kryš z každé skupiny bylo usmrceno okamžitě po vystavení se působení a dalších 6 z každé skupiny 14 hodin, 48 a 72 hodin po expozici. Byly odstraněny pravé varle každého zvířete a vzorek jater a byly testovány na aktivitu syntázy metioninu (MS). MS aktivita se snížila na 37 a 71 % u kontrol okamžitě po vystavení se působení oxidu dusného pro skupiny 50 % respektive 10 %. Obnovení bylo kompletní po 24 – 48 hodinách pro expozici při 10 % a po 72 hodinách v případě expozice s koncentrací 50 % N<sub>2</sub>O. Aktivita syntázy metioninu v játrech, i když byla vyšší než u varlat, probíhala podle podobného modelu snížení a obnovení.

Účinky N<sub>2</sub>O na plodnost samic kryš byly předmětem méně rozsáhlého vyšetřování, avšak bylo to zahrnuto do studie, kterou prováděl Webman (1980):

Skupiny dvaceti dvou kryš ve věku 39 dní a to každého z pohlaví byly vystaveny účinkům 70 % N<sub>2</sub>O / 30 % O<sub>2</sub> po dobu 2 hodin denně po dobu po sobě následujících 30 dnů. Kontrolní skupina 12 kryš každého z pohlaví byla vystavena působení pouze O<sub>2</sub> podle stejného časového rozpisu. Byla tu další kontrolní skupina 5 kryš každého pohlaví, která nebyla vystavena působení. Dvě kryšy každého pohlaví ze skupiny N<sub>2</sub>O byly usmrcené po 5, 10, 20 nebo 30 dnech po působení a byly odstraněny pohlavní žlázy a byly fixovány ve formalinu. Jedna krysa každého pohlaví ze stejné skupiny byla usmrcena před začátkem vystavení se působení, aby tak byla zajištěna histologická základní čára. Po 30 dnech expozice byly kryšy spárené způsobem, jak je uvedeno v následujícím:

- 7 párů ze samců vystavených působení N<sub>2</sub>O a samic vystavených působení N<sub>2</sub>O
- 6 párů ze samců vystavených působení N<sub>2</sub>O a samic vystavených působení O<sub>2</sub>
- 6 párů ze samců vystavených působení O<sub>2</sub> a samic vystavených působení N<sub>2</sub>O
- 6 párů ze samců vystavených působení O<sub>2</sub> a samic vystavených působení O<sub>2</sub>
- 5 párů ze samců a samic nevystavených působení

Zvířecím matkám bylo umožněno vrhnout jejich vrhy mláďat a mláďata byla vážena, měřena a byla u nich prováděna vyšetřování na abnormality. V rámci této studie nebyly zjištěny žádné účinky na plodnost, na velikost

vrhu nebo na mláďata. Histologickým vyšetřováním varlat a vaječníků se neobjevil žádný důkaz o nepříznivých účincích.

Za účelem identifikace nějakých nepříznivých účinků na pohlavní žlázy při přerušovaném vystavování se účinkům oxidu dusného byly skupiny 15 dospělých myší (stáří 13 – 14 týdnů) obou pohlaví vystaveny působení okolního vzduchu, 0,5 %, 5 % nebo 50 % N<sub>2</sub>O po dobu 4 hodin denně, po dobu 5 dní v týdnu a po dobu 14 týdnů (Mazze a spol., 1983). Po poslední expozici byly tyto myši usmrcené. Varlata a vaječníky byly předmětem podrobného vyšetřování včetně morfologie sperma, počtu oocytů či nezralých vajíček, hmotnosti varlat a vaječníků a histologického vyšetřování varlat a vaječníků. Mezi působeními v každém z vyšetřovaných výsledků nebyly zjištěny žádné významné rozdíly.

Na rozdíl od výsledků shora uvedených studií Kugel a spol., (1990) zjistili významné efekty oxidu dusného na plodnost u samic krys. Bylo také navrženo, že toto zahrnovalo mechanismus neplodnosti vyvolané působením oxidu dusného vznikající narušením uvolňování LHRH z hypotalamu:

64 samic krys Sprague – Dawley bylo denně kontrolováno na stav estera a 32 jich bylo vystaveno působení oxidu dusného o koncentraci 30 % N<sub>2</sub>O po dobu 8 hodin denně po dobu 4 dnů. Na konci uvedeného vystavení se působení 8 krys vystavených působení N<sub>2</sub>O a 8 kontrol vystavených působení vzduchu byly nakonec podrobeny anestézii a mozky byly perfundováním či tedy promýváním fixované *in situ*. Řezy mozku byly zbarvené s použitím imunocytochemického způsobu, aby se ukázal LHRH uvnitř buněk hypotalamu. Počty buněk s pozitivním výsledkem zbarvení ukázaly na rozdíly v porovnání s kontrolami tehdy, když vystavení se působení započalo ráno při proestru. Rozdíl byl velice znatelný a přibližně představoval čtyřnásobek úrovně u kontrol. Skupina 12 krys vystavených působení oxidu dusného v podobném režimu a podobná skupina kontrol byly spářené okamžitě po vystavení se působení se samci, kteří nebyli vystaveni působení. Pouze 50 % ze skupiny, která byla vystavena působení N<sub>2</sub>O, vrhla mláďata v porovnání se 100 %, jak tomu bylo u kontrol. Výsledky indikují možný mechanismus, pomocí kterého N<sub>2</sub>O narušuje normální estrální cyklus, což vede ke snížení plodnosti. Tento estrus byl narušen u samic, které byly vystaveny působení po dobu přibližně tří týdnů po ukončení vystavení se působení N<sub>2</sub>O.

Zde bylo znatelně menší sledování tohoto mechanismu, ačkoliv studie *in vitro* efektů vystavení se působení oxidu dusného na hormon uvolňující gonadotropin doporučuje, že tu jako zásadní je více prací. (Zhang a spol., 2003). Jsou zapotřebí další práce ke stanovení významnosti těchto náleží pro posuzování a odhad nebezpečí a byl by zapotřebí vývoj data o odezvách na dávky nebo ohledně prahových hodnot účinku.

## Účinky na plodnost – klinické údaje

### 7.4.2.1 Přehled

Předmětem zájmu ohledně plodnosti je časté vystavení se působení oxidu dusného o nízkých úrovních při výkonu povolání.

Ohledně pouze mužů byla nalezena pouze jedna studie, avšak ta poskytuje určité klinické uklidnění a opětovné ujištění, že neexistuje žádný účinek na morfologii sperma u smíšených vystaveních se působení při anestézii a to včetně oxidu dusného při úrovních až do 300 ppm (Wyrobek, 1981).

Rowland (1993) prováděl vyšetřování dat z dotazníků ze strany zubních asistentek a došel přitom k závěru, že existoval důkaz po delší dobu ohledně těhotenství u takových, které byly vystaveny působení těch nejvyšších dávek oxidu dusného. K podobnému závěru došli Ahlborg a spol. (1996) v rámci studie prostřednictvím dotazníků u porodních asistentek. Obě studie byly založené na dotazníkové akci, tedy na získání dat prostřednictvím dotazníků a nakonec na velmi malých počtech dat a to navzdory velkým výchozím populacím. Existovala tu velká možnost vážné zaujatosti a to vzhledem ke způsobu, jakým byla příslušná data získávána. Konečná velikost skupiny indikující pozitivní efekt je v obou studiích velmi malá (19 respektive 41) a tedy se jedná v takovém případě o velkou náchylnost k zaujatosti a to v důsledku vlastní volby podskupin s předem formovaným pohledem na příčinu pro ně traumatické zkušenosti. Možnost toho, že tyto výsledky představují skutečný efekt, se musí brát v úvahu ve vztahu k neklinickým údajům, které jsou k dispozici.

### 7.4.2.2 Účinky na plodnost – podrobné klinické přezkoumávání

Plodnost u mužů byla předmětem vyšetřování ve studii o morfologii spermatu, přičemž nebyl zjištěn žádný důkaz o nějakém nepříznivém účinku u těch, kteří byli vystaveni anestetikům a to včetně N<sub>2</sub>O.

