



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**  

---

**FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**  
Katedra biomedicínské techniky

# **Efekty malých koncentrací oxidu dusného na organismus**

## **Effects of low concentrations of nitrous oxide upon the human organism**

Diplomová práce

Studijní program: Biomedicínská a klinická technika

Studijní obor: Biomedicínský inženýr

Autor diplomové práce: Bc. Květa Válková

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Karel Roubík, Ph.D.

---

**Kladno 2019**

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Válková** Jméno: **Květa** Osobní číslo: **434168**  
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**  
Garantující katedra: **Katedra biomedicínské techniky**  
Studijní program: **Biomedicínská a klinická technika**  
Studijní obor: **Biomedicínský inženýr**

## II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

**Efekty malých koncentrací oxidu dusného na organismus**

Název diplomové práce anglicky:

**Effects of low concentrations of nitrous oxide upon the human organism**

Pokyny pro vypracování:

Navrhnete experiment pro zjištění, jaké koncentrace oxidu dusného ještě nezpůsobují významné změny fyziologických parametrů a kognitivních funkcí lidského organismu. Provedte experiment zaměřený na testování vlivu koncentrace oxidu dusného na tyto parametry a funkce na skupině dobrovolníků. Experiment řádně vyhodnoťte.

Seznam doporučené literatury:

- [1] Pavel Dostál a kol., Základy umělé plicní ventilace, ed. 2. rozšířené vydání, Maxdorf, 2005, 304 s., ISBN 80-7345-059-3  
[2] Roubík K., Sieger L., Sýkora K., Work of Breathing into Snow in the Presence versus Absence of an Artificial Air Pocket Affects Hypoxia and Hypercapnia of a Victim Covered with Avalanche Snow: A Randomized Double Blind Crossover Study, PLOS ONE, ročník 10, číslo 12, 2015, e0144332 s.

Jméno a příjmení vedoucí(ho) diplomové práce:

**prof. Ing. Karel Roubík, Ph.D.**

Jméno a příjmení konzultanta(ky) diplomové práce:

Datum zadání diplomové práce: **18.02.2019**

Platnost zadání diplomové práce: **20.09.2020**

  
prof. Ing. Peter Kneppo, DrSc.  
podpis vedoucí(ho) katedry

  
prof. MUDr. Ivan Dylevský, DrSc.  
podpis děkana(ky)

## III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Student(ka) bere na vědomí, že je povinnen(a) vypracovat diplomovou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v diplomové práci.

13.5.2019  
Datum převzetí zadání

Válková  
Podpis studenta(ky)

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem „Vliv nízkých koncentrací oxidu dusného na organismus“ vypracovala samostatně a použila k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k diplomové práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu §60 Zákona č.121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon).

V Kladně 16. 5. 2019

.....

Bc. Květa Válková

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych tímto poděkovala svému vedoucímu prof. Ing. Karlovi Roubíkovi, Ph.D. za jeho odbornou pomoc při tvorbě experimentu a následně při psaní samotné práce. Dále bych také ráda podělovala mé konzultantce MUDr. Lence Horákové za její pomoc při samotném experimentu, při kterém byla celou dobu přítomna jako anesteziologický dozor, za cenné konzultace v oblasti anestezie a za veškerý čas, který mi během tvorby práce věnovala. Děkuji i Martinovi Bartoňovi za zpracování psychologických testů v prostředí Python.

# **ABSTRAKT**

## **Efekt malých koncentrací oxidu dusného na organismus**

Oxid dusný je využíván ve zdravotnictví jako analgetikum a pro úvod do anestezie. Cílem práce bylo odhalit vliv nízkých koncentrací oxidu dusného na kognitivní funkce a fyziologické parametry u člověka. Nejprve byly vybrány kognitivní funkce a testy, pomocí kterých byly měřeny. Konkrétně šlo o test reakční doby a číslicově-symbolový substituční test (DSST), pomocí kterého bylo sledováno vnímání a jednoduché přemýšlení probandů. Mezi zkoumané fyziologické parametry byla vybrána například dechová a tepová frekvence. Byl navržen pilotní experiment, pomocí kterého byly vycitány nedostatky měření a následně byl proveden samotný experiment na studentech FBMI ČVUT. Experiment proběhl pro koncentrace 0, 5, 10, 12, 15 a 20 % oxidu dusného v inhalované směsi.

Reakční doba je pro koncentrace do 15 % ovlivněna mírně pozitivně během krátkodobé inhalace (po dvou minutách), pro 20 % dochází již ke zhoršení. U DSST dochází ke zhoršení pro všechny koncentrace, k signifikantnímu až u koncentrace 20 %. Parametry jako tepová frekvence, dechové objemy a poměr inspiria ku expiriu nejsou inhalací ovlivněny. U dechové frekvence došlo k poklesu pro koncentrace 15 a 20 %. Po ukončení inhalace klesla saturace krve kyslíkem. Z výsledků jsem vyhodnotila koncentraci 5 % oxidu dusného ve vdechované směsi jako koncentraci s nejmenším vlivem na lidský organismus.

### **Klíčová slova**

Oxid dusný, reakční doba, kognitivní funkce, anestezie, fyziologické parametry

## **ABSTRACT**

### **Effects of low concentrations of nitrous oxide upon the human organism**

Nitrous oxide is used as analgetic and pre-phase of anaesthetic. The aim of this thesis is to find the effect of low concentrations of nitrous oxide upon cognitive functions and physiological parameters. First I chose cognitive functions and their tests. In particular it was reaction time test and digit symbol substitution test (DSST) for apprehension and cogitation.

Among the physiological parameters examined, for example, respiratory and pulse rates were selected. A pilot experiment was designed by which the measurement deficiencies were captured and an experiment was conducted on FBME CTU students. The experiment was carried out for concentrations of 0, 5, 10, 12, 15 and 20% nitrous oxide in the inhaled mixture.

The reaction time for concentrations up to 15% is slightly improved during short-term inhalation (after two minutes), for 20% there is a worsening. DSST worsens for all concentrations, significantly for 20%. Parameters such as heart rate, tidal volumes, and inspiration to expiratory ratio are not affected by inhalation. The respiratory rate decreased for concentrations 15 and 20%. After inhalation, oxygen saturation decreased. Thanks to these results, I evaluated the concentration of 5% nitrous oxide in the inhaled mixture as the concentration with the least effect upon the human body.

### **Keywords**

Nitrous oxide, reaction time, cognitive functions, anesthesia, physiological parameters

# Obsah

<b>Seznam symbolů a zkratk</b> .....	<b>8</b>
<b>1 Úvod</b> .....	<b>9</b>
1.1 Přehled současného stavu .....	10
1.2 Cíle práce.....	12
<b>2 Metody</b> .....	<b>13</b>
2.1 Výběr parametrů.....	13
2.2 Finální aparatura.....	14
2.3 Pilotní experiment .....	16
2.3.1 Testy .....	17
2.3.2 Průběh.....	19
2.3.3 Výstupy pilotního experimentu .....	20
2.4 Finální experiment.....	22
2.4.1 Testy .....	22
2.4.2 Probandi.....	23
2.4.3 Průběh.....	24
2.5 Návrh odborného experimentu .....	26
2.6 Statistické zpracování dat.....	27
<b>3 Výsledky</b> .....	<b>28</b>
3.1 Kognitivní funkce.....	28
3.2 Pocity probandů.....	38
3.3 Fyziologické parametry .....	42
<b>4 Diskuse</b> .....	<b>48</b>
<b>5 Závěr</b> .....	<b>55</b>
<b>Seznam použité literatury</b> .....	<b>56</b>
<b>Příloha A: Etická komise</b> .....	<b>59</b>
<b>Příloha B: Protokol experimentu</b> .....	<b>60</b>
<b>Příloha C: Informovaný souhlas</b> .....	<b>65</b>
<b>Příloha D: Karta probanda</b> .....	<b>67</b>
<b>Příloha E: Statistické tabulky psychologických testů</b> .....	<b>69</b>
<b>Příloha F: Grafy fyziologických hodnot</b> .....	<b>70</b>
<b>Příloha G: Obsah přiloženého CD</b> .....	<b>86</b>

# Seznam symbolů a zkratk

## Seznam symbolů

Symbol	Jednotka	Význam
FeN <sub>2</sub> O	%	Frakce exspirovaného oxidu dusného
FiN <sub>2</sub> O	%	Frakce inspirovaného oxidu dusného
FeO <sub>2</sub>	%	Frakce exspirovaného kyslíku
FiO <sub>2</sub>	%	Frakce inspirovaného kyslíku
EtCO <sub>2</sub>	%	Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu
SpO <sub>2</sub>	%	Saturace periferní krve kyslíkem
FEV1	l	Usilovný vydechnutý objem za 1 s
FVC	l	Usilovná vitální kapacita

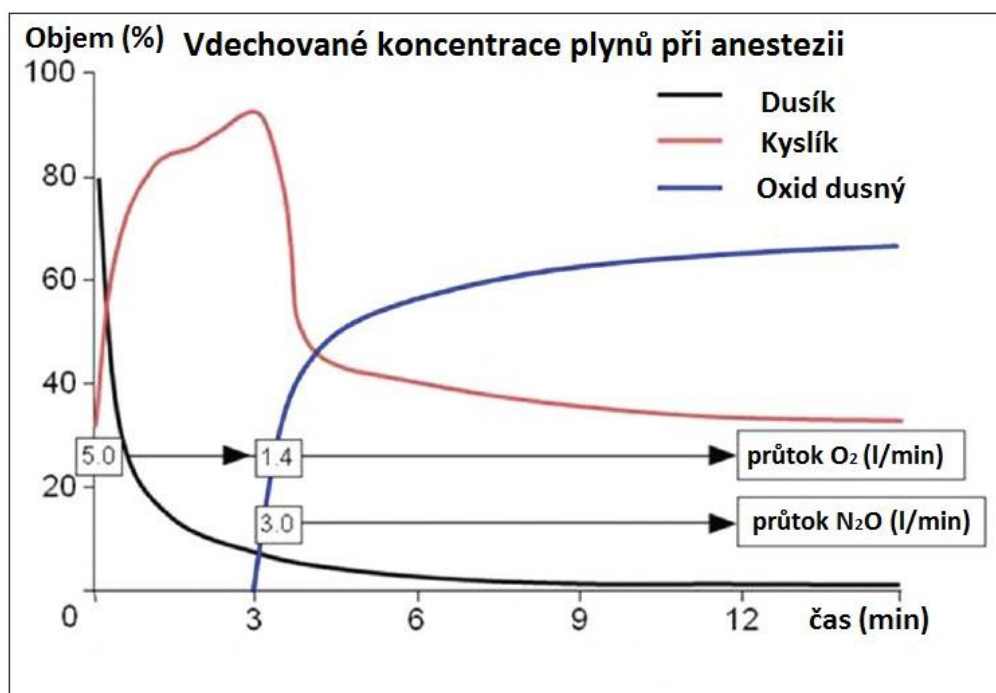
## Seznam zkratk

Zkratka	Význam
DSST	Digitálně-symbolový substituční test
VAS	Vizuální analogová škála
RD	Reakční doba
N <sub>2</sub> O	Oxid dusný
O <sub>2</sub>	Kyslík
N <sub>2</sub>	Dusík



# 1 Úvod

Oxid dusný ( $N_2O$ , neboli rajský plyn) je nehořlavý bezbarvý a dobře tolerovaný plyn nasládlé chuti, který je ve zdravotnictví používán již od první poloviny 19. staletí jako anestetikum, analgetikum a také pro úvod do anestezie (viz obrázek 1). Dnes je běžně používán především v porodnictví a stomatologii hlavně pro své pozitivní účinky na vnímání bolesti. Při interakci oxidu dusného s benzodiazepinovými receptory dochází k anxiolýze, neboli utlumení úzkosti, a vzniká stav euforie následovaný analgetickým účinkem [1]. Při koncentracích 50 % a výše již dochází i ke slabému anestetickému účinku. Dále se také v anestezii používá pro snížení minimální alveolární koncentrace jiných anestetik (např. izofluranu či sevofluranu) a k urychlení jejich účinku [2].



Obrázek 1: Průběh koncentrace inhalovaných plynů ( $N_2$ ,  $O_2$ ,  $N_2O$ ) během úvodu do anestezie. [3]

V případě krátkodobé inhalace oxidu dusného dochází k dočasnému zhoršení kognitivních funkcí, jako je reakční doba, paměť, pozornost, motorika, aj. V případě dlouhodobého užívání může dojít až k trvalému zhoršení. Vliv tohoto sedativa byl podrobněji zkoumán pro jeho vysoké koncentrace používané pro anestezii [4, 5]. Běžně

užívané anesteziologické směsi jsou složeny z minimálně 50 % oxidu dusného doplněného kyslíkem. Při užití takto vysoké koncentrace bylo odhaleno negativní ovlivnění kognitivních funkcí. Avšak oxid dusný se také používá v technicko-medicínské oblasti jako indikátor (tzv. „marker“) netěsnosti ventilační soustavy pro dýchací experimenty, například v simulovaném lavinovém sněhu. [6] Pro tento účel jsou používány koncentrace nižší než anestetické, u kterých je nutné zajistit nulový vliv na kognitivní funkce a fyziologické parametry u měřené osoby při případném vdechnutí. Výhodou oxidu dusného je prudký nástup jeho koncentrace v krvi ihned po začátku inhalace (jak je vidět v grafech  $\text{FeN}_2\text{O}$  z experimentu v příloze F) a taktéž rychlé odeznění po ukončení inhalace, kdy se z těla velmi rychle vymývá. To je způsobeno nízkou rozpustností v krvi [7].

Efekt oxidu dusného lze ovlivnit několika faktory, především koncentrací oxidu dusného ve vdechované směsi nebo délkou trvání inhalace.

Je možné si vytvořit jistou toleranci na určité účinky oxidu dusného [8,9]. To platí jak pro anestetické, tak i analgetické účinky.

## 1.1 Přehled současného stavu

V současné době je známý vliv anestetických koncentrací oxidu dusného na organismus, jelikož je tento plyn o koncentraci 50 % a výše běžně používán pro medicínské účely. Při krátkodobé i dlouhodobé inhalaci těchto koncentrací dochází ke zhoršení psychomotorických funkcí, prodloužení reakční doby, paměti a dalších kognitivních funkcí. Zároveň také dochází k utlumení vnímání. [4]

Na druhou stranu však vliv nízkých koncentrací oxidu dusného na organismus nebyl doposud jednoznačně popsán. Mnoho studií se již zabývalo definováním mezní koncentrace, u které již dochází k ovlivnění kognice pacienta, avšak výsledky jsou stále nedostatečně popsány. Tyto studie byly především motivovány užíváním  $\text{N}_2\text{O}$  u stomatologů a snahou zjistit, zdali má plyn negativní vliv na psychomotoriku obsluhujícího personálu. V provedených studiích byly testovány koncentrace od 0 % až do 40 % v závislosti na studii. V případě studie [10] byl pozorován vliv koncentrací 1, 2, 4 a 8 %  $\text{N}_2\text{O}$  ve vdechované směsi na reakční dobu u 12 dobrovolníků. Pro tyto koncentrace nebyl odhalen žádný signifikantní rozdíl ve výsledcích, avšak při inhalaci

8% směsi se reakční doba mírně zkrátila. Proto ve druhé fázi experimentu porovnávali na 30 dobrovolnících koncentrace 8 a 12 %. V této části byl odhalen negativní vliv oxidu dusného na reakční dobu. Doba inhalace před provedením testu byla 1,5 h pro každou koncentraci. Fagan [11] sledoval již více funkcí jako pozornost, psychomotoriku, paměť, reakční dobu a náladu dobrovolníků. K testování těchto funkcí využil číslicově-symbolový substituční test (DSST), test reakční doby a vizuální analogovou škálu (VAS), pro vyhodnocení subjektivních pocitů probandů. Experiment započal vyplněním VAS, následně byla 15 minut inhalována směs oxidu dusného (0, 5, 10, 20 a 40 %) s kyslíkem, po tomto čase byl opět vyplněn VAS a následovalo 45 minut vyplňování testů ukončené posledním VAS. Výsledkem studie bylo zjištění signifikantního zhoršení výsledků DSST již pro koncentraci 10 % a reakční doby až u 20% směsi. Zpomalení reakční doby pro 20 % oxidu dusného ve směsi Fagan přirovnal vlivu etanolu v množství 1g/kg [12].