Wyrobek a spol., (1981) porovnávali morfologii spermatu u vzorků 46 anesteziologů a 26 kontrol. Jako kontroly tu byli pracovníci personálu, kteří hodlali začít pracovat v anesteziologii. Vzorky spermatu byly od každého odebírané při jedné příležitosti a od kontrol toto bylo odebíráno při dvou příležitostech, tedy před začátkem pobytu a potom po jednom roce práce na operačních sálech (pouze 13). Prostředí na operačním sále jsou charakterizované pouze s ohledem na hodnoty oxidu dusného, které byly získané v rámci programů monitorování (jednou za týden až jednou za měsíc), i když se používala jiná anestetika. Vystavení se působení oxidu dusného je odhadnuto v tomto případě na 50 ppm N<sub>2</sub>O s rozsahem 5 – 300 ppm N<sub>2</sub>O. Průměrný věk u kontrolní skupiny byl mírně nižší než průměrný věk skupiny anesteziologů (30,0 ± 0,4 ve srovnání s 27,9 ± 0,5). Mezi těmito dvěma skupinami nebyly zjištěny žádné rozdíly a skupinou kontrol, kdy toto bylo měřeno před vystavením se působení a po expozici, avšak ze všech tří měli podobné hladiny abnormálního sperma, 2 měli nižší hladiny po době 12 měsíců a jeden měl vyšší hladiny.

V rámci dvou retrospektivních studií, které byly prováděny na bázi dotazníků, byly vyšetřovány možné účinky vystavení se anestetickým látkám na plodnost žen, přičemž závěry v tomto případě byly takové, že existuje určitá spojitost. Obě tyto studie předmětem mnoha společných problémů, které jsou spojené s těmito daty, což spočívá v tom, že se jedná o malou skupinu se společnými zájmy ohledně účinků takového vystavení se působení, která může způsobit aspekt zaujatosti ohledně výsledku a to přeceněním jejích hladin, kterým byli vystaveni a dále, neexistuje tu žádné nezávislé ověření data ohledně vystavení se působení.

Rowland a spol., (1992) uvádějí výsledky vyšetřování prostřednictvím dotazníkové akce a prostřednictvím telefonických hovorů, kdy tedy přitom bylo použito vzorku 418 zubních asistentek, které byly těhotné během posledních čtyř let. Tento vzorek byl výsledkem počátečního přístupu k počtu 7000 zubních asistentek. Vzhledem ke skutečnosti, že příslušné osoby, při svých odpovědích si pravděpodobně byly vědomé účelu, kvůli kterému se toto vyšetřování provádí, je nemožné v tomto případě vyloučit zaujatost, když konečná populace představovala pouze 9 % původního cíle. Prvotním cílem v tomto případě bylo získat podrobné informace o počtu menstruačních cyklů, které proběhly mezi prvním nechráněným stykem a těhotenstvím. Informace, které byly získané ohledně doby těhotenství a vystavení se účinku oxidu dusného byly ve velké míře založené na vlastním subjektu a to bez jakéhokoliv nezávislého ověření. K úpravě poměrů ohledně možnosti oplodnění bylo použito kovariátů. Těmito bylo použito perorálních antikoncepčních prostředků, množství vykouřených cigaret, věk, historie zánětlivých onemocnění pánve, frekvence pohlavního styku a nikoliv bílá rasa.

V příslušné analýze kovariátů je dáno, že 203 z žen nebylo vystaveno účinku, 121 žen bylo vystaveno působení oxidu dusného s odsáváním a 60 jich bylo vystaveno působení oxidu dusného bez odsávání. Pro 34 subjektů z konečného vzorku chyběly některé kovariační informace. Z tohoto důvodu tedy byly vyloučené z dalšího provádění rozboru. Skupina, která byla vystavená působení oxidu dusného bez odsávání, vykazovala důkaz o rozdílu v „možnosti oplodnění“ v porovnání od skupiny kontrol, které nebyly vystavené takovému působení, jak je to uvedeno v níže uvedené tabulce 4.5:

Vystavení se působení N <sub>2</sub> O	- n	- Upravený poměr možnosti oplodnění (AFR) <sub>t</sub>	- Kombinované	- P
- 0 – 1 hodina za týden	- 21	- 0,94	- 1,01 (0,73 – 1,39)	- 0,53
- 2 – 4 hodiny za týden	- 20	- 1,03		
- 5 – 9	- 9	- 0,45	- 0,41 (0,23 – 0,74)	- 0,003
- více jak 10 hodin za týden	- 10	- 0,37		

Tabulka 4.5 Efekt vystavení se působení oxidu dusného bez odvětrávání na poměr možnosti oplodnění u zubních asistentek (Rowland a spol., 1992)

Asistentky, které byly vystavené působení oxidu dusného bez odsávání, nebyly rozlišitelné od kontrol. I když autoři deklarují, že odstranili jakoukoliv zaujatost v důsledku provádění vlastního výběru osob, které věří, že tu existuje spojení mezi plodností a vystavení se působení oxidu dusného, 5 osob z 19 osob ve skupině s vysokým odsáváním prožilo spontánní potrat a tento jev spojovalo s vystavením se působení oxidu dusného. Kategorizace vystavení se působení byla založena na rozboru dat post hoc (co potom) a existuje poněkud v tomto případě podezření z maximalizace jakýchkoliv možných rozdílů a to zvláště v takových případech, kdy podávání zpráv o nějakém jevu a důsledky takového jevu pocházejí z jednoho zdroje, aniž by v takovém případě bylo nějaké

nezávislé ověření. I když poskytnutá analýza indikuje ze statistického hlediska nutnost dalšího provádění takového sledování, není možno toto brát v úvahu a to vzhledem k tomu, že toto nelze brát jako skutečný indikátor účinku a to v důsledku povahy studie a možnosti zaujatosti v důsledku mnoha faktorů zahrnujících vlastní výběr a zvláště tedy vzhledem k tomu, že je dán malý počet těch, kteří skutečně byli postiženi.

V rámci pozdějšího komentování této studie Gray (1993) zdůrazňuje, že výskyt ztráty plodu ve skupině, která byla vystavená působení oxidu dusného bez odsávání, je statisticky významná. Odezva ze strany Rowlanda a spol., (1993) ukazuje, že zjistili celkové statisticky významné nebezpečí spontánního potratu v populaci, která byla předmětem jejich studování, s relativním rizikem 3,1 (C.I. 1,5 – 6,2). Také komentují skutečnost, že jejich data nedovolují rozlišení mezi rannou ztrátou plodu a spontánním potratem, což tedy podněcuje k tomu, že přímo neměřili v rámci této analýzy míry potratu.

Ahlborg a spol., (1996) uvádí výsledky prošetřování, které bylo prováděno na základě dotazníkové akce, kdy toto prošetřování se týkalo počtu 3358 švédských porodních asistentek. Potom, co byla vyloučena data a to z různých důvodů, byla prováděna analýza dat týkajících se 972 žen. Specifickou proměnnou veličinou této studie byla doba do početí pro nejméně časově vzdálené těhotenství s horní mezí, která byla dána jako 13 menstruačních cyklů a to pro každého z respondentů. Proměnné veličiny, které vedou ke zmatkům, které byly v tomto případě brány v úvahu, zahrnovaly model práce ve směnách, použití oxidu dusného (měřeno počtem porodů za měsíc, při kterých bylo použito oxidu dusného), vykonávání práce, medikace či léčení léky, kouření, příjem alkoholu, kávy a čaje a předchozí aplikace perorálních antikoncepčních prostředků. Skutečné meze vystavení se působení oxidu dusného nebyly měřené, avšak špičkové hodnoty takového vystavení se působení v době příslušné pro tuto studii byly odhadnuté jako mezní hodnoty přesahující 500 ppm. Celkový počet 41 žen v rámci této studie uvedl vystavení se působení oxidu dusného po dobu více jak 30 porodů za měsíc.

Data vykazala možný nepříznivý efekt v době těhotenství v důsledku věku (Upravený poměr možnosti oplodnění (AFR) a (95 % CI) – 0,77 (0,64 – 0,94), práce po plnou dobu (AFR a (95% CI) – 0,86 (0,74 – 0,99), práce ve směnách (AFR a (95 % CI) – 0,77 (0,51 – 0,98) a vystavení se působení oxidu dusného po dobu více jak 30 porodů za měsíc (AFR a (95 % CI) – 0,63 (0,43 – 0,94). Bylo řečeno, že účinky oxidu dusného budou neovlivněné uvedeným použitím příslušného odsávacího zařízení. I když se tu v tomto případě jedná o zřejmý rozdíl v poměrech, pak tedy je třeba konstatovat, že nejsou dostatečně odlišné v porovnání s kontrolami, aby to bylo přesvědčivé. Kromě toho, spolehlivost dat, která byla získána na základě dotazníkové akce, může být vážným způsobem kritizována a to v důsledku výběru a vyvolání zaujatosti, tudíž tedy, výsledky, které byly získány v rámci této studie, mohou pouze poskytnout určité indikace o možných nepříznivých účincích na plodnost po vystavení těhotných žen působení neznámých úrovní oxidu dusného. V ideálním případě by zde uvedené případy vyžadovaly daleko podrobnějšího vyšetřování, aby tak potom bylo možno identifikovat, zda neexistují nějaké další přispívající faktory, které až dosud nebyly v této analýze zahrnuté nebo zda neexistuje nějaká podskupina v rámci skupiny zahrnuté v oblasti s více jak 30 porody za měsíc, která bere v úvahu zdánlivé efekty.

Studie o použití anestetik během procedury, která je nazvána jako Technika intrafalopiálního (tedy uvnitř vejcovodu) přenosu gamet, či tedy vajíček nebo spermií, (GIFT) (Beilin a spol., 1999), poskytuje určitý citlivý indikátor působení oxidu dusného na plodnost.

Tento postup zahrnuje kombinování oocytů či tedy nezralých vajíček a pohyblivého spermatu ve vejcovodu za účelem podpoření fertilizace či tedy oplodnění a tedy těhotenství. Tato procedura se obvykle provádí v anestézii. Bylo studováno 455 takových procedur a to s celkovou mírou těhotenství 35 %. Rozsah anestetik (Propofol, oxid dusný, izofluran, enfluran / desfluran, midazolam) byl porovnáván a bylo zjištěno, že neexistuje žádný rozdíl mezi použitými anestetiky, pokud se tedy jedná o výsledek.



## Reference toxicity ohledně reprodukce

### 7.4.3.1 Teratogenecita a fetální toxicita

70. American Society of Anesthesiologists. Zpráva Ad Hoc Výboru o účincích stopových anestetik na zdraví pracovníků personálu pracujícího na operačním sále. *Anesthesiologie*. 1974, říjen, 41 (4): 321 – 40.
71. Axelsson G. Ahlberg Jr, G a Bodin L. *Occup Environ Med*. 1966 červen, 53 (6): 374 – 8.
72. Baden J. M. a Fujinaga M. *Br J Anaesth*. 1991, 66 (4), 500 – 3.
73. Beilin Y., Bodian C.A., Mukherjee T., Andres L.A., Vincent R.D. Jr., Hock D.L., Sparks A.E., Munson A.K., Minnich M.E., Steinkampf M.P., Christman G.M., McKay R.S. a Eisenkraft J.B., *Anesthesiology*. 1999 červen, 90 (1): 36 – 41.
74. Bodin L., Axelsson G. A Ahlberg Jr G. *Epidemiology*. 1999 červenec, 10 (4): 429 – 36.
75. Boivin J-F. *Occup Environ Med*. 1997 srpen, 54 (8): 541 – 8.
76. Brodsky J.B., Cohen E.N., Brown B.W. Jr, Wu M.L. a Witcher C. *Am J Obstet Gynecol*. 1980, prosinec 15, 138 (8): 1165 – 7.
77. Cohen E.N., Belville J.W. a Brown B.W. *Anesthesiology*. 1971 říjen, 35 (4): 343 – 7.
78. Cohen E.N., Brown B.W. Wu M.L. Witcher C.E., Brodsky J.B., Gift H.C., Grenfield W., Jones T.W. a Driscoll E.J. *Am Dent Assoc*. 1980 červenec, 101 (1): 21 – 31.
79. Corbet T.H., Cornell R.G., Endress J.L. a Lieding K. *Anesthesiology*. 1974 říjen, 41 (4): 341 – 4.
80. Corbet T.H., Cornell R.G., Leideing K. a Endres J. L *Anesthesiology*. 1973, březen, 38 (3): 260 – 3.
81. Crawford J.S. a Lewis M. *Anaesthesia*. 1986, srpen, 41 (9): 900 – 5.
82. Duncan P.G., Pope W.D., Cohen M.M., Greer N., *Anesthesiology*. 1986 červen, 64 (6): 790 – 4.
83. Ericson A. a Kallen B. *Anesth Analg*. 1979 červenec-srpen, 58 (4): 302 – 5.
84. Ericson H. A. a Kallen A.J.B. . *Anesth Analg*. 1985 říjen, 64 (10): 981 – 8.
85. Fink B.R., Shepard T.H. a Blandau R.J. *Nature*. 1967 duben 8, 214 (84): 146 – 8.
86. Fujinaga M. a Baden J.M. *Anesthesiology*. 1989, prosinec, 71 (6): 991 – 2.
87. Fujinaga M., Baden J.M. a Mazze R.I. *Teratologie*, 1989 listopad, 40 (5): 439 – 44.
88. Fujinaga M., Baden J.M. ., Shepard T.H. a Mazze R.I. *Teratologie*. 1990 únor, 41 (2): 131 – 5.
89. Fujinaga M., Mazze R.I., Baden J.M., Fantel A.G. a Shepard T.H. *Anesthesiology*. 1988, září 69 (3): 401 – 4.
90. Hansen D.K., Knowles B.J., Fullerton F.R. a Poirier L.A. *Life Sci*. 1993, 52 (21): 1669 – 75.
91. Heidam L.Z. *J Epidemiol Community Health*. 1984 červen 38 (2): 149 – 55.
92. Hemminki K., Kyronen P. a Lindbohm M.L. *J. Epidemiol Community Health*. 1985 červen, 39 (2): 141 – 7.
93. Karasawa F. Takita A., Fakuda I a Kawatani Y. *Eur J Anesthesiol*. 2003 červenec, 20 (7): 555 –9.
94. Konieczko K.M., Chapple J.C. a Nunn J.F. *Br J Anaesth*. 1987 duben, 59 (4): 449 – 54.
95. Lane G.A., Nahrwold M.L., Tait A.R., Taylor – Busch M. a Cohen P.J., *Science*. 1980, 21. listopad, 210 (4472): 899 – 901.
96. Mazze R.I. a Kallen B. *Am J Obstet Gynecol*. 1989 listopad, 161 (5): 1178 – 86.
97. Mazze R.I., Fujinaga M. a Baden J.M. *Br J Anaesth*. 1987, říjen, 59 (10): 1291 – 7.
98. Mazze R.I., Fujinaga M., Rice S.A., Harris, S.B. a Baden J.M. *Anesthesiology*. 1988 březen, 64 (3): 339 – 44.
99. Mazze R.I., Wilson A.I., Rice S.A. a Baden J.M. *Teratologie*. 1984, říjen, 30 (2): 259 – 65.
100. Mazze R.I., Wilson A.I., Rice S.A. a Baden J.M. *Teratologie*. 1982, srpen, 26 (1): 11 – 6.
101. Pope W.D., Halsey M.J., Lansdown A.B.G., Simmonds A. a Bateman P.E. *Anesthesiology*. 1978, leden, 48 (1): 11 – 6.
102. Ramazzotto L.J., Carlin R.D. a Warchalowski G.A. *J Dent Res*. 1979 září, 58 (9): 1940 – 3,
103. Rowland A.S., Baird D.D., Shore D.I., Weinberg C.R., Savitz D.A. a Wilcox A.J. *Am J Epidemiol*. 1995, 15. březen, 141 (6): 531 – 8.
104. Shah R.M., Burdett D.N. a Donaldson D. *Can J Physiol Pharmacol*. 1979 listopad, 57 (11): 1229 – 32.
105. Shnider S.M. a Webster G.M. *Am J Obstet Gynecol*. 1965 srpen 1, 92: 891 – 900.
106. Smith B.E. *Anesth Analg*. 1963 srpen – září, 42, 521 – 6.
107. Tassinari M.S., Mullenix P.J. a Moore P.A. *Toxicol Ind Health*. 1986 září, 2 (3): 261 – 71.
108. Výbor Spojeného království pro toxicitu chemických látek v potravinách, Výrobky pro spotřebitele a okolní prostředí – Přezkoumávání navržených mezí vystavení se působení oxidu dusného během výkonu povolání (1995) UK COT, pojednání TOX / 95 / 8.
109. Vieira E. *Br J Anaesth*. 1979 duben, 51 (4): 283 – 7.
110. Vieira E., Cleaton – Jones P., Austin J a Fatti P.L. *S Afr Med J*. 1978 21. leden, 53 (3): 106 – 8.
111. Vieira E., Cleaton – Jones P., Austin J.C., Moyes D.G. a Shaw R. *Anesth. Analg*. 1980, březen, 59 (3): 75 – 7.
- Vieira E., Cleaton – Jones P., a Moyes D. *Br J Anaesth*. 1983 leden, 55 (1): 67 – 9.