Další studie [13] porovnávala vzduch s koncentracemi 15, 25 a 35 % na 10 dobrovolnících pomocí testu reakční doby. Doba se postupně prodlužovala s narůstající koncentrací N<sub>2</sub>O ve směsi. Vliv na reakční dobu mezi 0, 1, 5, 10 a 20 % doplněnými kyslíkem zkoumal Moore [14] 1983 na šesti dobrovolnících. Testy byly spuštěny vždy po 5, 15 a 30 minutách od začátku inhalace a mezi jednotlivými testy během jedné měřené koncentrace nebyly odhaleny významné rozdíly. Po vyhodnocení testů byla zlomová koncentrace oxidu dusného odhadnuta jako ležící v intervalu mezi 10 a 20 %. Tento rozsah podpořil i výsledek studie s lehce odlišným protokolem [15].

Jiný tým [16] uskutečnil měření na 12 dobrovolnících s užitím koncentrací 0, 3, 5, 7, 10 a 15 % doplněných kyslíkem. U testů pozornosti, psychomotoriky a krátkodobé paměti došlo k narušení u 15 %, u dlouhodobé paměti bylo zhoršení oproti kontrolní koncentraci pozorovatelné pro všechny koncentrace. Při sledování nálady probandů pomocí škály VAS byl významný pocit závratě již pro 7 %, ospalosti, letargie, otupělosti nepříjemnosti a opilosti pro 15 %.

Poněkud odlišné výsledky získaly studie [17,18] pro 5 % N<sub>2</sub>O ve směsi, kdy pozorovali náznak zlepšení reakční doby a pozornosti. Toto zjištění připomíná známé účinky etanolu [17,19,20,21,22,23,24], u jehož nízkých koncentrací je taktéž pozorováno mírné zlepšení výkonu.

Rozdíl mezi koncentracemi 0, 5 a 30 % pozorovala studie [25] pomocí testu DSST a pokleповého testu. Pro 30% směs byl vliv na DSST negativní a statisticky významný, u druhého testu však došlo ke zhoršení pouze u 9 z 20 dobrovolníků. Tento výsledek byl přisouzen rozdílné náchylnosti osob na oxid dusný. Tuto koncentraci sledovaly i studie [26,27] pomocí odlišných psychologických testů.

Vzhledem k tomu, že se oxid dusný o nízkých koncentracích využívá nejen ve stomatologických ordinacích, ale například i v experimentech, kde slouží pro odhalení nežádoucích přídechů probandů během inhalace vzduchu přes aparaturu (například zapuštěnou hluboko do sněhu v případě simulace dýchání pod lavinou), je nutné znát jeho efekt. U měřených osob by mohl přídech špatně zvolené koncentrace způsobit nejen ovlivnění kognitivních funkcí jako je reakční doba a vnímání, ale také fyziologických parametrů, jako například dechové frekvence, dechových objemů, tepové frekvence nebo koncentrace oxidu uhličitého ve výdechu. Tyto aspekty by mohly způsobit znehodnocení celého výsledku experimentu a zároveň by mohly mít negativní vliv na probanda.

## 1.2 Cíle práce

Cílem této práce je navrhnout experiment, pomocí kterého bude možné zjistit, které koncentrace oxidu dusného ještě nezpůsobují významné změny fyziologických parametrů a též kognitivních funkcí lidského organismu. Nejprve je nutné vybrat vhodné parametry a funkce, které budou zkoumány a vyhodnocovány pro daný účel. Dále je nutné zvolit optimální hodnoty měřených koncentrací oxidu dusného, aby byla odhalena nejnižší hodnota koncentrace, při které již dojde k ovlivnění alespoň některých určených parametrů a funkcí. V další fázi bude proveden experiment na dobrovolnících z řad studentů FBMI ČVUT. Experiment bude zaměřen na testování vlivu zvolených koncentrací oxidu dusného na kognitivní funkce a fyziologické parametry dobrovolníků, které budou hodnoceny pomocí série psychologických testů před, během a po inhalaci oxidu dusného. Výsledky budou statisticky zpracovány vhodným statistickým testem pro vícenásobné měření. Pomocí zjištěných výsledků bude navržen finální experiment pro potvrzení získané hypotézy.

## 2 Metody

Tato studie je intervenční, probíhala prospektivně s randomizovaným výběrem měřených koncentrací oxidu dusného a je jednoduše zaslepená. Pilotního měření se zúčastnilo devět probandů (6 žen a 3 muži), finálního experimentu se zúčastnilo 16 probandů (9 žen a 7 mužů). Všichni probandi byli studenty Fakulty biomedicínského inženýrství ČVUT v Praze, byli ve věku 19 – 26 let a vyplnili informovaný souhlas. Žádný z nich nebyl z experimentu vyloučen z důvodu nemoci respirační soustavy, těhotenství či nevolnosti v průběhu měření. Studie proběhla se schválením etické komise FBMI ČVUT ze dne 5. 3. 2019 pod číslem C51019 (viz příloha A) a byla zaregistrována do registru klinických studií ClinicalTrials.gov.

### 2.1 Výběr parametrů

Prvním úkolem bylo vybrat vhodné kognitivní funkce, fyziologické parametry a koncentrace oxidu dusného. Pro vhodnou volbu kognitivních funkcí bylo přihlédnuto k již provedeným studiím zabývajícím se nízkými koncentracemi oxidu dusného. V této oblasti byla zvolena reakční doba, která byla měřena pomocí počítačového postřehového testu, a pozornost měřená pomocí počítačového číslicově-symbolového substitučního testu (DSST). Reakční dobou se zabývaly studie [10,13,15,16] ve většině případů a její měření probíhalo velmi podobným stylem jednoduchého testu. Pozornost pomocí testu DSST byla sledována ve studiích [11,16,25]. Tento test je běžný pro farmakodynamické sledování látek ovlivňující kognitivní funkce.

Pro sledování subjektivních pocitů probanda byla vytvořena vizuální škála inspirovaná designem z Armstrongovy studie [16] pro následnou možnost porovnání získaných informací.

Mezi zaznamenávané a vyhodnocované fyziologické parametry byly zahrnuty inspirované a exspirované koncentrace kyslíku a saturace krve kyslíkem, pro sledování hladiny kyslíku v krvi. Dále byly sledovány tyto koncentrace i u oxidu dusného pro ujištění, že v inhalované směsi nedochází k výkyvům větším než 10 % z randomizovaně vybrané koncentrace a pro sledování ustálení  $\text{FeN}_2\text{O}$ , která v ustáleném stavu odpovídá koncentraci v arteriální krvi a následně i v cílovém orgánu – mozkové tkáni [28]. Efekt

oxidu dusného byl sledován u dalších ventilačních parametrů, jako je koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu, dechová frekvence, dechový objem při nádechu a výdechu a poměr inspiria ku expiriu, které byly měřené pomocí spirometru.

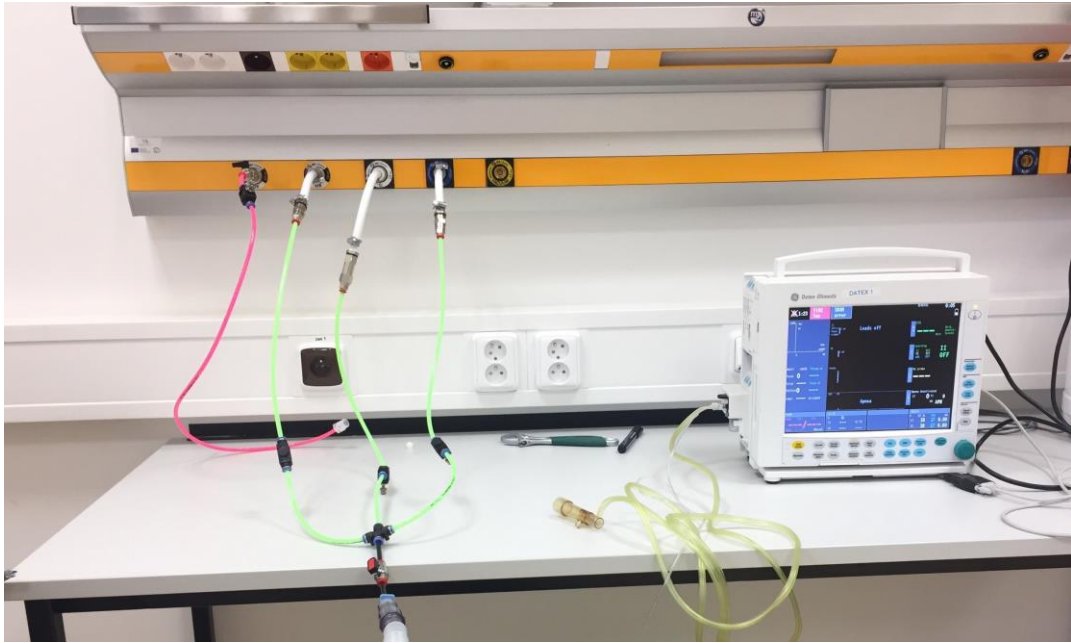
Cílem práce je zkoumat vliv nízkých koncentrací  $N_2O$ , proto byly zvoleny pouze koncentrace do 20 %. Pro možnost porovnání koncentrací bylo nutné do měření zahrnout i koncentraci 0 %, tedy kontrolní koncentraci. Ve starších studiích je naznačena prahová koncentrace ovlivňující funkce a parametry v rozmezí 10 – 15 % oxidu dusného ve směsi [10,11,16]. Proto byla vybrána pouze jedna koncentrace pod touto hodnotou a to 5 %. Pro zúžení daného intervalu byly zvoleny hodnoty 10, 12 a 15 % a pro ověření správnosti protokolu na koncentraci, která podle dostupných literárních údajů již bezpečně ovlivňuje kognitivní funkce a fyziologické parametry, byla zvolena i koncentrace 20 %. Všechny koncentrace byly připraveny se vzduchem z rozvodu a kyslík byl doplněn na 21 % ve směsi, aby nedocházelo k hypoxii.

## 2.2 Finální aparatura

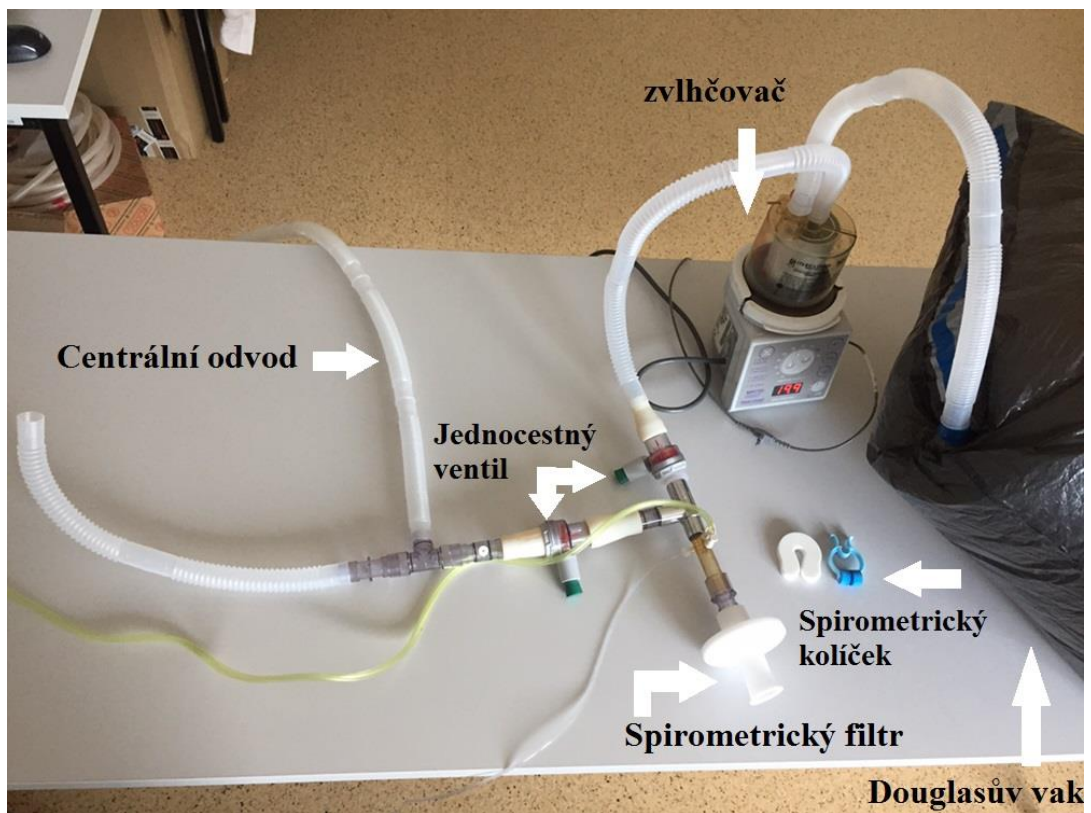
Aparatura vytvořená pro experiment se skládala ze směšovače plynů z rozvodu (viz obrázek 2), vytvořeného v laboratoři, s nastavitelnými průtoky pro jednotlivé plyny. Směs či vzduch byl napuštěn do jednoho 160litrového Douglasova vaku vyrobeného z velkoobjemového pytle s ústím pro připojení ke směšovači či aparatuře (viz obrázek 3 a 4). Plyn z vaku pokračoval do zvlhčovače vzduchu MR730 (Fisher & Paykel Healthcare, Auckland, Nový Zéland), ve kterém byl plyn ohřát na tělesnou teplotu a zvlhčen. Po zvlhčovači následovala aparatura tvořená dvěma jednocestnými ventily (Ambu A/S, Ballerup, Dánsko), aby nedocházelo ke zpětnému vdechování. Ventily byly upraveny pro jejich plnou funkčnost během experimentu (viz obrázek 5). Nejbližše probandovi se nacházela spirometrická clonka s odvodnými trubičkami do monitoru vitálních funkcí Datex Ohmeda S5 (GE Healthcare, Helsinky, Finsko), ke kterému byl připojen notebook pro sledování fyziologických parametrů a jejich ukládání. Do spirometru dýchal proband přes bakteriální a virový jednorázový filtr (Lemon Medical GmbH, Hammelburg, Německo).