## Účinky na chování

- Hay D.M. Br J Obstet Gynaecol. 1978 duben, 85 (4): 299 – 302.  
 Holson R.R., Bates H.K., Laborde J.B. a Hansen D.K. Neurotoxicol Teratol. 1995 září – říjen, 17 (5): 583 – 92.  
 Koeter H.B. a Rodier P.M. Neurobehav Toxicol Teratol. 1986 březen – duben, 8 (2): 189 – 94.  
 Mullenix P.J., More P.A. a Tassinari M.S. Toxicol Ind Health. 1986 září, 2 (3): 273 – 87.  
 Ou X., Li B. 7 Du H. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 2001, červenec, 36 (7): 399 – 401.  
 Palahniuk R.J., Scatliff J., Biehl D., Wiebe H. a Sankaran K. Can Anaesth Soc J. 1977 září, 24 (5): 585 – 596.  
 Rice S.A. Teratologie. 1990, říjen, 42 (4): 373 – 81.  
 Su F., Wei X., Chen X., Hu Z. a Xu H. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 2002 říjen, 37 (10): 584 – 7.  
 Wang B., Zhang X a Wei L. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 1994 Jun, 29 (6): 330 – 1, 380 – 1.

## Plodnost

112. Ahlberg G., Jr, Axelsson G. A Bodin L. Int J Epidemiol. 1996 srpen, 25 (4): 783 – 90.  
 113. Brodsky J.B., Baden J.M., Serra M. a Kundomai Y. Anesthesiologie. 1984 červenec, 61 (1): 66 – 8.  
 114. Buckley D.N. a Brodsky J.B. Oxid dusný a plodnost mužů. Reprod. Toxicol. 1987 – 88, 1 (2): 93 – 7.  
 115. Gray R.H. N Engl J Med. 1993, 28. leden, 328 (4): 284  
 116. Holson, R.R., Bates H.K., Laborde J.B. a Hansen D.K. Neurotoxicol Teratol. 1995 září – říjen, 17 (5): 583 – 92.  
 117. Kripke B.J., Kelman A.D., Shah N.K., Balogh K. a Handler A.H. Anesthesiologie. 1976, únor, 44 (2): 104 – 13.  
 118. Kugel G., Lewtelier C., Zive M.A. a King J.C. Anaesth Prog 1990, 37 (4): 176 – 80.  
 119. Land P.C., Owen E.L., Linde HW, Anesthesiologie 54, 47 – 50, 1981.  
 120. Mazze R.I., Rice S. R., Wyrobek A.J., Felton J.S., Brodsky J.B., a Baden J.M. Toxicol Appl Pharmacol. 1983, 15. březen, 67 (3) : 370 – 5.  
 121. Rowland A.S., Baird D.D. a Winberg C.R. N Engl J Med. 1993, 28. leden, 328 (4): 284.  
 122. Rowland A.S., Baird D.D. a Winberg C.R, Shore D.L. Shy C.M. a Wilcox A.J. N Engl J Med. 1992, 1. říjen, 327 (14): 993 – 7.  
 123. Vieira E., Cleaton – Jones P. a Moyes D, Anestezie. 1983, duben, 38 (4): 319 – 23.  
 124. Webman M.S. Pediatr Dent. 1980, září, 2 (3): 208 – 16.  
 125. Wyrobek A.J., Brodsky., Gordon L., Moore, D.H., Watchmaker G. A Cohen E.N. Anesthesiologie. 1981, listopad, 55 (5): 527 – 32.  
 126. Zhang Q., Rosenberg M., Kugel G., Agarwal RK., Phillips J., Kumar MS., Anesth Prog. 2003, 50 (2), 53 – 61.

### 7.4.3.2 Reference k toxicitě ohledně reprodukce

127. Vilar C. Dentistry. 1990 duben, 10 (2): 13 – 5. (Přehledný článek komentující práci Kugela a spolupracovníků, který byl předmětem vyšetřování na základě použití původních pojednání).  
 128. Schuyt H.C., Brakel K., Oosatendorp G.L.M. a Schiphorst B.J.M., Anestezie. 1986, leden, 41 (1), 82 – 3. (Stručný dopis popisující shluk potratů uvnitř malé skupiny zubních asistentek, avšak neposkytující nějaký reálný důkaz o příčině).  
 129. Eger EI 2nd. AANA J. 1991 srpen, 59 (4): 309 – 12. (Přezkoumávání s žádnými novými daty., Není přímo citováno).  
 130. Davenport H.T. Anesthesiolog. 1975, červen, 24 (6): 249 – 252. (Žádné nové údaje. Nejsou v anglickém jazyce).  
 131. Kripke, B.J. a Sherwin R.P. Anesth Analg., květen 1984, 63 (5): 526 – 528. (Vystavení působení oxidu uhličitého a nikotinu oxidu dusného),  
 132. Coate W.B., Kapp R.W. Jr., Ulland B.M. a Lewis T.R. J Environ Parhol Toxicol. 1979 Květen – červen, 2 (5): 209 – 31. ( Pouze smíšené vystavení se působení. Není žádná taková skupina, která by byla vystavena působení pouze oxidu dusného).  
 133. Smith B.E., Gaub M.L. a Moya F. Anesth Analg. 1965 listopad – prosinec, 44 (6): 726 – 32. (Použité metody a použitý přístup neposkytují příslušná data pro účely provádění odhadu rizik).

## Hematologické a imunologické účinky

### Souhrn

Vystavení se zvířat působení oxidu dusného při koncentracích až do 10 000 ppm N<sub>2</sub>O nebylo spojeno s žádnými účinky na hematologický nebo imunologický systém. Klinické studie nebyly dostatečným způsobem kontrolované, aby tak poskytly nějaký pohled na možné hematologické efekty plynoucí z vystavení se působení při výkonu povolání. Tedy by se zdálo, že hematologické a imunologické účinky nelimitují toxicitu ze strany N<sub>2</sub>O.

Dvě studie, které byly prováděny za účelem vyšetřování hematologických efektů u zvířat, identifikovaly, že značkovač vzájemného působení oxidu dusného s cestou syntázy metioninu, potlačení deoxyuridinu (dU), se změnil v porovnání s kontrolami po 13 týdnech kontinuálního vystavení se myši působení oxidu dusného při koncentraci 50 ppm N<sub>2</sub>O. I když tento rozdíl není statisticky významný, je konzistentní s trendem, který byl pozorován u vyšších expozičních, avšak není konzistentní se známou kinetikou inhibice syntázy metioninu (MS), u které bylo zjištěno, že není ovlivňována při vystavení se působení s koncentracemi 500 ppm. Data z omezené studie, která byla prováděna na zubních lékařích, kde expozice byly méně přímo určitelné kvantitativně, ukazují účinek na tento značkovač při expozičních s 8 hodinovým časově váženým průměrem (TWA) při více jak 1800 ppm. I když je značkovač ovlivněn, toto jako takové nepředstavuje funkčně nepříznivý vliv na kostní dřeň. Přesná závislost mezi značkovačem a jakýmkoliv nepříznivými účinky z vystavení se působení oxidu dusného však nebyly jasně definované.

Existuje důkaz o účinku na imunitní systém u zvířat po 13 týdnech jejich vystavení se působení oxidu dusného o koncentraci 5000 ppm N<sub>2</sub>O. Tento efekt je charakterizován sníženými hladinami imunoglobulinu a sníženou odezvou na vyvolávání reakce s červenými krvinkami u ovcí.

Ostré hematologické účinky, jako je megaloplastická erythropoéza či tvorba červených krvinek s deplecí či vyčerpáním kostní dřeně, následují po prodlouženém vystavení se působení analgetických nebo anestetických úrovní N<sub>2</sub>O často s výsledky spočívajícími ve snížení bílých krvinek (WBC). Vzhledem k tomu, že tyto efekty jsou přímým výsledkem známého vzájemného působení mezi oxidem dusným a cestou syntázy metioninu, je tedy tendence, že tyto efekty budou ostřejší o těch jednotlivců, kteří jsou ohroženi předem existujícími podmínkami a to včetně nedostatku vitamínu B<sub>12</sub> (Vít B<sub>12</sub>) a folátovou nedostatečností. Vystavení se působení po dobu pouze 1 hodiny ukazuje určitý důkaz těchto účinků.

### Neklinické údaje

#### Přehled

Zatímco dřívější studie při vyšších expozičních neukázaly žádný účinek oxidu dusného na bílé krvinky (Rice a spol., 1985, Cleaton – Jones a spol., 1977), myši vystavené působení oxidu dusného o koncentracích 50, 500 nebo 5000 ppm N<sub>2</sub>O po dobu 13 týdnů (Healy a spol., 1990) vykazovaly na dávkách závislejší potlačení dU v kostní dřeni a na dávkách nezávislejší snížení bílých krvinek (WBC) u všech skupin vystavených působení. Rozdíl v potlačení dU při těch nejnižších expozičních nebyl statisticky odlišný od kontrol a i když představuje pokračování trendu, který byl pozorován u vyšších dávek, nemusí být v důsledku vystavení se působení oxidu dusného. Potlačení dU je značkovačem účinku N<sub>2</sub>O na MS, avšak jako nepřímý indikátor nepodává důkaz o nějakém nepříznivém účinku. Ani doba trvání vystavení se působení, ani režimy této poslední studie se výrazným způsobem nelišily od takových, které nevykazovaly žádné účinky, tudíž tedy, na výsledek WBC musíme pohlížet obezřetně a to zvláště vzhledem k tomu, že tu nebyla žádná závislost mezi ostroostí účinku a expoziční. Vzhledem k tomu, že za většiny okolností by se očekávalo, že toxický účinek bude ostřejší se zvyšující se dávkou je možné, že takové pozorované rozdíly představují nenormální kontrolní výsledek spíše než nějaký účinek působení.

Výsledky potlačení dU, které je v závislosti na dávkách, ukazují účinek oxidu dusného na tento značkovač dokonce i při koncentraci 50 ppm N<sub>2</sub>O, i když oddělení rozdílu v porovnání s kontrolami při tomto nízkém vystavení se působení nebylo statisticky významné v porovnání s kontrolami.

V případě expozičních, tedy vystavení se působení oxidu dusného s koncentrací 80 % N<sub>2</sub>O, se vyskytly významné účinky na počty WBC a na kostní dřeň. Krysy, které byly vystavené této úrovni působení oxidu dusného po dobu 6 dní, vykazovaly WBC vyčerpané na 10 % v porovnání s kontrolami a s velkou částí mitotické aktivity (týkající se dělení buněčného jádra) eliminované z kostní dřeně (Green a Eastwood, 1963).

#### Podrobné přezkoumávání

Healy a spol., (1990) prováděli vyšetřování účinků na myších při aplikaci denního vystavení se působení oxidu dusného při nízkých koncentracích N<sub>2</sub>O.

Skupiny 6 samic myší byly vystavené působení oxidu dusného o koncentracích 0, 50, 500 nebo 5000 ppm N<sub>2</sub>O po dobu 6 hodin za den, po dobu 5 dní v týdnu a to po dobu 2 nebo 13 týdnů. Po době 24 hodin po konečném vystavení se působení byla zvířata usmrcena. Byly provedeny vzorky krve a kostní dřené a bylo provedeno potom vážení sleziny, jater, ledvin, brzlíku a nadledvinky. Mezi jinými měřeními byla testována funkce buněk sleziny a byly testovány lymfocytové kultury, přičemž bylo použito odezvy na mitogeny a na červené krvinky ovčí. Zkouška na potlačení dU byla prováděna na kostní dřeni.

Hmotnosti jater u všech skupin, které byly vystavené působení oxidu dusného, byly nižší než tomu bylo u kontrol po 13 týdnech. Počty WBC byly nižší po 13 týdnech v porovnání s kontrolami a to v případě všech skupin, které byly vystavené působení oxidu dusného. Žádný z těchto rozdílů nevykazuje žádnou závislost na dávkách. Příjem tritiaovaného tymidinu splenicými či tedy slezinnými buňkami byl vyšší v porovnání s hodnotami u kontrol a to bez jakéhokoliv mitogenického stimulu u zvířat, která byla vystavena oxidu dusnému v koncentracích 500 a 5000 ppm N<sub>2</sub>O po dobu 13 týdnů, i když je třeba konstatovat, že rozdíl byl významný pouze při vyšších takových expozicích. Odezva na červené krvinky ovce byla snížena ve skupině, která byla vystavena nejvyššímu působení po 13 týdnech a toto bylo potvrzeno prostřednictvím měření imunoglobulinu.

Potlačení dU bylo vyšší v porovnání s kontrolami, způsobem vykazujícím závislost na příslušných dávkách a to ve všech skupinách, které byly vystavené působení oxidu dusného po dobu 13 týdnů, i když rozdíl byl významný pouze u dvou skupin, které byly vystaveny tomu nejvyššímu působení. Podobný efekt nebyl pozorován po době 2 týdnů.

N <sub>2</sub> O (ppm)	Normalizované potlačení deoxyuridinu (% kontrol)	
	Studie po dobu 2 týdnů	Studie po dobu 13 týdnů
0	100,0 ± 3,3	100,0 ± 18,1
50	111,3 ± 4,5	133,8 ± 15,8
500	110,4 ± 5,9	169,3 ± 17,0*
5000	111,3 ± 8,8	204,4 ± 5,9**

Výsledky, které jsou označeny hvězdičkou, jsou významně odlišné od kontrol: \*P < 0,05, \*\*P < 0,01

Tabulka 7.1. Hodnoty potlačení dU u kostní dřené v případě krys, které byly vystavené působení nízkých hladin oxidu dusného (Healy a spol., 1990).

Účinky na počty bílých krvinek nebyly pozorovány u krys, které byly vystaveny mírně vyšší denní hladině oxidu dusného v podobném režimu (Cleaton – Jones a spol., 1977):

V rámci pokusu o objasnění modelu hematologických změn jako odezva na vystavení se působení oxidu dusného byla skupina 30 krys vystavena působení oxidu dusného o koncentraci 1 % N<sub>2</sub>O, po dobu 6 hodin za den, po dobu 5 dnů/týden, zatímco skupina 13 krys byla vystavena působení vzduchu okolního prostředí. 2 nebo 3 krysy byly brány v týdenních intervalech až do 6 týdnů nebo v měsíčních intervalech od 1 do 6 měsíců). Pro potřeby příslušného vyšetřování byly od každé takové krysy odebírány vzorky krve a vzorky kostní dřené. Po prvních 6 týdnech byl zaznamenán vyšší objem shluku buněk (PCV) a nižší počet reticulocytů, tedy buněk retikulárního vaziva u krys, které byly vystavené působení oxidu dusného. Celkově tedy lze konstatovat, že bylo zaznamenáno významné zvýšení v hodnotě PCV a hemoglobinu. Nebyl tu v tomto případě žádný účinek na počty bílých krvinek.

Rozdíly mezi uvedenými dvěma studii mohou být něčím dlužné, pokud se jedná o příliš úzkostlivé rozdíly, pokud se jedná o citlivost vůči hematologickým účinkům oxidu dusného, jak o tom podal zprávu Green (1968).

Rice a spol., (1985) prováděli vyšetřování hematologických účinků v případě vystavení se působení oxidu dusného u myší, kdy se jednalo o koncentrace až do 50 % N<sub>2</sub>O po mírně kratší dobu denní doby expozice a nezjistili v tomto případě žádné účinky:

Skupiny 15 myší obou pohlaví byly vystavené působení vzduchu, 0,5 %, 5 %, nebo 50 % oxidu dusného ve vzduchu a to po dobu 4 hodin za den, po dobu 5 dní v týdnu a po dobu 14 dní. V průběhu této studie byla všechna zvířata monitorována a byla při nekropsii či tedy pitvě odebírána krev pro hematologické vyšetřování a pro potřeby vyšetřování sérové chemie. Vzorky jater byly v tomto případě vyšetřovány na úrovni P – 450. Při pitvě nebyly zjištěny žádné významné rozdíly v tělesné hmotnosti nebo ve hmotnosti jater a ve hmotnosti ledvin. Omezené

histologické vyšetřování nezjistilo žádné rozdíly, které by byly spojené s takovým působením. Hematologická vyšetřování a biochemická vyšetřování nezjistila žádné takové rozdíly, které by byly spojené s takovým působením.

Při modelování známých efektů u lidí, kdy se jednalo o chronické vysoké vystavení se působení, na krysách Green a Eastwood (1963) zjistil typický model deplece či tedy vyčerpání kostní dřeně:

Krev a kostní dřeň u 25 krys, které byly vystavené kontinuálnímu působení oxidu dusného při koncentraci 80 % N<sub>2</sub>O po dobu 2, 4 nebo 6 dní, byly porovnané s tím, jak tomu bylo u 32 kontrolních zvířat, která byla vystavená pouze působení vzduchu. Po dvou dnech počet bílých krvinek (WBC) u krys, které byly vystavené působení oxidu dusného, byl nižší než tomu bylo u kontrol, avšak toto nebylo nijak statisticky významné. Po čtyřech dnech tento rozdíl byl významný a došlo zde k určitému vyčerpání granulocytů. Po šesti dnech vystavení se působení v krvi granulocyty nebyly, pokud se tedy jedná o krysy, které byly vystavené působení oxidu dusného a WBC bylo nižší než 10 % hodnoty kontrol. Kostní dřeň krys po 6 dnech vystavení se působení oxidu dusného o koncentraci 80 % N<sub>2</sub>O byla hypoplastická s žádnou reprodukcí buněk a nebyly přítomné mitózy (dělení buněčného jádra). Megakaryocyty či tedy obrovské buňky kostní dřeně se tedy jeví jako jediná nepostížená buněčná populace.