Při nádechu proudil plyn z vaku přes zvlhčovač, jeden jednocestný ventil a spirometr až k probandovi. Při výdechu šel plyn přes spirometr a druhý jednocestný ventil směrem do odvodu. Aby nedocházelo k podpoře výdechu (vzniku podtlaku)

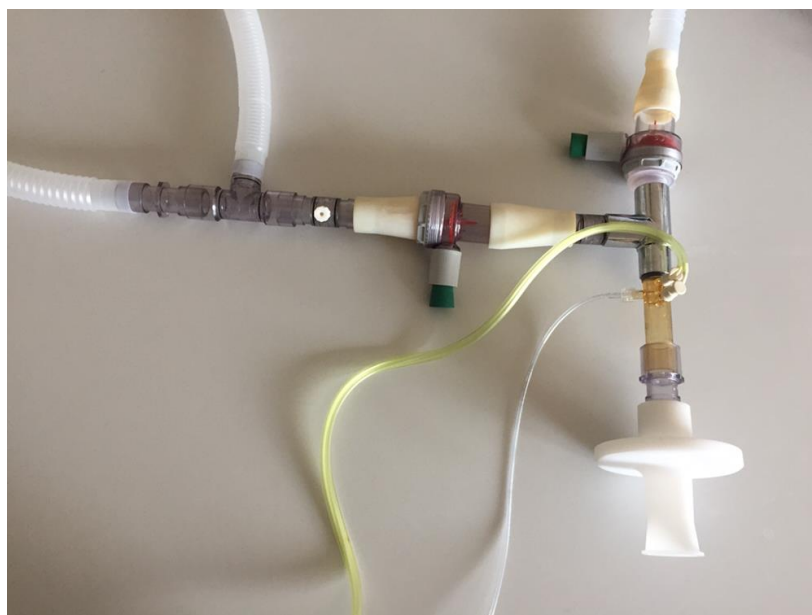
pomocí centrálního odvodu, bylo za expiračním jednocestným ventilem vytvořeno Ayerovo T, které možný vznik podtlaku eliminuje díky otevřenému systému. Jeden konec funguje jako přívod, druhý je zapojen do odvodu a uprostřed je kolmo připojen třetí volný konec vrapované trubice.



Obrázek 2: Směšovač plynů s monitorem vitálních funkcí.



Obrázek 3: Aparatury pro inhalaci.



**Obrázek 4: Detail aparatury.**



**Obrázek 5: Jednocestný ventil před (vlevo) a po úpravě (vpravo).**

## **2.3 Pilotní experiment**

Pilotní experiment sloužil především pro odhalení nedostatků v prvotně navrženém protokolu, které nebylo možné odhalit před samotným měřením.



### 2.3.1 Testy

Test reakční doby byl vytvořen v programovacím prostředí Matlab, test DSST v prostředí Python a škála VAS byla probandům předložena v základní papírové podobě. Testy na sebe plynule navazovaly v pořadí: VAS, DSST a test reakční doby.

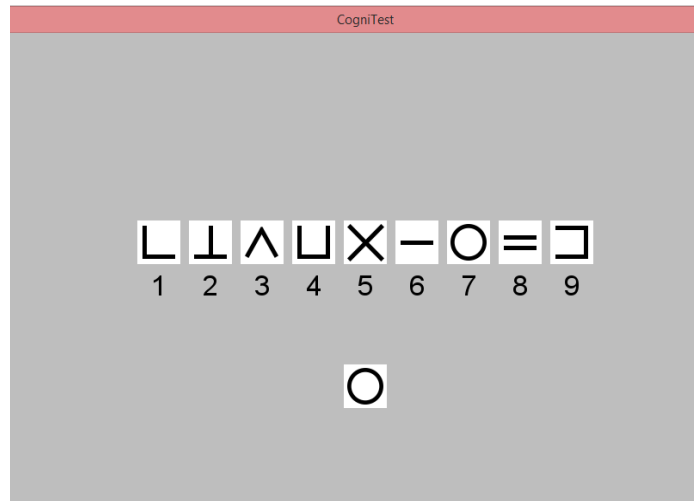
Nejprve byla probandům dána vizuální analogová škála pro sledování pocitů probanda. Tento prvek byl podstatný pro sledování fyzického stavu probanda i pro získání informací ohledně jeho subjektivního stavu, který by mohl mít vliv na měřenou studii. Standardní vzhled je úsečka dělená na deset centimetrových dílků, kde pacient může napsat značku libovolně mezi okrajové body (0 a 10 cm) a výsledky se odečítají v milimetrech (viz obrázek 6).

S přihlédnutím na jiné studie [11,16] byly vybrány subjektivní pocity, které byly u probandů sledovány. Zkoumané pocity byly: aktivní – ospalý, zaujatý – znužený, klidný – napjatý, zdravý – závrať, příjemný – nepříjemný, střízlivý – opilý a bolest hlavy – bez bolesti hlavy.

Aktivní	Ospalý
Zaujatý	Znuděný
Klidný	Napjatý
Zdravý	Závrať
Příjemný	Nepříjemný
Stržlivý	Opilý
Bez bolesti	Bolest hlavy

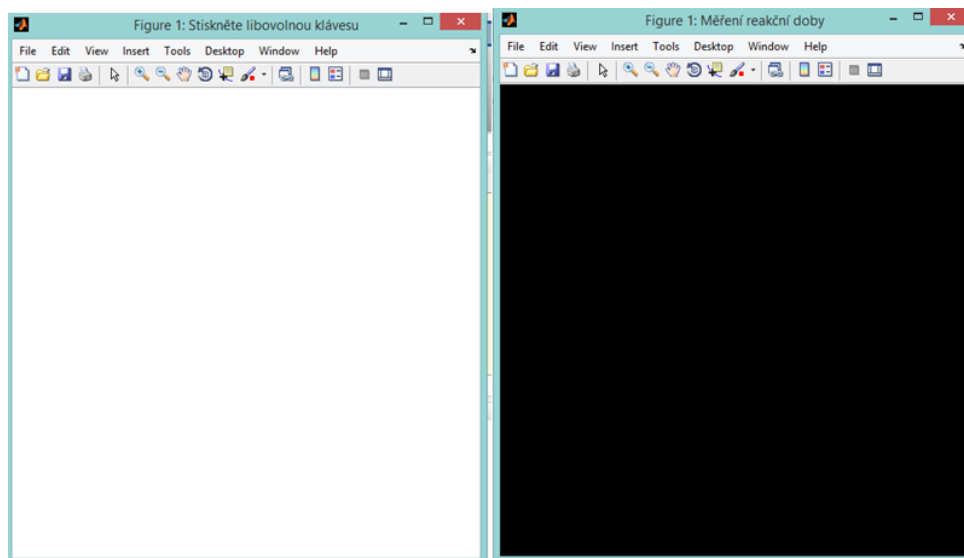
**Obrázek 6: Vizuální analogová škála pro pilotní experiment.**

Po ukončení vyplňování škály VAS byl návazně spuštěn číslicově-symbolový substituční test (viz obrázek 7), který běžel přesně 90 s. Ten je založen na rozpoznání symbolů a jejich přiřazování k číslicím dle přiloženého klíče. Během této doby se na obrazovce objevilo devět odlišných symbolů, pod kterými byly přiřazené číslice 1 – 9 a jeden samostatný znak, který se shodoval s jedním znakem z výše zobrazené nabídky. Proband zadal na numerické klávesnici číslo tohoto symbolu a následně se zobrazily znaky v jiném pořadí s jiným testovaným znakem.



**Obrázek 7: Vzhled testu DSST. Autorem softwarové aplikace testu DSST je Martin Bartoň, FBMI ČVUT.**

Reakční doba byla měřena v každé sérii 5x s náhodným rozestupem dlouhým v intervalu 2,5 – 5 s. Při spuštění programu se na obrazovce objevila bílá plocha, která se po uplynutí programem zvoleného času změnila na černou (viz obrázek 8). V tuto chvíli stiskl proband libovolnou klávesu na počítači a byla odečtena délka jeho reakce. Těchto pět reakcí bylo zapsáno do protokolu.

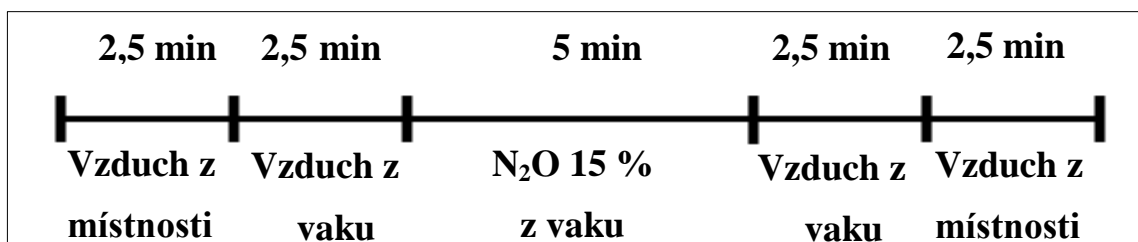


**Obrázek 8: Vzhled testu reakční doby pro pilotní měření.**

### **2.3.2 Průběh**

Pilotní měření proběhlo na devíti studentech FBMI v rámci výuky předmětu Práce s informačními zdroji. Před samotným experimentem byl každý proband

podroben spirometrickému vyšetření a byly zapsány hodnoty FVC, FEV1 a FEV1/FVC. Dále též podepsali informovaný souhlas a vyplnili kartu probanda. Celý cyklus se skládal z pěti fází, přičemž v každé docházelo k vyplnění tří vybraných testů – VAS (vizuální analogová škála) na papíře, neuropsychologický test DSST a test na reakční dobu, které byly v počítačové podobě. V rámci první fáze měl proband neomezený čas na vyzkoušení všech testů, zatímco dýchal vzduch volně z místnosti. Testy byly provedeny v pořadí VAS, DSST, reakční doba. Druhá fáze trvala 2,5 minuty a proband dýchal vzduch z Douglasova vaku přes aparaturu, zatímco vyplňoval dané testy. Třetí fáze byla složena ze dvou 2,5minutových intervalů, při kterých byly vyplněny testy a proband dýchal celých pět minut směs 15% oxidu dusného se vzduchem a kyslíkem o koncentraci 21 %. Čtvrtá fáze se shodovala s fází třetí, tedy jedna série testů během 2,5 minut. Poslední pátá fáze trvala opět 2,5 minuty a proband dýchal vzduch z místnosti bez aparatury. Průběh experimentu je znázorněn schematicky na obrázku 9.



**Obrázek 9: Schéma pilotního experimentu.**

### 2.3.3 Výstupy pilotního experimentu

Po provedení pilotního měření na studentech FBMI bylo odhaleno několik podstatných nedostatků experimentu a to jak z hlediska subjektivního vnímání celého experimentu probandy, tak i získanými výsledky z použitých testů DSST, reakční doby a VAS. Na základě těchto výstupů byly provedeny níže uvedené úpravy v protokolu finálního experimentu.

Při zkoumání průběhu oxidu dusného bylo zjištěno, že pro 15% směs oxidu dusného nejsou 2,5 minuty dostatečný čas na vydýchání oxidu dusného z těla. Toto bylo zjištěno sledováním frakce oxidu dusného během expira, která v mnoha případech nedosáhla nuly po daném časovém intervalu. Výpočtem časové konstanty z křivky  $FeN_2O$  a jejího trojnásobku byla odhadnuta doba ukončení děje vydýchání  $N_2O$  z organismu. Z tohoto důvodu bylo trvání fáze vydýchávání během vdechování vzduchu z Douglasova vaku prodlouženo na 5 minut. Za tuto dobu nastalo již, podle výpočtu,

ukončení děje z křivky EtN<sub>2</sub>O, ukončení děje u všech měřených probandů během pilotního experimentu.

Pomocí použitých testů bylo zjištěno, že v případě DSST a reakční doby docházelo u probandů k průběžnému učení a jejich výsledky v testech se zlepšovaly. Tedy nebylo možné zaznamenat možný vliv oxidu dusného na kognitivní funkce. Jako náprava tohoto problému byla přidána testovací fáze před skutečným měřením, která nahradí fázi 1. Během této testovací fáze si proband opakovaně vyzkouší všechny testy s určitým časovým odstupem. Dále dojde také ke zvýšení počtu opakování měření reakční doby z 5 na 10 pro lepší statistické vyhodnocení.

Během 5minutové fáze inhalace směsi s oxidem dusným byly, stejně jako v ostatních fázích, testy vyplňovány okamžitě. Což se ukázalo jako nevhodné řešení, jelikož při zkoumání křivky FeN<sub>2</sub>O bylo zjištěno, že dosažení požadované koncentrace v organismu trvá přibližně dvě minuty. Koncentrace v lidském organismu lze zjistit z FeN<sub>2</sub>O, jelikož tato frakce se blíží momentální koncentraci v mozku [7,29]. Je tedy nutné tuto fázi o daný čas prodloužit, aby nejprve došlo k ustálení této koncentrace a nebylo ovlivněno měření. Proband tedy bude inhalovat směs 7 minut a testy začne plnit po ukončení druhé minuty inhalace.

Problémy vnímané ze stran probandů byly především týkající se komfortu během měření. Při dýchání vzduchu či směsi z Douglasova vaku se vak ke konci určité fáze začal ucpávat vlastní stěnou přiléhající na jeho výstup. Proto bude vak při vyústění upraven a nepřetržitě sledován, aby otvor zůstal neustále otevřený. Dále bude materiál vaku pečlivě vyvětrán po dobu několika dní, jelikož se objevily stížnosti na jeho nepříjemný zápach.

Probandům nadále nevyhovoval způsob podávání testů, jelikož oba počítačové testy byly na odlišných počítačích (kvůli úspoře času při přepínání testů) a VAS test byl v papírové podobě. Pro konečný experiment byly všechny tři testy v počítačové podobě a budou spuštěny na tomtéž zařízení.

Největším problémem však byl velký odpor při vdechování plynu přes vytvořenou aparaturu. Tato potíž byla odstraněna použitím nových jednocestných ventilů o výrazně nižším odporu a větším průměru. Tím došlo k usnadnění inhalace přes aparaturu a ke snížení hyperventilace, která byla tímto dyskomfortem vyvolána. Kromě odporu ztěžoval dýchání také suchý vzduch napuštěný do vaků přímo z fakulního laboratorního rozvodu. Proto byla aparatura doplněna o zvlhčovač (viz kapitola 2.2.1

Aparatura) se slabým odvodem anestetických plynů z laboratoře, aby nedocházelo k podpoře výdechu. Odtah byl nutný z důvodu omezení vdechování exspirovaného vzduchu probandů obsluhujícím personálem. Jedním z pozorovaných nedostatků bylo též špatné těsnění použitého nosního klipu, který byl nahrazen vhodnějším klipem.

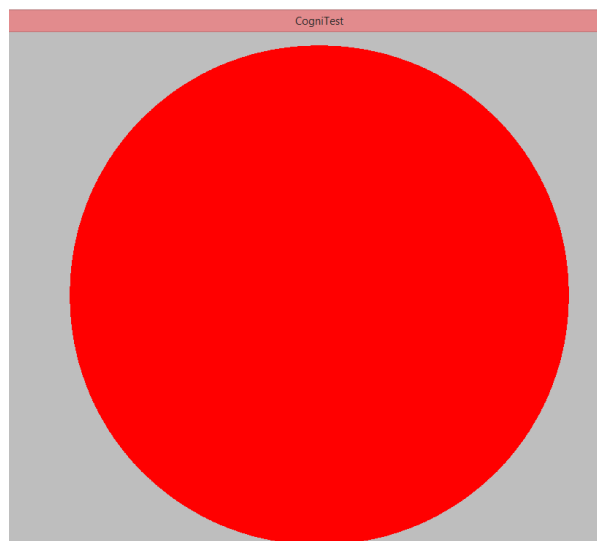
## 2.4 Finální experiment

Pro finální experiment došlo k úpravám inspirovaným pilotním experimentem v oblasti testů, aparatury, pohodlí probandů i obsluhujícího personálu a bylo vybráno více dobrovolníků pro jeho uskutečnění.

### 2.4.1 Testy

Pro měření kognitivních funkcí a nálady probandů byly vytvořeny vhodné počítačové testy v prostředí Python. Testy na sebe plynule navazovaly v pořadí: test reakční doby, test DSST, VAS škála.

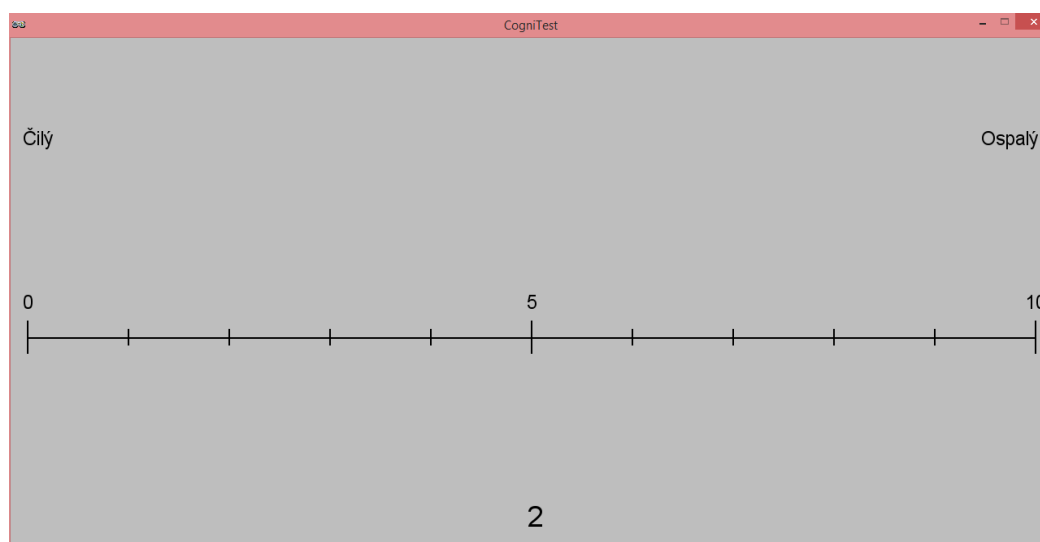
Pro měření reakční doby byl vytvořen test s deseti opakováními, aby bylo možné provést statistické vyhodnocení výsledků i v případě, že by některé hodnoty musely být vyřazeny. Po spuštění testu se na obrazovce objevila šedá plocha, na které se po náhodném čase (v rozmezí 2 – 5 s) objevil červený kruh (viz obrázek 10). V tento moment stiskl proband libovolnou klávesu na počítači a proběhlo devět dalších měření.



**Obrázek 10: Vzhled testu reakční doby pro finální experiment.**

Po ukončení měření reakční doby byl návazně spuštěn číslicově-symbolový substituční test, který běžel přesně 90 s. Tento test se shodoval s testem použitým pro pilotní experiment.

Poslední v řadě byla vizuální škála pro sledování pocitů probanda. Tato škála se používala dříve běžně analogová, ovšem v našem případě bylo použito zdigitalizované provedení (viz obrázek 11), jelikož vzhledem k inhalaci přes aparaturu měli probandi problém sledovat škálu na papíře a lépe se jim vyplňovala na obrazovce jako ostatní testy. Místo analogového rozdělení na 10centimetrovou úsečku se dnes v klinické praxi běžně používá i diskrétní hodnocení pomocí celých čísel, případně obrázků, především pro skórování bolesti, které je v praxi nejběžnější. Zkoumané pocity ve finálním experimentu byly shodné s pocity vybranými pro pilotní měření.



Obrázek 11: Vzhled VAS pro finální experiment.

## 2.4.2 Probandi

Měření proběhlo na zdravých dobrovolnících z řad studentů FBMI. Konkrétně se jednalo o devět žen a sedm mužů. Mezi nimi se nevyskytovali žádní aktivní kuřáci, ani netrpěli žádnou nemocí respirační soustavy, díky které by bylo nutné jejich vyřazení z měření. Bližší charakteristika měřených osob je zobrazena v tabulce 1.

**Tabulka 1: Základní charakteristika skupiny probandů.**

<b>Parametr</b>	<b>Všichni probandi (N = 16)</b>
<b>Věk (roky)</b>	23,0 ± 1,6 (19 – 26)
<b>Váha (kg)</b>	71,2 ± 18,9 (40 – 108)
<b>Výška (cm)</b>	176,1 ± 11,8 (158 – 198)
<b>BMI (kg·m<sup>2</sup>)</b>	22,5 ± 3,5 (16 – 31)
<b>FEV1 (l)</b>	3,9 ± 1,0 (2,1 – 5,9)
<b>FVC (l)</b>	4,3 ± 1,2 (2,2 – 7,5)

Hodnoty jsou prezentovány jako průměry ± směrodatná odchylka a rozsah (minimum – maximum). Vysvětlivky: BMI (index tělesné hmotnosti), FEV1 (usilovný vydechnutý objem za 1 s), FVC (usilovná vitální kapacita).

### 2.4.3 Průběh

Délka trvání experimentu je 120 minut samotného měření, celková doba včetně pauz mezi měřeními (1,5 h) je 8 hodin a měření je rozděleno do dvou dní po třech sériích. Dobrovolníci byli požádáni a vyloučení alkoholu, tabáku a kofeinu ve dnech měření. Každý z probandů měl přiřazené vlastní ID, podle něhož docházelo k identifikaci. Náhodně volené koncentrace směsi byly zaznamenávány podle přiděleného klíče (viz tabulka 2), aby měřené osoby nevěděli, kterou koncentraci v daný moment inhalují.

**Tabulka 2: Klíč pro identifikaci koncentrací N<sub>2</sub>O.**

<b>Koncentrace (%)</b>	<b>klíč</b>
0	M
5	O
10	C
12	B
15	N
20	A

K experimentu byla využita respirační aparatura (viz kapitola 2.2.1 Aparatura) sestavená speciálně pro tento účel. Skládá se ze směšovače plynů vedených z rozvodu (kyslík, vzduch a oxid dusný), dvou velkoobjemových těsnících vaků, neboli



Douglasových vaků, systému jednocestných ventilů, zvlhčovače vzduchu s odtahem, spirometru s náustkem a monitoru obsahu plynů ve směsi. V principu aparatura zajišťuje míchání dýchací směsi skládající se z 21 % kyslíku (stejný obsah jako ve vzduchu), 0, 5, 7, 10, 12, 15 či 20 % oxidu dusného a doplněné dusíkem (plyn běžně obsažený ve vzduchu). Tato směs naplní jeden z vaků, přičemž druhý je naplněn čistým vzduchem z rozvodu. Je možné volit mezi testovanou plynnou směsí a vzduchem a přiváděný plyn proband vdechuje pomocí spirometrického náustku. U inhalace musí mít proband zacpaný nos speciálním pěnovým kolíčkem, aby nedocházelo k nežádoucím příděchům.

Harmonogram experimentu začal vstupní fází, ve které byl dobrovolník seznámen s průběhem experimentu. Následně subjekt podepsat informovaný souhlas (viz příloha C), vyplnit kartu probanda (viz příloha D) týkající se jeho zdravotního stavu a podrobil se vyšetření plicních funkcí pomocí spirometru a nacvičil si připravené psychologické testy před měřeními.

Experimentální část proběhla obdobně jako v pilotním experimentu s drobnými změnami (viz kapitola 2.3.3 Výstupy pilotního experimentu). Fotografie z probíhajícího experimentu je možné si prohlédnout na obrázku 12.



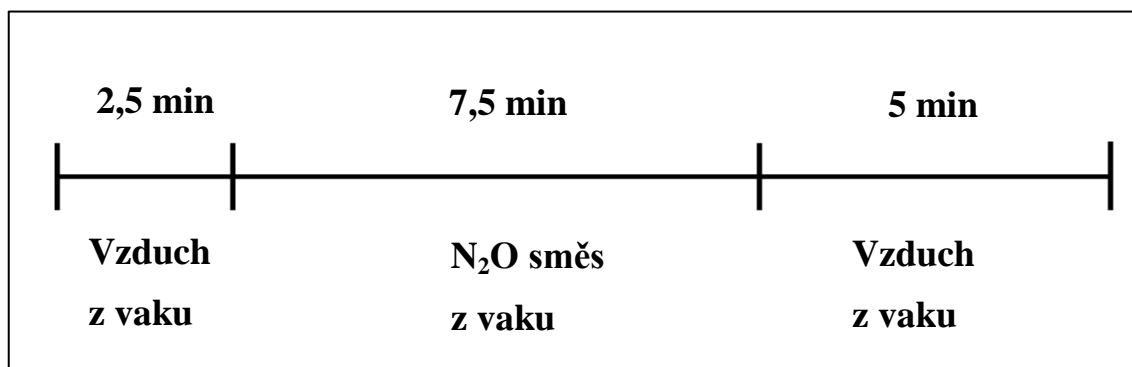
**Obrázek 12: Záznam z průběhu měření probanda pod dohledem lékaře.**

Během ventilační fáze proband vsedě inhaloval připravenou plynnou směs přes náustek. První 2,5 minuty dýchal čistý vzduch a řešil sérii výše uvedených psychologických testů. Následujících 7,5 minuty proband inhaloval směs s oxidem

dusným a byly provedeny dva testovací cykly po uplynutí 2 minut od začátku inhalace, aby došlo k ustálení koncentrace oxidu dusného ve výdechu a tedy i koncentrace v mozkové tkáni. V následujících 5 minutách proband opět dýchal čistý vzduch a provedl dva testovací cykly. Průběh experimentu je znázorněn schematicky na obrázku 13.

Během celého průběhu experimentu byl dobrovolník pod dohledem anestezioložky MUDr. Lenky Horákové a byla sledována činnost jeho dýchacího a oběhového systému měřením srdečního rytmu, obsahu kyslíku v krvi a koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu. Žádné z těchto měření není invazivní, nebyly odebírány žádné vzorky krve.

Účast probandů s alergií na oxid dusný, s těžkými formami astmatu a dalších respiračních onemocnění a v těhotenství nebyla povolena.



Obrázek 13: Schéma finálního experimentu.

## 2.5 Návrh odborného experimentu

Do budoucna je nutné provést další úpravy experimentu pro měření na větším počtu dobrovolníků. Mezi základní problémy patří délka jednotlivých fází, během kterých dochází k vyplňování testů. Někteří probandi stíhají testy vyplnit ve stanoveném čase 2,5 minuty, jiní potřebují času více. Proto navrhuji fáze prodloužit o 15 s. Toto zároveň usnadní následné porovnávání křivek, které budou díky přidanému času stejně dlouhé pro jednotlivé probandy, jelikož stihnou testy za daný čas vyplnit. V poslední fázi, kdy je inhalován vzduch, je nutné přidat třetí sérii testů, aby FeN<sub>2</sub>O probanda během posledního vyplňování bylo velmi blízké nule a bylo možné brát poslední sérii testů jako referenční. Díky prodloužení délky experimentu bude nutné vytvořit Douglasovy vaky o větším objemu, například 200 litrů.

Dále bude vhodné prodloužit samotnou inhalaci směsi s oxidem dusným ve druhé fázi z dvou minut na dvě a půl pro vyšší jistotu ustálení hladiny  $N_2O$  ve výdechu. Důležité je také kontrolovat koncentraci kyslíku ve směsi i ve vzduchu. Tato frakce by měla být shodná pro všechny fáze a měla by se držet na 21 % jako je tomu ve vzduchu v přírodě.

## 2.6 Statistické zpracování dat

Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí párového T-testu a upraveny Bonferroniho korekcí pro vícenásobná porovnání. Pro správně vyhodnocení fyziologických parametrů byl ze zpracování vyloučen počáteční úsek z každé zkoumané fáze.

Stanovena byla hladina významnosti  $p < 0,05$ , která byla korigována pomocí Bonferroniho korekcí pro opakovaná porovnání, aby byl omezen vliv náhody na stanovenou hladinu významnosti. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti.

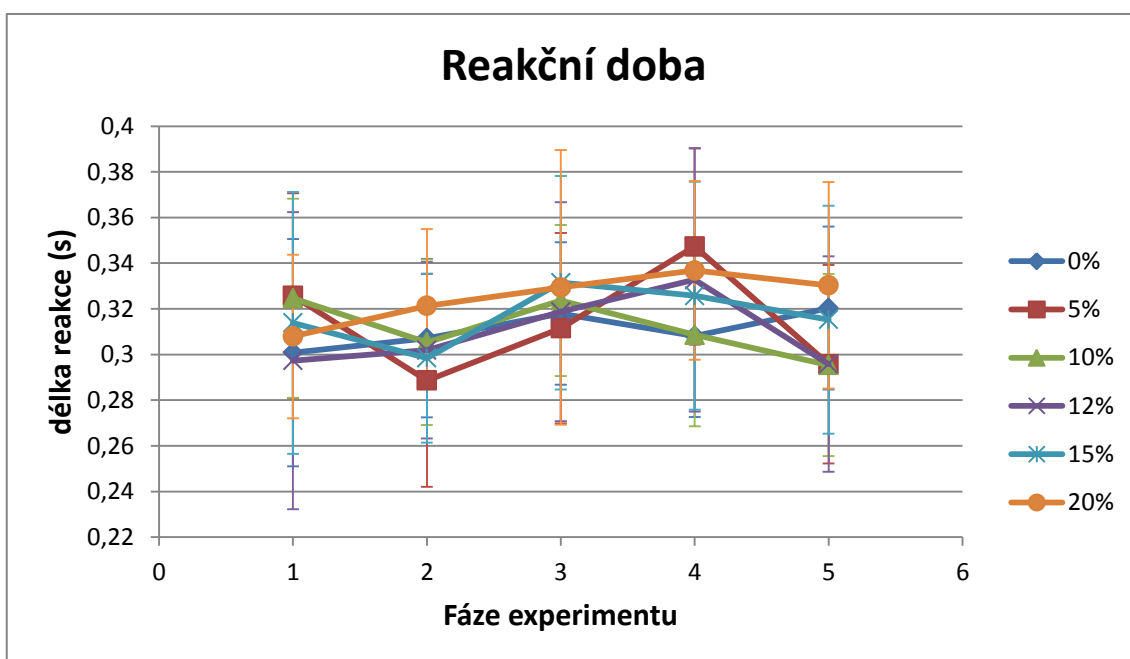
V případě kognitivních funkcí a subjektivního vnímání pocitů probandů bylo mezi sebou porovnáno všech pět měřených fází a výsledky byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Pro vitální funkce bylo měření rozděleno do tří fází (vzduch – směs s  $N_2O$  – vzduch) a výsledky testů mezi fázemi byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,017$ .

### 3 Výsledky

Výsledky prezentují rozdíl kognitivních funkcí, subjektivních pocitů probandů a fyziologických parametrů mezi jednotlivými fázemi měření a změnu pro veškeré zkoumané koncentrace oxidu dusného ve vdechované směsi.