Určitý důkaz o prospěšném účinku vystavení se působení oxidu dusného na imunosupresi je poskytnut v rámci studie kožních štěpů, jak je uvedeno v následujícím:

Kripke a spol., (1988) vystavili krysy působení vzduchu, oxidu dusnému o koncentraci 20 % nebo 40 % N<sub>2</sub>O a to jak 48 hodin před nebo kontinuálně po chirurgii kožních štěpů. Vystavení se působení oxidu dusného v tomto případě významným způsobem rozšířilo dobu pro odmítnutí transplantátu a to způsobem, který je v závislosti na dávce a to ať toto podání bylo před takovým chirurgickým zákrokem nebo po takovém chirurgickém zákroku. Účinek předběžného podání oxidu dusného při koncentraci 40 % N<sub>2</sub>O byl mírně nižší, než tomu bylo v případě účinku takového vystavení se působení po takovém operačním zákroku.

Další studie poskytla omezený důkaz o nedostatku účinku při vystavení se působení oxidu dusného na normální imunitní funkci.

Při vyšetřování možného účinku působení oxidu dusného na imunitní systém, použili Cullen a spol., (1976) peritoneálních či tedy pobřišničních exsudátních buněk (PEC), jako účinných, proti ascites či tedy břišní vodnatelnosti v případě nádoru u myši s nádorovými buňkami značenými jako <sup>51</sup>Cr. PEC v normálním případě umrtvuje, či tedy zabíjí tyto nádorové buňky, přičemž dochází k uvolňování <sup>51</sup>Cr, což se potom může měřit. PEC a nádorové buňky byly potom společně inkubovány za přítomnosti oxidu dusného v koncentraci 80 % N<sub>2</sub>O a to po dobu 4 hodin. Ačkoliv cytotoxicita PEC byla nižší po inkubaci s použitím oxidu dusného, potom tedy na vzduchu nebyl rozdíl statisticky významný. Výsledky s halotanem v systému stejného modelu potom demonstrovaly významná snížení toxicity PEC.

## Klinické údaje

### 8.2.3.1 Přehled

Vystavení se působení oxidu dusného o hladinách vyšších jak 60 % N<sub>2</sub>O po dokonce i kratší časová období (přibližně jedna hodina) může vykazat účinky na hladiny folátu červených krvinek a to dokonce i o měsíc později a to zvláště u takových jednotlivců, kteří jsou okrajově deficiantní či tedy s nedostatečností v okamžiku takového vystavení se působení (Deleu a spol., 2000). Dlouhodobé vystavení se působení (až do 24 hodin) podobných koncentrací je spojeno s ostrým protržením či jaksi rozkladem kostní dřeně s potom následnými změnami v hematologických hodnotách (Skacel a spol., 1983). Tyto efekty jsou v typickém případě zprostředkovávány prostřednictvím známého vzájemného působení oxidu dusného s Vit B<sub>12</sub> a folátového mechanismu. V důsledku takovýcho vystavení se působení se zvyšuje potlačení dU a pouze jen postupně se potom vrací do normálního stavu a to po 7 dnech. Dokonce i krátká časová období vystavení se působení oxidu dusného v případě vážně nemocných pacientů mohou způsobit magaloblastickou změnu kostní dřeně a s tím spojenou zvýšenou míru potlačení dU (Amos a spol., 1982).

V důsledku pozorování těchto účinků na kostní dřeň a WBC a v důsledku podobných pozorování a podobných nálezů v rámci studií prováděných na zvířatech, byla vedena studie, jejímž cílem bylo vyšetřování účinků vystavení se působení oxidu dusného během chirurgických zákroků na pooperační infekci a zotavování. Tato studie nevykázala žádné nepříznivé účinky, které by plynuly z vystavení se působení oxidu dusného.

Úrovně vystavení se působení oxidu dusného, které jsou jako významné k odhadování nebezpečí, která jsou spojená s vystavením se takovému působení při výkonu povolání, byly předmětem vyšetřování v řadě studií (Bargellini a spol.,

2001, Peric a spol., 1991, Karakaya a spol., 1992, Salo a Vapaavuori, 1976) a zvláštní pozornost byla věnována identifikaci jakýchkoliv takových efektů na dílčí populace lymfocytů. Tyto studie neposkytují nějaký konzistentní obraz, avšak, pokud se jedná o vystavení se působení, ve všech těchto studiích se jedná o vystavení se působení smíšeným anestetickým látkám, které mohou být zdrojem změn. Bargellini a spol., (2001) zjistili účinek na dílčí populace lymfocytů u anesthesiologů, avšak, když se prováděla analýza, která byla specificky zaměřena na korelace s vystavením se působení oxidu dusného, nebyl žádný účinek nalezen. Salo a Vapaavuori, (1976) nezjistili žádné účinky v důsledku vystavení se působení oxidu dusného až do koncentrace 860 ppm N<sub>2</sub>O na hematologické hodnoty pracovníků anesthesiologického personálu. Karakaya a spol. (1992) studovali podobné výsledky u anesthesiologů, avšak zjistili pouze účinek na lymfocyty, který již byl znám, pokud se jedná o vystavení se působení halotanu. Peric a spol. (1991, 1994) zjistili rozsah rozdílů v hematologických hodnotách pracovníků anesthesiologického personálu, kteří pracovali na operačních sálech, které byly dočasně bez odsávání. Vystavení se TWA působení oxidu dusného a halotanu bylo 1600 ppm respektive 350 ppm s maximálními hladinami 10000 ppm a 2240 ppm. Tyto pozorované účinky nelze specificky spojovat s jakýmkoliv anestetickým vystavením se působením, avšak poskytují indikaci o maximálních hematologických důsledcích takového vystavení se působení, které se pohybuje nad běžnými standardními hodnotami. Chronické vystavení se působení úrovní 1800 ppm a více může být spojeno s inaktivací Vit B<sub>12</sub>, jak je to indikováno zvýšenými mírami potlačení dU a to podle výsledků studie, která byla prováděna na zubních lékařích (Sweeney a spol., 1985), avšak možnost, že tyto účinky, které se vyskytly pouze u třech jednotlivců, byly výsledkem špatného použití oxidu dusného při mnohem vyšší hladině, nemůže být vyloučena.

### 8.2.3.2 Podrobné přezkoumávání

Bylo ukázáno, že analgetická nebo anestetická vystavení se působení oxidu dusného po delší časová období ovlivňují hematologické parametry a jednotlivci s okrajovou nedostatečností Vit B<sub>12</sub> nebo folátu, mohou mít určitou dodatečnou zranitelnost proti takovým účinkům:

Skacel a spol., (1983) podávají zprávu o 12 pacientech, kteří byli vystaveni působení oxidu dusného o koncentraci 70 % N<sub>2</sub>O po dobu mezi 4 a 36 hodin během operace a potom po operaci. Všichni tito pacienti vykazovali vzestup ohledně hypersegmentovaných neutrofylií a to v pátý den po operaci, přičemž špička v tomto případě nastala v 7 – 9 den, přičemž toto se odklonilo od kontrol. Vyšetřování dřeně v tomto případě u 6 z těch, kteří byli vystaveni prodlouženému vystavení se působení oxidu dusného, byla vykázána široká megaloblastická erytropoéza neboli tvorba červených krvinek po 24 hodinách. Dřeň prošla řadou změn během několika málo příštích dnů a ještě po 7 dnech byla jako abnormální. Zkoušky na potlačení dU byly jako abnormální u všech, kteří byli vystaveni působení oxidu dusného po dobu 24 hodin, avšak vrátili se do normálního stavu během 7 dnů po takovém vystavení se působení avšak kromě jedné osoby, u které byla folátová nedostatečnost v době operace a měla abnormální výsledek, pokud se jedná o potlačení dU před vlastním vystavením se působení oxidu dusného.