#### 3.1 Kognitivní funkce

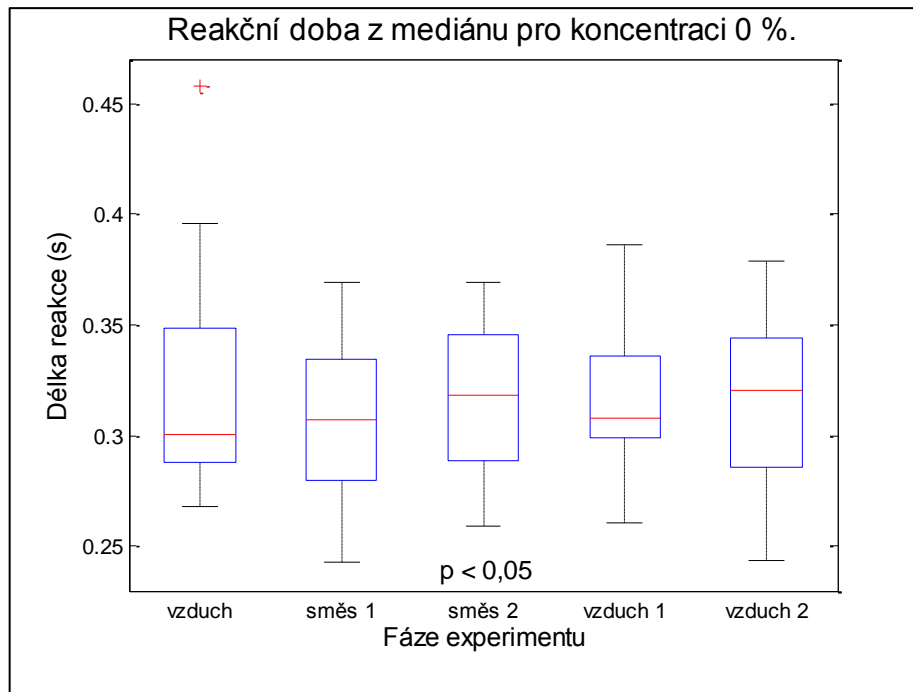
Délky reakce pro jednotlivé fáze a koncentrace jsou zobrazeny na obrázku 14. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ .



Obrázek 14: Vývoj fází reakční doby pro jednotlivé koncentrace.

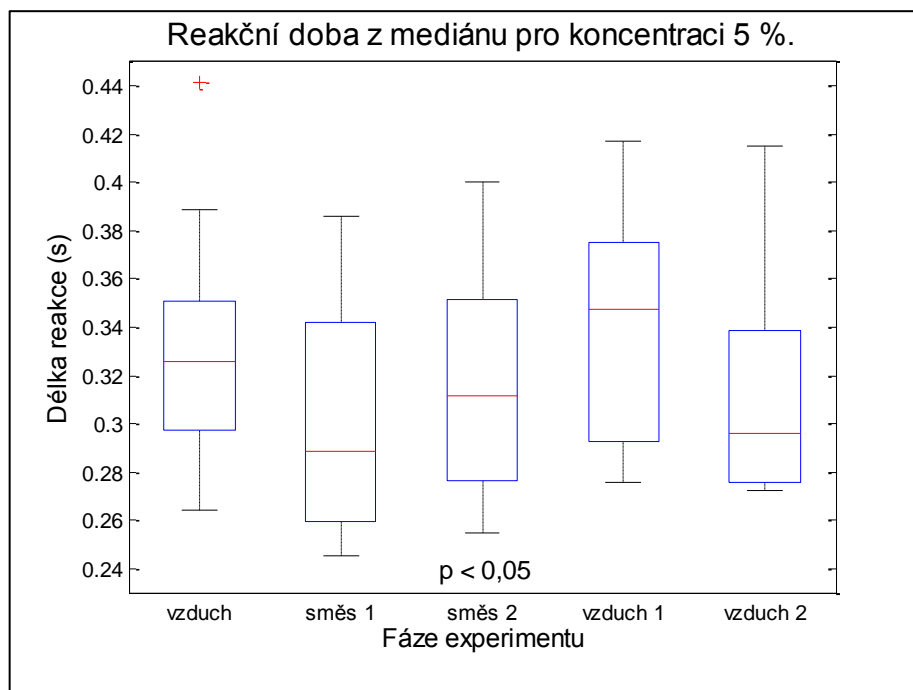
Statistická tabulka dosažených hladin významnosti reakční doby z celého měření je k nahlédnutí v příloze E.

Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů reakční doby pro jednotlivé fáze a koncentraci 0 % jsou zobrazeny na obrázku 15. Pro tuto koncentraci nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.



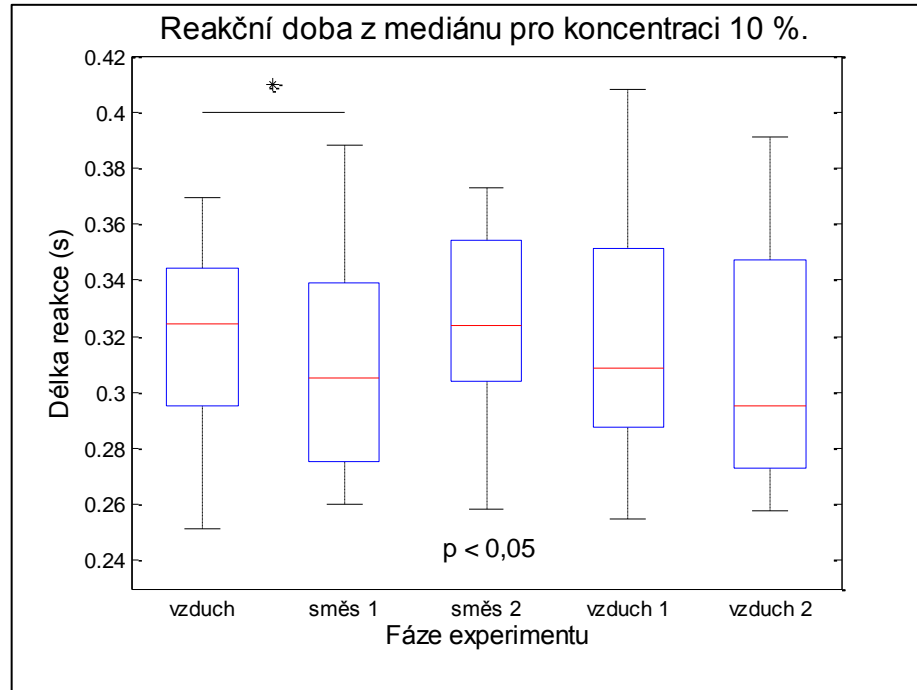
Obrázek 15: Krabicový graf reakční doby pro koncentraci 0 %.

Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů reakční doby pro jednotlivé fáze a koncentraci 5 % jsou zobrazeny na obrázku 16. Pro tuto koncentraci nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.



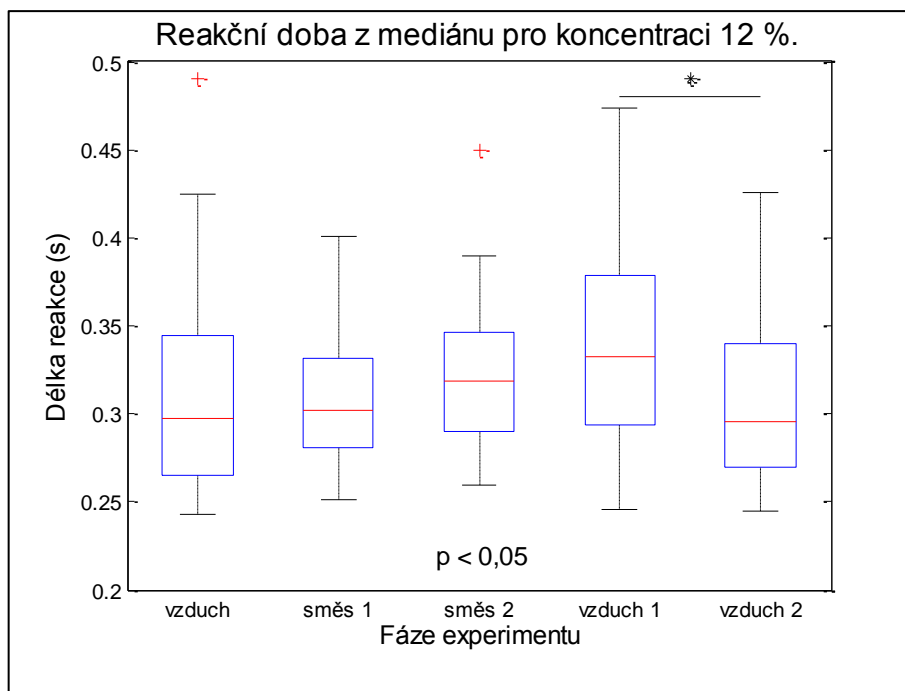
Obrázek 16: Krabicový graf reakční doby pro koncentraci 5 %.

Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů reakční doby pro jednotlivé fáze a koncentraci 10 % jsou zobrazeny na obrázku 17. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal pro krátkodobou inhalaci oxidu dusného (1. a 2. fáze).



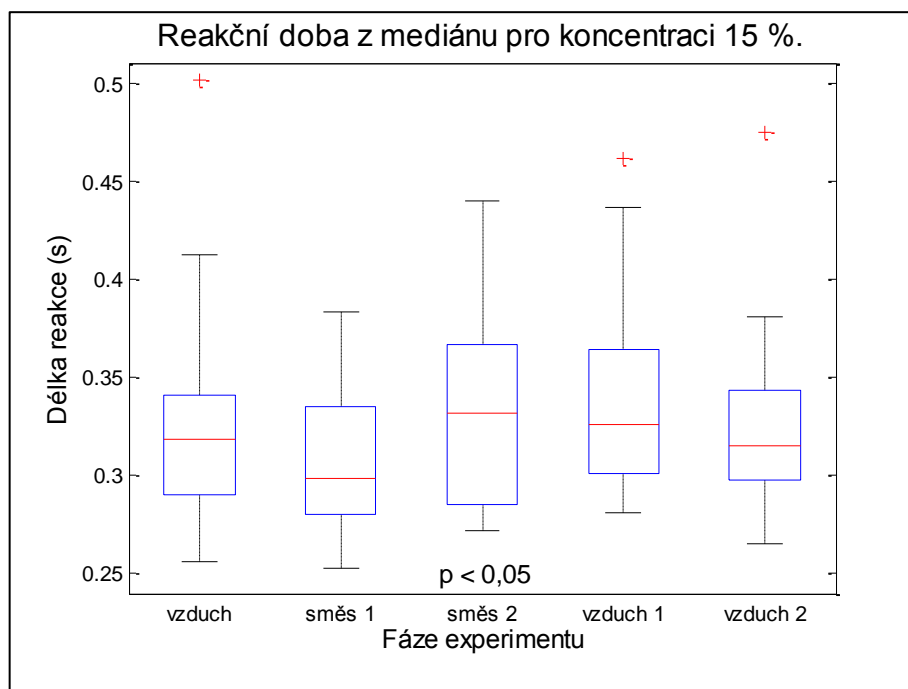
**Obrázek 17: Krabicový graf reakční doby pro koncentraci 10 %.**

Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů reakční doby pro jednotlivé fáze a koncentraci 12 % jsou zobrazeny na obrázku 18. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal mezi posledními fázemi během inhalace vzduchu (4. a 5. fáze).



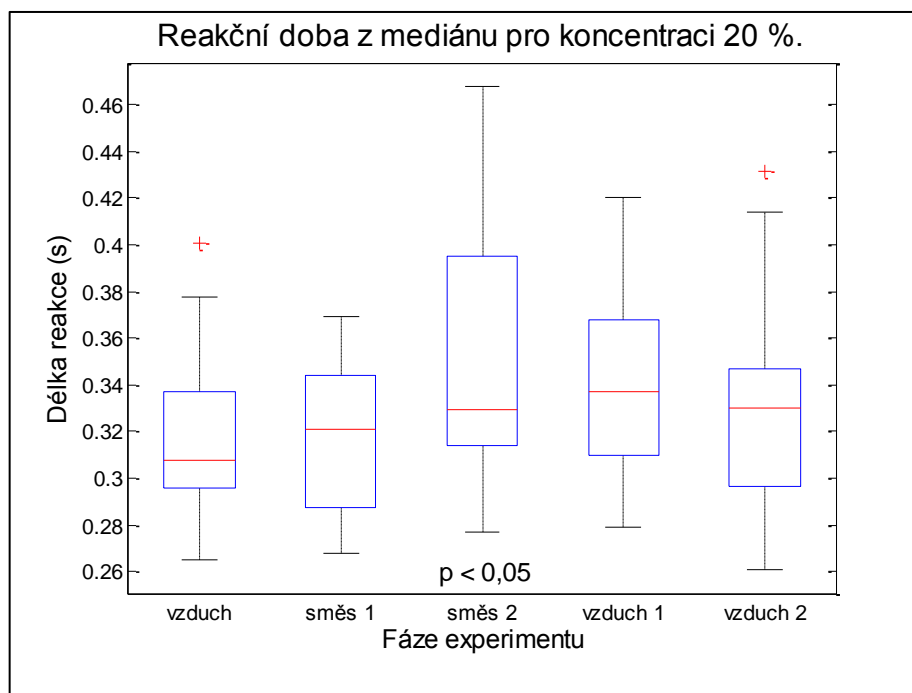
**Obrázek 18: Krabicový graf reakční doby pro koncentraci 12 %.**

Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů reakční doby pro jednotlivé fáze a koncentraci 15 % jsou zobrazeny na obrázku 19. Pro tuto koncentraci nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.



**Obrázek 19: Krabicový graf reakční doby pro koncentraci 15 %.**

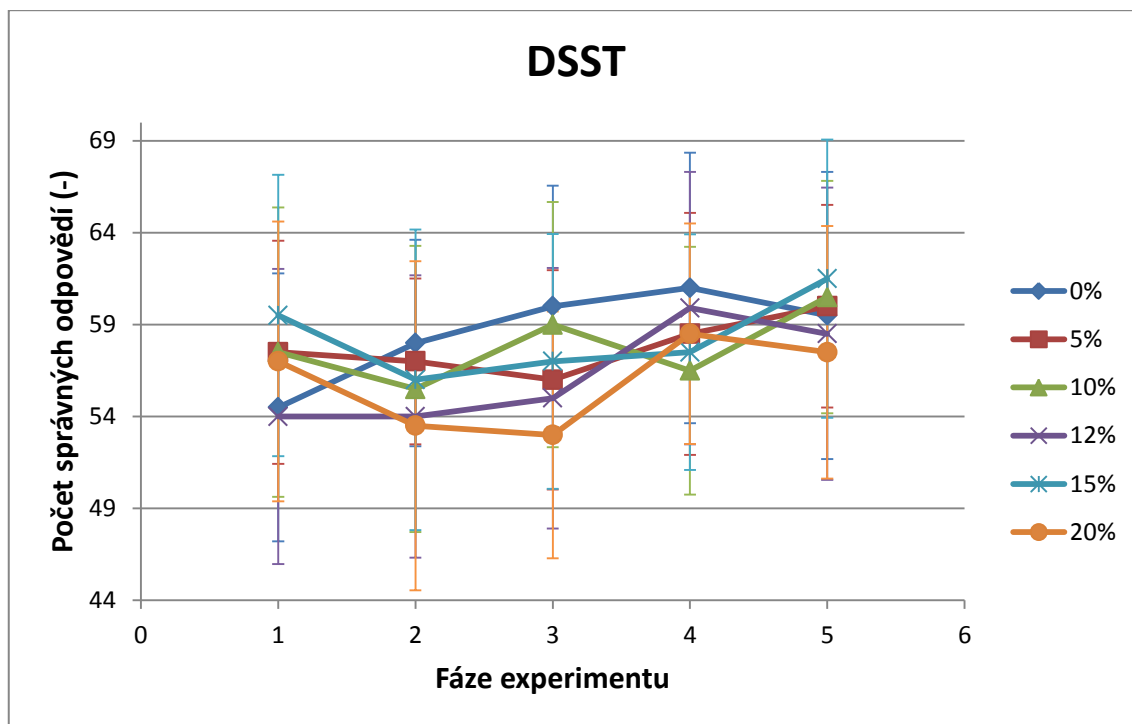
Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů reakční doby pro jednotlivé fáze a koncentraci 20 % jsou zobrazeny na obrázku 20. Pro tuto koncentraci nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.



Obrázek 20: Krabicový graf reakční doby pro koncentraci 20 %.



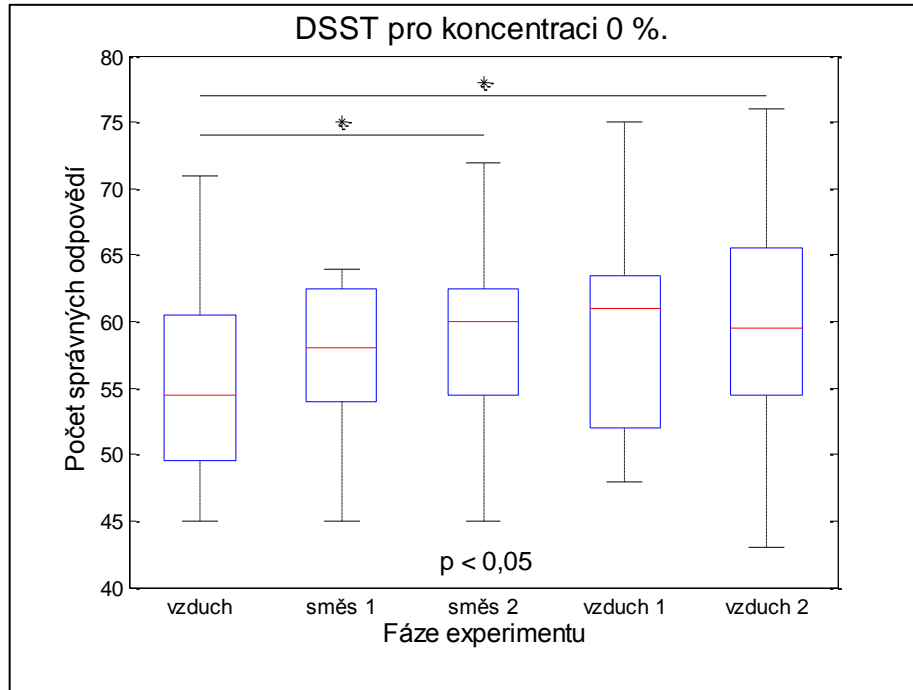
Počty správných odpovědí testu DSST pro jednotlivé fáze a koncentrace jsou zobrazeny na obrázku 21. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ .



Obrázek 21: Vývoj fází DSST pro jednotlivé koncentrace.

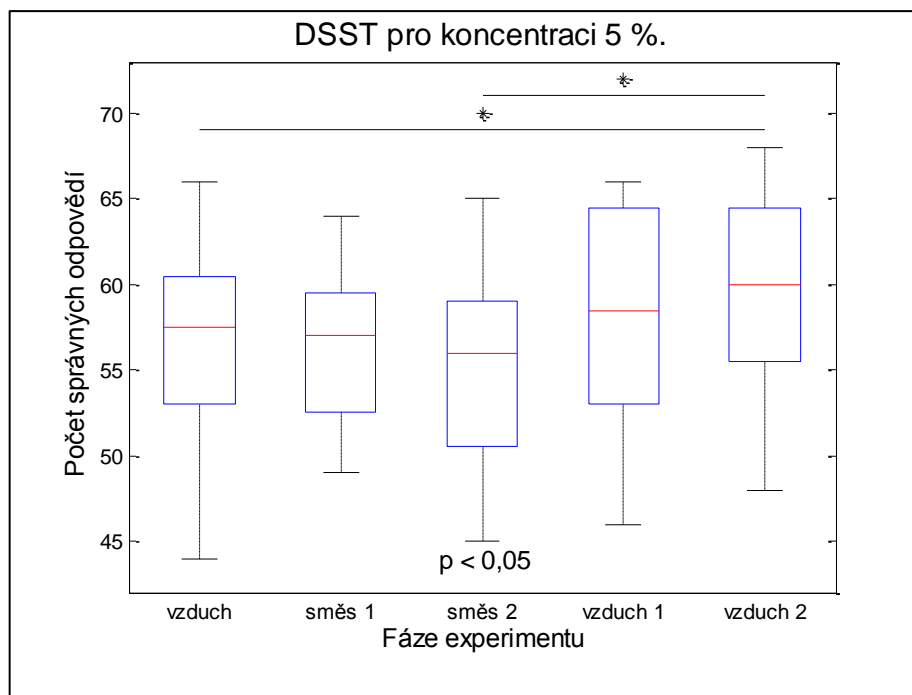
Statistická tabulka dosažených hladin významnosti správných odpovědí DSST z celého měření je k nahlédnutí v příloze E.

Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů DSST pro jednotlivé fáze a koncentraci 0 % jsou zobrazeny na obrázku 22. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal pro dlouhodobou inhalaci oxidu dusného (1. a 3. fáze) a mezi první a poslední fází.



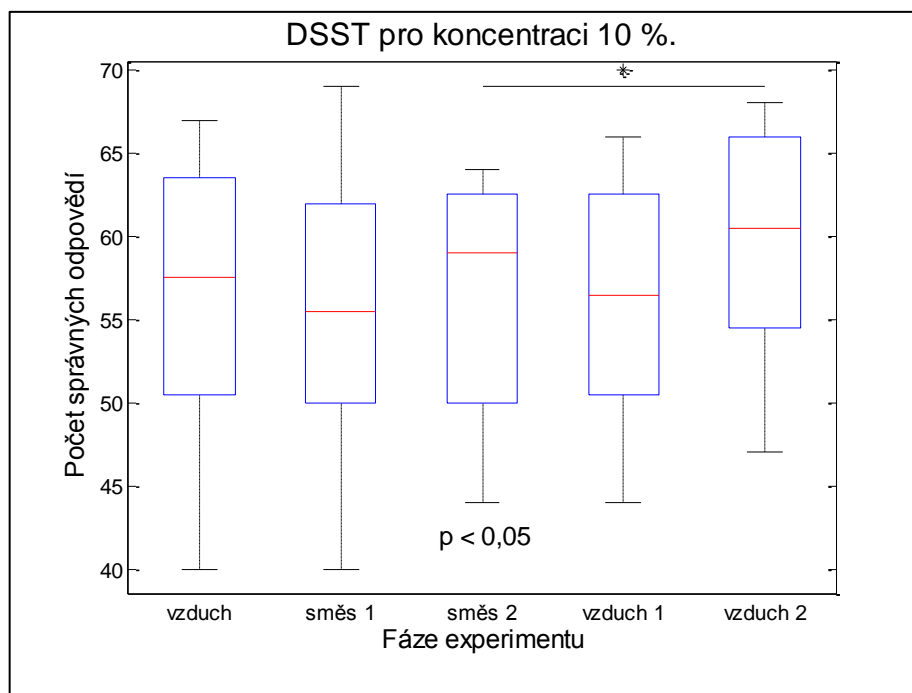
**Obrázek 22: Krabicový graf DSST pro koncentraci 0 %.**

Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů DSST pro jednotlivé fáze a koncentraci 5 % jsou zobrazeny na obrázku 23. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal mezi první a poslední fází a mezi dlouhodobou inhalací oxidu dusného a poslední inhalací vzduchu.



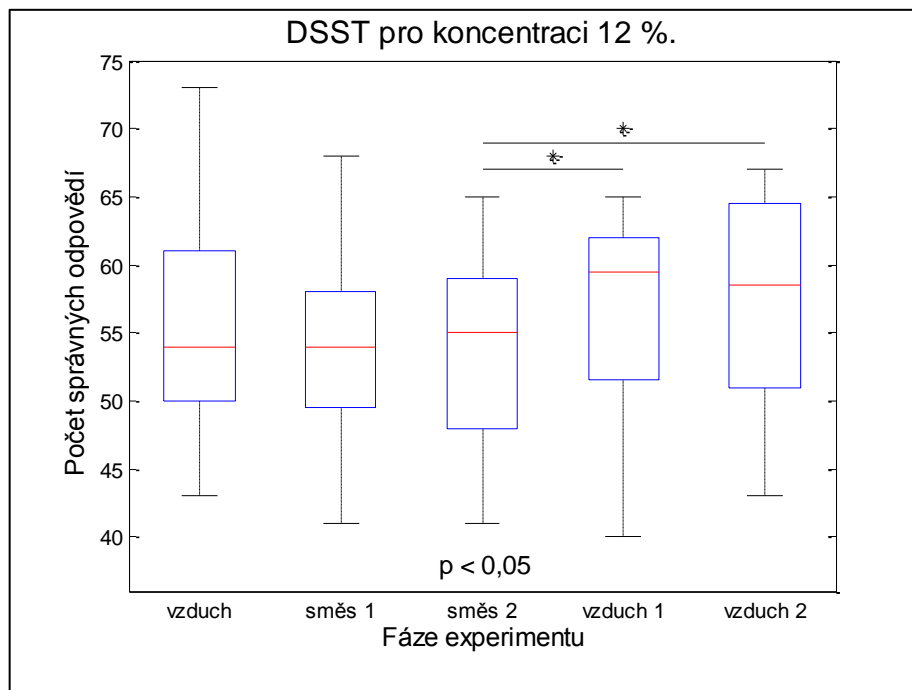
**Obrázek 23: Krabicový graf DSST pro koncentraci 5 %.**

Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů DSST pro jednotlivé fáze a koncentraci 10 % jsou zobrazeny na obrázku 24. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal mezi ukončením inhalace oxidu dusného a poslední sérií testů během inhalace vzduchu.



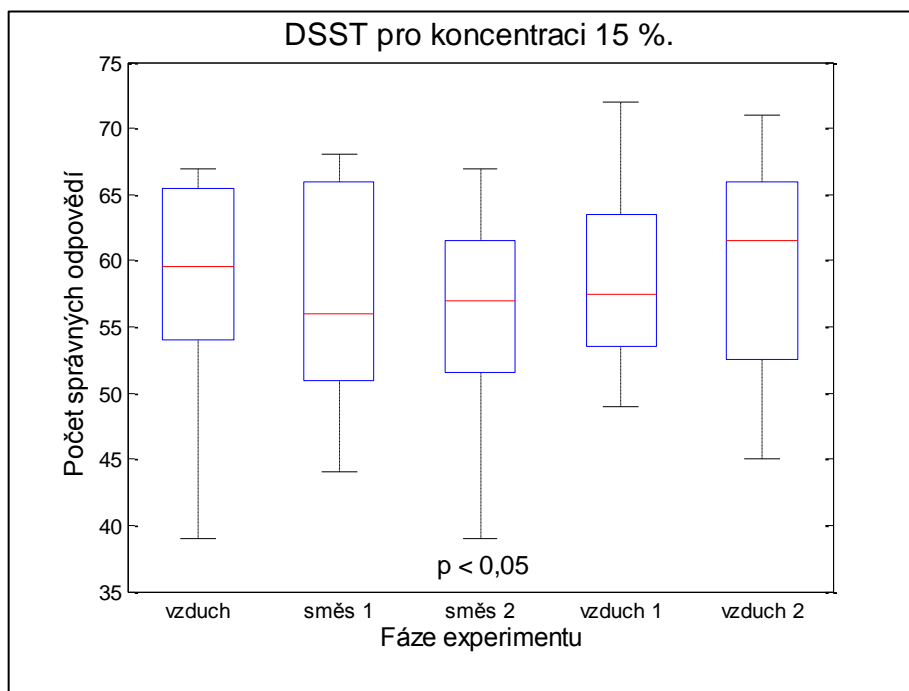
**Obrázek 24: Krabicový graf DSST pro koncentraci 10 %.**

Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů DSST pro jednotlivé fáze a koncentraci 12 % jsou zobrazeny na obrázku 25. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal po ukončení inhalace oxidu dusného (mezi 3. a 4. fází a 3. a 5. fází).



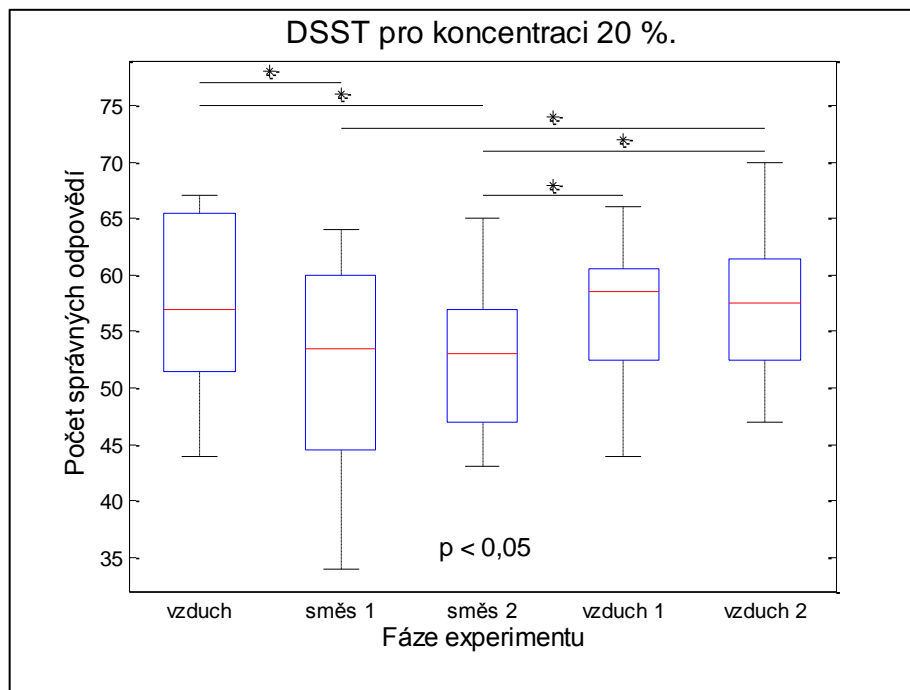
**Obrázek 25: Krabicový graf DSST pro koncentraci 12 %.**

Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů DSST pro jednotlivé fáze a koncentraci 15 % jsou zobrazeny na obrázku 26. Pro tuto koncentraci nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.



**Obrázek 26: Krabicový graf DSST pro koncentraci 15 %.**

Zobrazení statistické významnosti pomocí krabicových grafů DSST pro jednotlivé fáze a koncentraci 20 % jsou zobrazeny na obrázku 27. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal pro krátkodobou i dlouhodobou inhalaci oxidu dusného a také po ukončení inhalace  $N_2O$ .



**Obrázek 27: Krabicový graf DSST pro koncentraci 20 %.**

## 3.2 Pocity probandů

Zobrazení statistické významnosti pocitu točení hlavy mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 3. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal pro krátkodobou inhalaci pro 15 a 20 % N<sub>2</sub>O.

**Tabulka 3: Dosažená hladina významnosti: Bez točení hlavy – točení hlavy.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,2345	0,0683	0,0144	0,0060	0,0005	0,0028
1-3	0,3332	0,0938	0,0683	0,0276	0,0113	0,0073
1-4	0,1163	0,0561	0,0090	0,0145	0,0152	0,0959
1-5	0,0561	0,3863	0,1639	0,0555	0,0235	0,0934
2-3	0,6373	0,7505	0,1777	0,2281	0,4320	1,0000
2-4	0,4564	0,4973	0,0843	0,1439	0,2064	0,0461
2-5	0,8845	0,3005	0,0373	0,0375	0,0186	0,0497
3-4	0,2702	0,5940	0,3466	0,6692	0,4506	0,0294
3-5	0,4113	0,3037	0,1495	0,2369	0,0439	0,0379
4-5	0,7570	0,5805	0,4320	0,1639	0,0483	0,7560

Zobrazení statistické významnosti pocitu zaujetí mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 4. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal mezi počátkem a koncem měření pro 10 a 12 % N<sub>2</sub>O.