Počet 51 pacientů pokročilejšího věku (průměrný věk byl v tomto případě 59 let), kterým byla dána anestézie s použitím oxidu dusného o koncentraci 66 % N<sub>2</sub>O nebo s použitím Propofolu a to po dobu přibližně asi jedné hodiny, zatímco přitom byli tito pacienti podrobováni očnímu chirurgickému zákroku, byl hematologicky vyšetřován před vlastní operací a opět o jeden měsíc později (Deleu a spol., 2000). Skupina, která byla vystavena působení oxidu dusného, vykazovala snížené folátové hladiny. Zatímco obě skupiny vykazovaly snížený hemoglobin, snížený hematokryt a RBC, rozdíly v tomto případě byly větší u skupiny, která byla vystavena působení oxidu dusného. Tři osoby ze skupiny, která byla vystavena působení oxidu dusného, měly neurologické symptomy, dvě z nich měly abnormální folátové hladiny před operací a všechny osoby měly abnormální hladiny po anestézii s použitím oxidu dusného. Symptomy zlepšily následující folátovou terapii. Dokonce i u těchto jednotlivců nebyl zjištěn žádný důkaz o neutrofilní hypersegmentaci krevních destiček., i když pooperační monitorování, které se potom provádí o měsíc později, mohlo příliš opožděné k tomu, aby se zjistily takové efekty.

Vážně nemocní pacienti, kterým byl podáván oxid dusný před přijetím na jednotku intenzivní péče, vykazovali zvýšené míry potlačení dU a v případě těch nejvážnějších případů nemocí došlo také k megaloblastické změně kostní dřeně:

Amos a spol., (1982) uvádějí data o 70 po sobě jdoucích pacientech, kteří byli přijati na jednotku intenzivní péče v jedné z nemocnic ve Spojeném království, přičemž pozorování na pokračování byla prováděna na 34 pacientech po dobu až 28 dní. 22 pacientů (31 %) vykazovalo při přijetí magaloblastickou změnu kostní dřeně a z těchto pacientů bylo 18 anestetikováno s použitím oxidu dusného po dobu minimálně 2 hodin během časového období 24 hodin před přijetím. 22 jiných pacientů bylo také anestetikováno s použitím oxidu dusného po dobu průměrně 3,1 hodin před přijetím, avšak nevykazovali tito pacienti žádnou magaloblastickou změnu. Pacienti, kteří nevykazovali žádnou změnu kostní dřeně, byli obecně méně vážně nemocní při přijetí, než tomu bylo v takových případech, kdy u nich taková změna byla. Všichni pacienti, kteří byli vystaveni působení oxidu dusného, vykazovali zvýšené míry potlačení dU, což bylo úměrné trvání takové anestézie. Pouze dva pacienti byli s klinickou nedostatečností Vit B<sub>12</sub>, jak je to indikováno sérovými hladinami. Příslušné sledování pacientů bylo velice komplikováno malou mírou

přežití (44 %), avšak u přeživších pacientů jak změna kostní dřeně tak potlačení dU se pomalu vrátily na normální hodnoty a v některých případech tomu bylo tak, že toto nastalo za pomoci dodatkového Vit B<sub>12</sub> nebo folátu.

Amess a spol., (1978) uvádějí zprávu o 22 pacientech, u kterých byl proveden srdeční chirurgický zákrok, přičemž 8 těchto pacientů dostalo 50 % N<sub>2</sub>O po dobu 24 hodin, 9 z nich dostalo 50 % N<sub>2</sub>O po dobu 5 – 12 hodin a 5 pacientů nedostalo oxid dusný vůbec. Od každého z pacientů byla získána data hematologická a ohledně potlačení dU kostní dřeně. Po 24 hodinách aplikace oxidu dusného všechny kostní dřeně vykazovaly magaloblastickou erytropoézu neboli tvorbu červených krvinek. Většina z těch, kteří podstoupili takové vystavení se působení po kratší časové období, vykazovala stejný efekt. Potlačení dU se zvýšilo většinou u takových pacientů, kteří byli vystaveni působení po dobu 24 hodin, avšak také menšímu rozsahu u takových, kteří byli vystaveni působení po kratší časové období. Pouze někteří pacienti byli sledováni až po dobu 6 dní po vystavení se působení a během této doby se všechny výsledky vrátily k normálu. U skupiny, která byla vystavena působení nebo méně jak 24 hodin, výsledky potlačení dU byly již normální po uplynutí 24 hodin. Sérový folát byl také zvýšen.

Není k dispozici žádná indikace o účincích oxidu dusného na imunitní systém, která by vyplývala ze studií o hojení ran:

Náhodná zkouška 418 pacientů, kteří byli rozepsáni za účelem resekcce tlustého střeva ve třech nemocnicích v Rakousku a Maďarsku, byla prováděna Fleischmannem a spol. (2005). Počet se zhojením souvisejících výsledků byl porovnáván mezi skupinou, u které jako anestetikum bylo použito oxidu dusného a jinou skupinou, u které bylo použito dusíku, remifentanilu a isofluranu. Nebyl žádný rozdíl v míře infekce, ve skóre hojení ran ASEPSIS, nebyl žádný rozdíl v ukládání kolagenu rány, v počtu pacientů, kteří byli přijati na jednotku kritické péče, v času, kdy potom došlo k prvnímu požití potravy, v době trvání pobytu v nemocnici nebo ohledně úmrtnosti.

Studie o dílčích populacích lymfocytů ve vzorcích krve, které byly odebrány anesthesiologům a pracovníkům personálu anesthesiologie, jsou uvedené Bargellinim a spol., (2001), Pericem a spol., (1991) a Karakayou a spol., (1992). Tyto studie demonstrují některé možné účinky na anesthesiologii, přičemž se jedná o některý faktor či některé faktory, které jsou zahrnuté při práci na operačním sále, avšak selhávají, pokud se jedná o přesvědčivé sdružení takových účinků s nějakou přesvědčivou příčinou a určitě neposkytují žádný důkaz o účinku oxidu dusného:

Vzorky krve, které byly odebrány 51 anesthesiologům, jak to provedl Bargellini a spol., (2001), byly porovnány s 20 kontrolami, které byly uzpůsobené podle věku, BMI, podle pohlaví, stáří v zaměstnání, podle manželského stavu, podle počtu dětí, podle fyzické aktivity, podle požívání kávy a alkoholu. Skupina anesthesiologů se odlišovala od kontrol v zahrnutí více kuřáků nebo těch kteří dříve kouřili a kteří deklarovali kratší dobu spánku. 6 z těchto anesthesiologů bylo také vystaveno působení rentgenových paprsků. Úrovně vystavení se působení oxidu dusného na operačních sálech po období 3 měsíců byly použity k zařazení expozice každého takového anesthesiologa během výše uvedeného časového období, avšak vystavení se působení jiných anestetických látek nebylo v rámci této studie specificky zahrnuto. V rámci této studie byly identifikovány celkové rozdíly v dílčích populacích lymfocytů. CD3 (T – buňky) a CD16<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup> (buňky NK) byly jedinými typy buněk, které sloužily k tomu, aby se prokázaly celkové statistické rozdíly mezi uvedenými dvěma skupinami. V té předcházející bylo menší snížení u anesthesiologů, zatímco u té druhé bylo zvýšení. Podrobnější analýza dat ukázala na významné snížení v porovnání s kontrolami a to pokud se jedná jak o CD3 tak o CD4 (pomocné) buňky a to pro takové anesthesiology, kteří byli vystaveni působení během posledních dvou týdnů (41 / 51). Zvýšené počty NK buněk statisticky významně spojené s vystavením se působení rentgenových paprsků (45 / 51). Tato studie demonstruje stejný efekt práce na operačním sále na dílčí populaci lymfocytů, avšak neukazuje na žádné spojení s rozsahem vystavení se působení oxidu dusného a to navzdory specificky prováděné analýze, která byla prováděna za tímto účelem, za účelem zjištění takového vztahu.

Diferenciace mezi efekty v důsledku působení rentgenových paprsků a anestetických plynů je tu ve stavu jakéhosi podezření a to vzhledem k tomu, že většina anesthesiologů byla vystavena oběma faktorům. I když tu existuje důkaz v datech, že anesthesiologové, kteří nebyli vystaveni působení po dobu posledních 14 dní nebo nebyli vystaveni působení rentgenových paprsků, jsou na tom podobně jako kontroly, na úrovních typů se třemi buňkami, jsou velikosti skupiny příliš malé k tomu, aby poskytly důvěru v pozorované rozdíly.

Karakaya a spol. (1992) prováděl studium krve u 32 anesthesiologů a u 20 dobrovolných zdravotnických kontrol., kdy bylo provedeno uzpůsobení podle věku. Rozdělení podle pohlaví bylo stejné u kontrol, ale bylo 10 mužů / 21 žen u anesthesiologické skupiny. Anesthesiologové byly prý vystaveni hlavně působení halotanu a zřídka byli vystaveni působení oxidu dusného. Byla provedena analýza séra na hladiny imunoglobulinu (IgG, IgM a IgA), zatímco krev byla podrobena stanovení celkového počtu leukocytů a specifickému stanovení hladin dílčích populací leukocytů. Mezi těmito dvěma skupinami nebyly zjištěny žádné rozdíly a to nehledě na zvýšený poměr buňky T pomocníka / T – potlačovače, který byl identifikován autory jako známý efekt halotanové anestézie.