**Tabulka 4: Dosažená hladina významnosti: Zaujatý – znuděný.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,1862	0,8918	0,0197	0,8056	0,1108	0,1941
1-3	0,0938	0,2628	0,0410	0,1163	0,3228	0,2425
1-4	0,0468	0,3071	0,0267	0,5226	0,0295	0,7004
1-5	0,0197	0,4027	0,0037	0,0117	0,0099	0,5717
2-3	0,2611	0,3466	0,6839	0,1022	0,8683	1,0000
2-4	0,0719	0,1639	0,4739	0,4156	0,2506	0,2550
2-5	0,0605	0,4486	0,0906	0,0020	0,0644	0,4020
3-4	0,2997	0,7630	0,6373	0,1108	0,2192	0,2077
3-5	0,1881	1,0000	0,0769	0,1498	0,0947	0,3409
4-5	0,1728	0,8198	0,0271	0,0224	0,2760	0,8213

Zobrazení statistické významnosti pocitu opilosti mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 5. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal pro krátkodobou inhalaci (1. a 2. fáze) pro 15 a 20 % N<sub>2</sub>O a dlouhodobou inhalaci (1. a 3. fáze) u 15 %.

**Tabulka 5: Dosažená hladina významnosti: Střízlivý – opilý.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,3863	0,2192	0,0119	0,0488	0,0036	0,0038
1-3	0,1321	0,0757	0,0545	0,0235	0,0036	0,0130
1-4	0,2108	0,2702	0,0276	0,1038	0,0212	0,1023
1-5	0,2031	0,5805	0,0825	0,2702	0,0179	0,1171
2-3	0,2162	0,0825	0,1349	0,5489	0,5940	0,1319
2-4	0,7183	0,7183	0,0686	0,0952	0,1454	0,0131
2-5	0,4973	0,1911	0,0780	0,0738	0,0386	0,0096
3-4	0,0825	0,1038	0,4847	0,0346	0,2345	0,0448
3-5	0,3332	0,0685	0,4320	0,0390	0,1269	0,0646
4-5	0,5805	0,1862	0,6692	0,1359	0,3624	0,6761

Zobrazení statistické významnosti pocitu točení hlavy mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 6. Pro tento pocit nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.

**Tabulka 6: Dosažená hladina významnosti: Příjemný – nepříjemný.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,1881	0,8425	0,6692	0,8353	1,0000	0,5527
1-3	0,0561	0,6967	0,0483	0,3332	0,3005	0,5572
1-4	0,0952	0,5805	0,1728	0,2644	0,2039	1,0000
1-5	0,4506	0,0655	0,0544	0,0454	0,0601	0,8578
2-3	0,0962	0,8269	0,2064	0,4973	0,0483	0,7787
2-4	0,1881	0,5489	0,5302	0,3332	0,0561	0,4405
2-5	0,8172	0,1428	0,4676	0,2396	0,0519	0,3197
3-4	0,7737	0,2611	0,4320	0,5805	0,7183	0,2767
3-5	0,2997	0,0613	0,7183	0,2517	0,4320	0,0379
4-5	0,0962	0,0271	0,7505	0,4113	0,4230	0,6761

Zobrazení statistické významnosti pocitu napětí mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 7. Pro tento pocit nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.

**Tabulka 7: Dosažená hladina významnosti: Klidný – napjatý.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,1359	0,5302	0,6091	0,3828	0,1639	0,0194
1-3	0,1881	0,3883	0,1639	0,5104	0,1881	0,3076
1-4	0,0879	0,6326	0,4973	0,4411	0,1639	0,2375
1-5	0,0686	0,3523	0,3332	0,4405	0,0271	0,3197
2-3	0,7183	0,6692	0,4320	0,2345	1,0000	0,3782
2-4	0,3332	0,8172	1,0000	0,1911	1,0000	0,1113
2-5	0,5445	0,5805	0,7505	0,1881	0,6839	0,1522
3-4	0,4973	0,5805	0,4973	0,8172	1,0000	0,8100
3-5	0,8056	0,7505	0,6692	0,6692	0,7275	0,6761
4-5	0,7505	0,4230	0,7505	0,7737	0,6091	0,5884

Zobrazení statistické významnosti pocitu únavy mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 8. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal mezi počátkem měření a čtvrtou fází pro 10 % N<sub>2</sub>O.

**Tabulka 8: Dosažená hladina významnosti: Čilý – ospalý.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,0757	0,0962	0,0533	0,0252	0,0757	0,3280
1-3	0,0846	0,0271	0,0152	0,0121	0,1548	0,1627
1-4	0,1667	0,3189	0,0028	0,0294	0,4676	0,8963
1-5	0,0757	0,7183	0,0174	0,0165	0,3700	0,4825
2-3	0,4847	0,3828	0,5805	0,0519	1,0000	0,3966
2-4	0,7505	0,8489	0,8545	0,4156	0,1108	0,1364
2-5	1,0000	0,5940	1,0000	0,4288	0,3123	0,5423
3-4	0,2162	0,5805	0,5302	0,1639	0,1108	0,0379
3-5	0,5090	0,2517	0,6967	0,2875	0,3700	0,1364
4-5	0,7915	0,3883	0,7505	1,0000	0,1364	0,2212



Zobrazení statistické významnosti pocitu bolesti hlavy mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 9. Pro tento pocit nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.

**Tabulka 9: Dosažená hladina významnosti: Bez bolesti hlavy – bolest hlavy.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
<b>1-2</b>	0,3332	0,3332	0,3332	0,3332	0,3332	0,1981
<b>1-3</b>	0,3332	0,3332	0,3332	1,0000	0,5805	1,0000
<b>1-4</b>	0,3332	0,3332	0,1881	0,3332	0,3332	1,0000
<b>1-5</b>	0,3332	1,0000	0,1639	1,0000	0,3332	1,0000
<b>2-3</b>	0,3332	1,0000	0,3332	0,3332	0,1639	0,1981
<b>2-4</b>	1,0000	0,3332	0,1639	1,0000	1,0000	0,1981
<b>2-5</b>	0,6692	0,3332	0,1881	0,3332	1,0000	0,1981
<b>3-4</b>	0,3332	0,3332	0,3332	0,3332	0,1639	1,0000
<b>3-5</b>	1,0000	0,3332	0,3332	1,0000	0,1639	1,0000
<b>4-5</b>	0,6692	0,3332	0,3332	0,3332	1,0000	1,0000

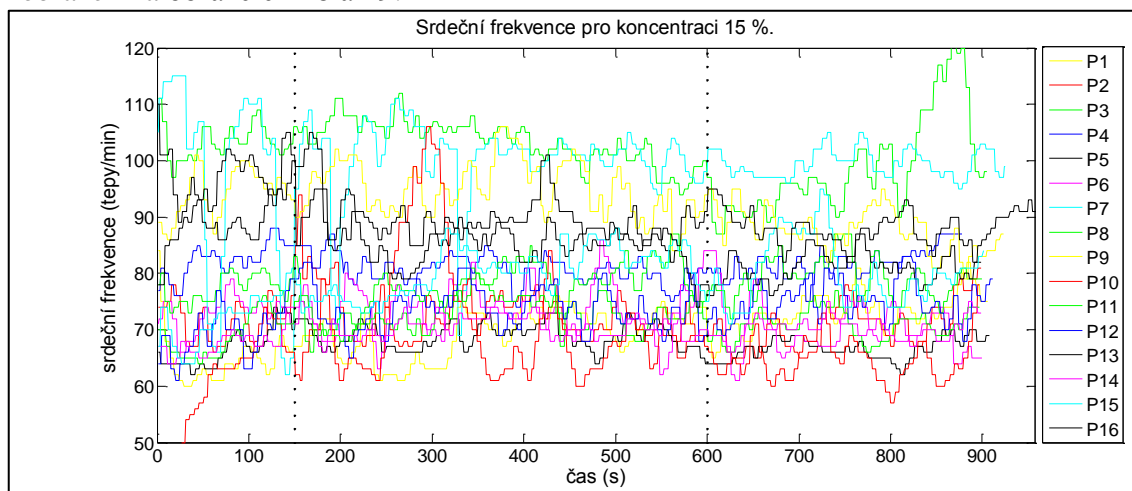
### 3.3 Fyziologické parametry

Zobrazení statistické významnosti změny srdeční frekvence mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 10. Pro tuto vitální funkci nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.

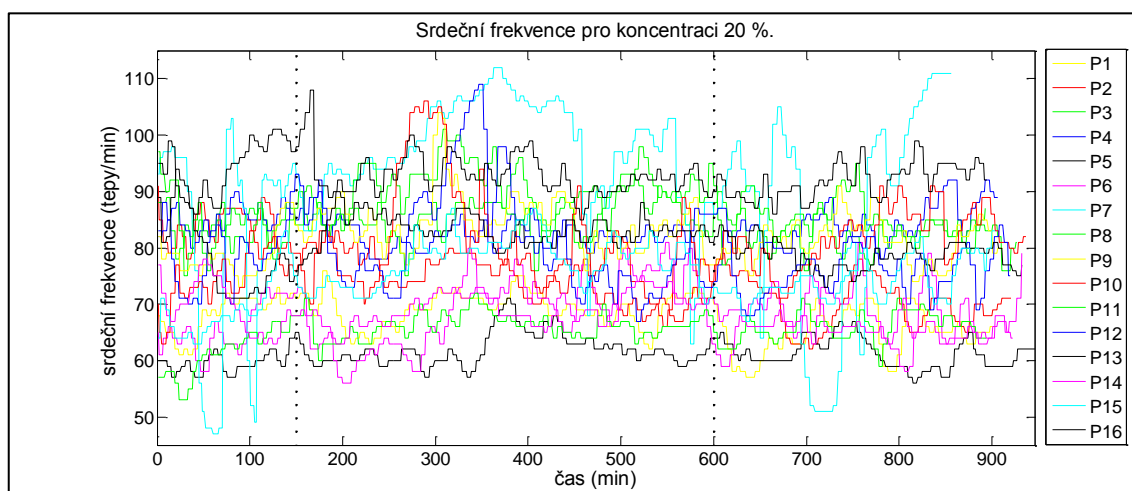
**Tabulka 10: Dosažená hladina významnosti: Tepová frekvence.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,1899	0,9165	0,1097	0,5394	0,5555	0,2276
1-3	0,3061	0,3326	0,6985	0,6953	0,6823	0,8906
2-3	0,9765	0,2040	0,6769	0,4779	0,5116	0,0873

Průběh srdeční frekvence během celého měření pro koncentrace 15 a 20 % je zobrazen na obrázcích 28 a 29.



**Obrázek 28: Srdeční frekvence pro koncentraci 15 %.**



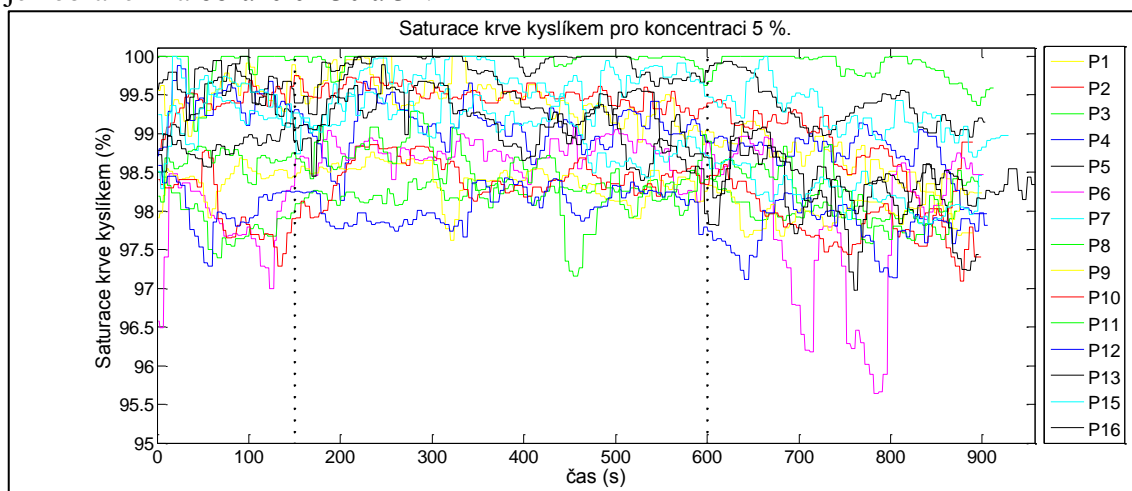
**Obrázek 29: Srdeční frekvence pro koncentraci 20 %.**

Zobrazení statistické významnosti změny saturace krve kyslíkem mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 11. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,017$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ .

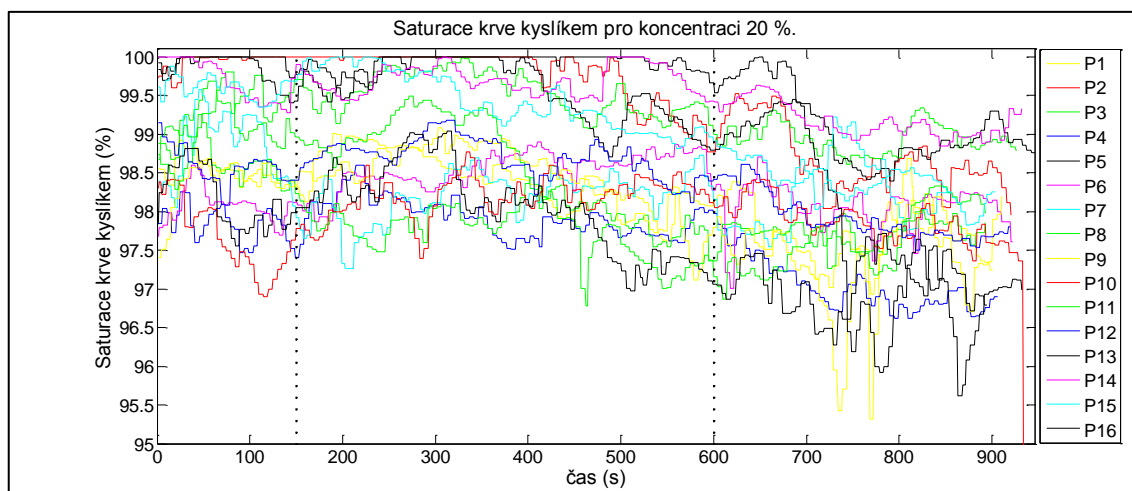
**Tabulka 11: Dosažená hladina významnosti: Saturace krve kyslíkem.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,1469	0,2951	0,0081	0,3357	0,2990	0,4436
1-3	0,7378	0,0026	0,0056	0,0299	0,0125	0,0003
2-3	0,2864	0,0000	0,1411	0,0110	0,0311	0,0010

Průběh saturace krve kyslíkem během celého měření pro koncentrace 5 a 20 % je zobrazen na obrázcích 30 a 31.