Peric a spol. (1991) popisuje výsledky analýzy vzorků krve, které byly odebrané 21 pracovníkům personálu, kteří byli zaměstnaní na anesthesiologickém oddělení, přičemž toto je zde porovnáváno s 35 zdravými dobrovolnými kontrolami. Přesná funkce členů skupiny anesthesiologů není v tomto případě definována. Vzorky krve byly od subjektu odebírané před letními prázdninami a po letních prázdninách nějak nespecifikovaného trvání. Operační sály oddělení byly v tomto případě dočasně jako nevětrané a to v důsledku poruchy příslušného zařízení a měření maximálních hladin expozice pro halotan respektive pro oxid dusný byly 2244 ppm a 10000 ppm a s TWA až do 350 ppm a 1600 ppm. Před prázdninami byl vidět rozsah diferencí a to včetně redukovaného WBC, nesegmentovaných neutrofilů, basofilů a lymfocytů. Dílčí populace lymfocytů se měnily s neovlivněnými počty CD2 a CD3, avšak tato čísla byla zvýšená jako procentuální hodnota vůči celku. CD20 a NK buňky byly významným způsobem zvýšené a to ať se jedná o počty tak o podíl vůči celku. Nedostatek základních údajů o vystavení se působení u specifické populace a smíšené expozice pouze umožňují učinit závěr, že atmosféry či tedy prostředí bez odsávání a možná jiné způsoby na operačních sálech a studovaná pracovní životnost populace jsou spojené s účinky na krev zahrnující rozdíly v dílčích populacích leukocytů. Je tu jako uvolňující poznamenat, že většina těchto rozdílů se nevyskytovala po letních prázdninách ve stejné skupině. Přetrvávala pouze redukovaná populace CD20. Měření imunoglobulinu (IgG, IgM, IgD a IgA) nevykázala žádné rozdíly.

V pojednání o sledování stejného počtu 21 sledovaných osob uvádějí Peric a spol., (1994) rozdíly ve spojení s věkem v mírách obnovy ze změn, které byly pozorovány v počtu erytrocytů a počtu WBC. Velikost skupiny představuje 9 jedinců v mladší skupině (méně jak 40 let) a 12 jednotlivců (8 pro měření po prázdninách) ve starší skupině (více jak 40 let), tudíž se tedy jedná o velice omezenou hodnotu. Uvedená starší skupina vykazovala obecně menší vliv a vyšší míru obnovy po prázdninách.

Omezená studie o normálním rozsahu hematologických parametrů a to včetně dílčích populací lymfocytů, ve skupině pracujícího personálu na operačním sále, byla publikována následujícími: Salo a Vapaavuori, (1976):

Vzorky krve od 10 zdravých pracovníků personálu na operačním sále byly porovnávány se vzorky 12 pracovníků nemocnice, kteří pracovali mimo prostředí operačního sálu. Jako anestetikum se nejčastěji používalo oxidu dusného a rozbořem prostředí operačního sálu byly zjištěny hodnoty až 860 ppm N<sub>2</sub>O. Vzorky krve byly analyzovány k identifikaci T – a B- lymfocytů a rovněž tak omezeného rozsahu normálních hematologických výsledků a výsledků klinické chemie a to včetně ESR, Hb, hematokrytu, RBC, SGOT, SGPT a kreatininu. Žádný z měřených konečných výsledků nevykázal nějaké rozdíly mezi těmito dvěma skupinami. Obsah oxidu dusného ve vzduchu vydechaném pracovníky personálu operačního sálu, což bylo měřeno na konci tříhodinového pracovního časového období, činil  $31 \pm 16$  ppm.

Sweeney a spol., (1985) uvádějí zprávu o vyšetřování 21 zubních lékařů, kteří byly vystaveni působení oxidu dusného při výkonu povolání:

Střední časově vážené vystavení se působení se pohybovalo v rozsahu 159 ppm až 4600 ppm. Tři osoby v rámci zkoušky vykazovaly důkaz o inaktivaci vitamínu Vit B<sub>12</sub> (test potlačení dU) a dvě z nich měly morfologické abnormality jak u kostní dřeně tak u periferních krvinek. Žádná z těchto osob nebyla vystavena působení oxidu dusného pod úrovní 1800 ppm, tedy výsledky jsou v souladu se známými účinky oxidu dusného jako důkaz inaktivace vitamínu Vit B<sub>12</sub>.



## Reference hematologie a imunologie

- Amess J.A., Burman J.F., Rees G.M., Nancekivil D.G. a Mollin D.L. *Lancet*. 1978, 12. srpen, **2** (8085): 339 – 42.
- Amos R.J., Hinds C.J., Amess J.A.L. a Molin D.L. *Lance t*. 1982, 16. říjen, **2** (8303): 835 – 8.
- Deleu D., Louon A., Sivagnanam S *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* (Časopis klinické farmacie a terapeutiky) 2000, 25: 171 – 277.
- Bargellini A., Rovesti S., Barbieri A., Vivoli R., Roncaglia R., Righi E. a Borella P. *Sci Total Environ*. 2001, 10. duben, 270 (1-3): 149-56.
- Cascorbi HF. *Int Anesthesiol Clin*. 1981 Winter, 19 (4): 69-75.
- Cleaton – Jones P. Austin J.D., Banks D., Vieira E. a Kagan E. *Br J Anaesth*. 1977 březen, 49 (3): 223 – 6.
- Cullen B.F. Duncan P.G. a Ray-Kell L. *Anesthesiology*. 1996, květen, 44 (5): 386-90.
- Fleischmann E., Lenhardt R., Kurz A., Herbst F., Fulesdi B., Greif R., Sessler D.I. a Akca O. *Lancet*. 2005 24 – 30 Zář, 366 (9491): 1101-7.
- Green C.D. *Anesth Analg*. 1968, září – říjen, **47** (5): 509 – 14.
- Green C.D. a Eastwood D.W. . *Anesthesiology*. 1963 květen – červen, 24: 341 – 5.
- Healy C.E., Brown D.B. a Sharma R.P. *Toxicol Ind. Health*. 1990 leden, 6(1): 57 – 70.
- Karakaya A., Tuncel N., Yucesoy B., Akin M., Cuhruk H., Sardag O.S. a Beksac M. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 1992, 14 (1-2): 251 – 9.
- Kripke B.J., Luu K.C. a Steen S.N. *Chinese J Microbiol Immunol*, 1988 listopad, 21 (4): 230 – 5.
- Peric C., *Anaesthesia*. 1994, listopad, 49 (12): 1022 – 7.
- Peric M., Vranes Z. a Marusic M. *Anaesthesia*. 1991 červen, 46 (7): 531-7.
- Rice S.A., Mazze R.I. a Baden J.M. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 1985 listopad – prosinec, 6(2): 271 – 81.
- Salo M a Vapaavuori M. *Br J Anaesth*. 1976 září, 48 (9): 877 – 90.
- Skacel P.O. Helwett A.M. a Lewis J.D. *British Journal of Haematology* 1983, 53 189 – 200.
- Sweeney B., Bingham R.M., Amos R.J. Petta A.C. a Cole P.V. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985, 31. srpen, 291 (6495): 567 – 9.

### 8.2.4.1 Identifikované hematologické reference (ale vyjmuté z přehledu)

- Cascorbi H.F. *Int Anesthesiol Clin*. 1981 Winter, 19 (4): 69 – 75. (Přezkoumávání neobsahující žádné nové údaje).
- Goto Y. *Can J Anaesth*. 2000 duben, **47** (4): 350 – 3 (vystavení se působení směsi anestetik).
- Shah N.K. *Anesth Analg*. 1978, září – říjen, **57** (5): 527 – 33 (Práce pojednávající o hojení ran, není přímo důležité pro odhad nebezpečí).
- Kripke B.J., Kupferman A. a Luu K.C. *Chinese J Microbiol Immunol* 1987, listopad, 20 (4): 302 – 10) Konečný výsledek nemá přímou důležitost pro odhad rizik).
- Ermens A.A., Vink N., Schoester M., van Lom K., Lindermans J. a Abels J. *Cancer Lett*. 1989 květen, 45 (2): 123 – 8 (Studie účinků na leukemická zvířata).
- DiFazio C.A., Green C.D. a Smiddy J.F. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1969 březen, 14 (2):259-65 (Konečný výsledek není dostatečně závažný pro odhadování nebezpečí).