**Obrázek 30: Saturace krve kyslíkem pro koncentraci 5 %.**



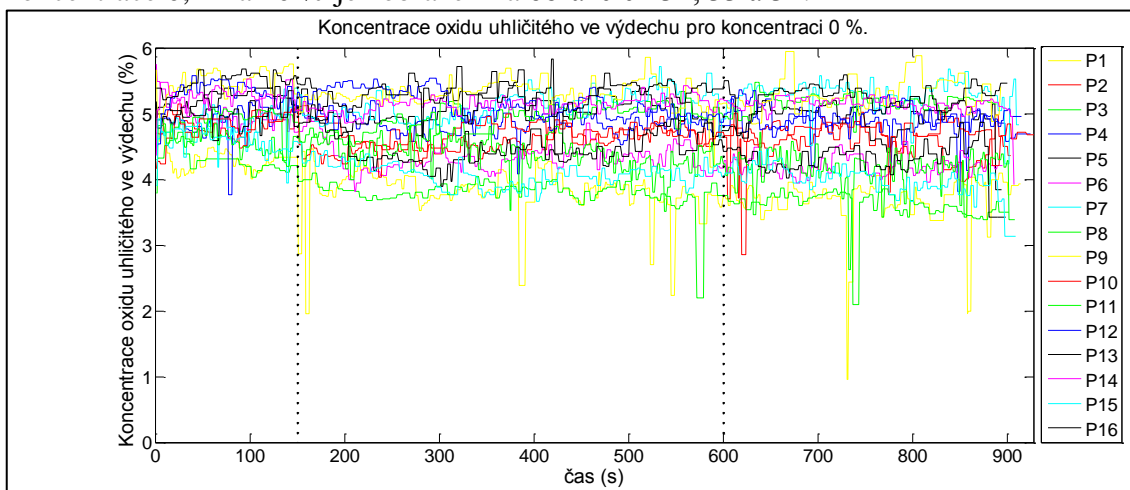
**Obrázek 31: Saturace krve kyslíkem pro koncentraci 20 %.**

Zobrazení statistické významnosti změny koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 12. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,017$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal mezi 1. fází (vzduch) a 2. fází ( $N_2O$ ) pro 15 a 20 %  $N_2O$ .

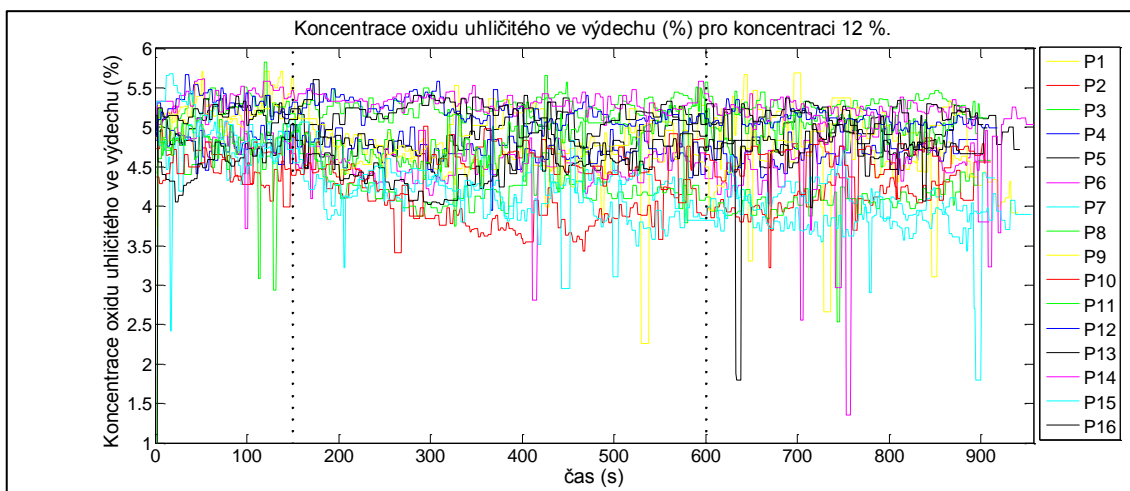
**Tabulka 12: Dosažená hladina významnosti: Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,0081	0,0005	0,0418	0,0000	0,0454	0,0281
1-3	0,0369	0,0236	0,3023	0,9931	0,5112	0,0240
2-3	0,5896	0,3821	0,7967	0,8678	0,8389	0,8645

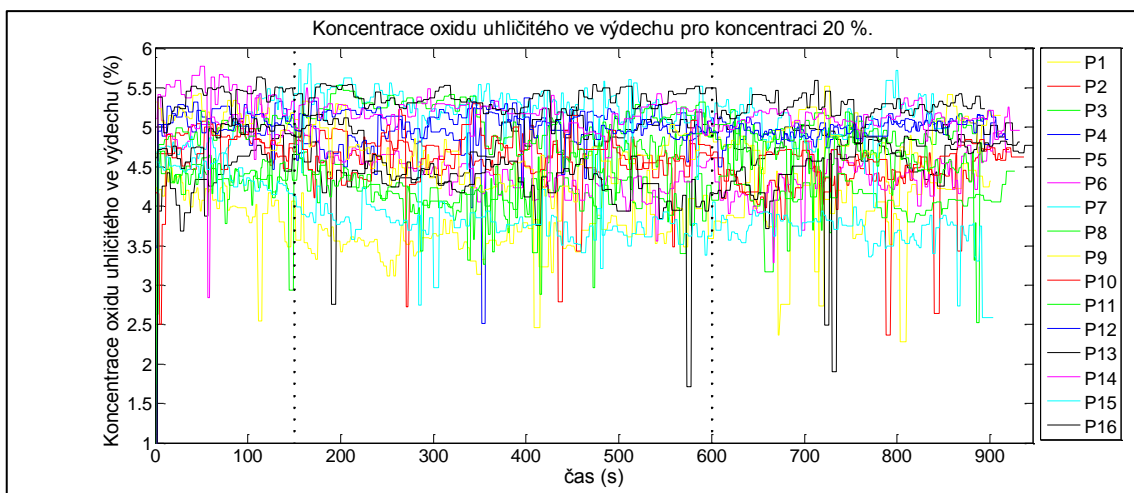
Průběh koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu během celého měření pro koncentrace 0, 12 a 20 % je zobrazen na obrázcích 32, 33 a 34.



**Obrázek 32: Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu pro koncentraci 0 %.**



**Obrázek 33: Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu pro koncentraci 12 %.**



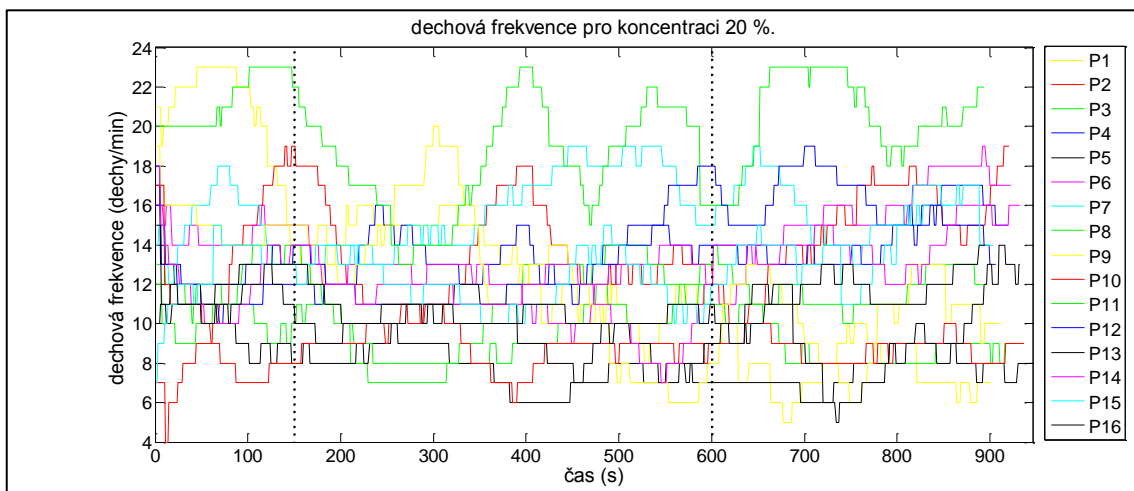
**Obrázek 34: Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu pro koncentraci 20 %.**

Zobrazení statistické významnosti změny dechové frekvence mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 13. Dosažené hladiny významnosti byly porovnány s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,017$ . Stanovená hladina významnosti je  $p < 0,05$ . Statisticky významný rozdíl nastal pro krátkodobou inhalaci pro 15 a 20 %  $N_2O$ .

**Tabulka 13: Dosažená hladina významnosti: Dechová frekvence.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,5613	0,2780	0,1815	0,0271	0,0032	0,0163
1-3	0,5208	0,9327	0,6107	0,3370	0,3366	0,3297
2-3	0,6811	0,7543	0,2204	1,0000	0,6128	0,4351

Průběh dechové frekvence během celého měření pro koncentraci 20 % je zobrazen na obrázku 35.



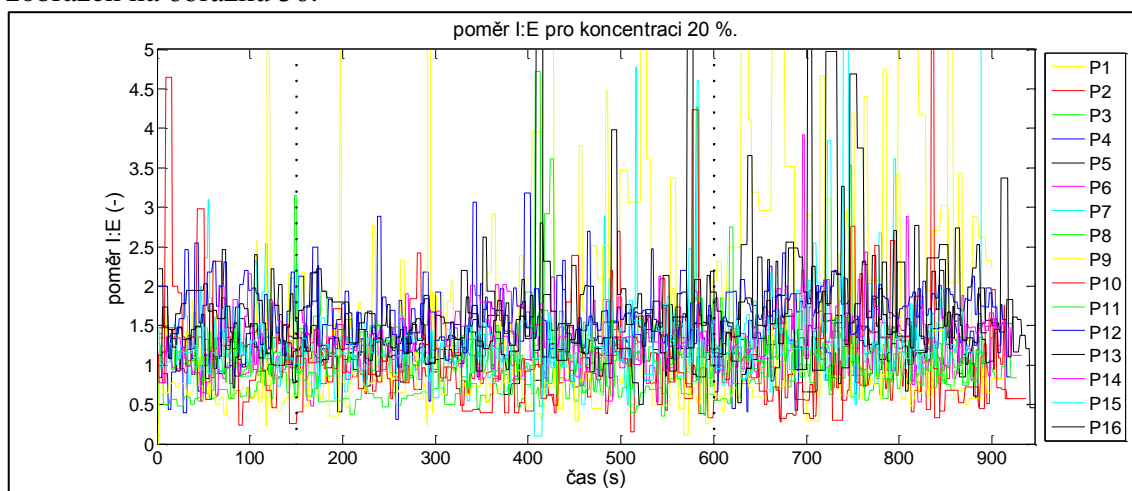
**Obrázek 35: Dechová frekvence pro koncentraci 20 %.**

Zobrazení statistické významnosti změny poměru inspira ku expiriu mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 14. Pro tuto vitální funkci nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.

**Tabulka 14: Dosažená hladina významnosti: Poměr inspira ku expiriu.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,2762	0,5037	0,1638	0,1237	0,0691	0,5009
1-3	0,2152	0,2472	0,3236	0,1271	0,2172	0,0959
2-3	0,7305	0,9140	0,7759	0,3964	0,9492	0,0636

Průběh inspira ku expiriu během celého měření pro koncentraci 20 % je zobrazen na obrázku 36.



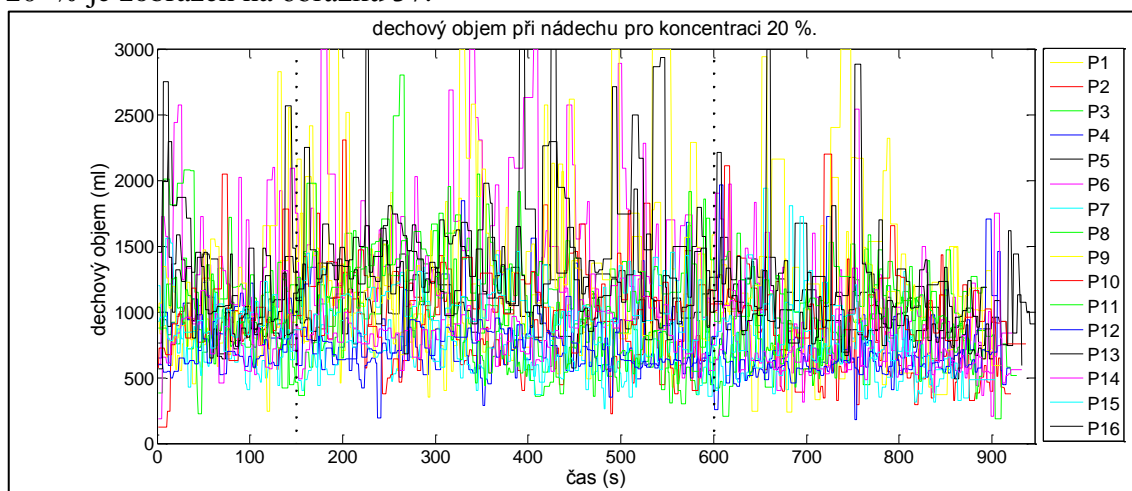
**Obrázek 36: Poměr I:E pro koncentraci 20 %.**

Zobrazení statistické významnosti změny dechového objemu při nádechu mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 15. Pro tuto vitální funkci nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.

**Tabulka 15: Dosažená hladina významnosti: Dechový objem při nádechu.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,2261	0,3839	0,1387	0,7391	0,5371	0,1399
1-3	0,8983	0,0350	0,0231	0,2686	0,0414	0,1399
2-3	0,5063	0,0204	0,1645	0,3909	0,0475	0,0636

Průběh dechového objemu při nádechu během celého měření pro koncentraci 20 % je zobrazen na obrázku 37.



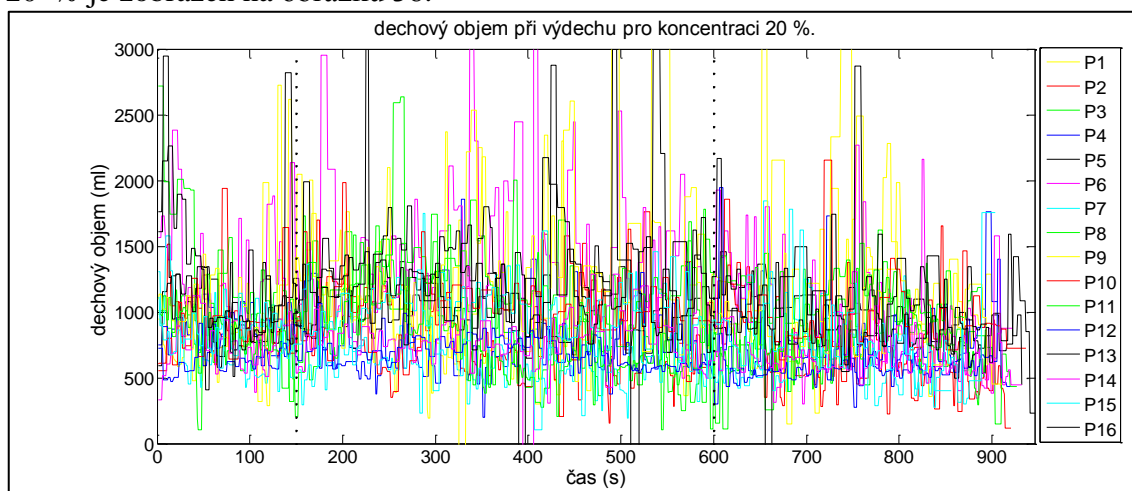
**Obrázek 37: Dechový objem při nádechu pro koncentraci 20 %.**

Zobrazení statistické významnosti změny dechového objemu při výdechu mezi jednotlivými fázemi pro měřené koncentrace jsou zobrazeny v tabulce 16. Pro tuto vitální funkci nebyla pozorována statisticky významná změna mezi jednotlivými fázemi.

**Tabulka 16: Dosažená hladina významnosti: Dechový objem při výdechu.**

Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,1611	0,6100	0,3369	0,3684	0,4754	0,3086
1-3	0,9534	0,0789	0,0556	0,1167	0,0582	0,3086
2-3	0,3449	0,0355	0,2330	0,3877	0,0492	0,1105

Průběh dechového objemu při výdechu během celého měření pro koncentraci 20 % je zobrazen na obrázku 38.



**Obrázek 38: Dechový objem při výdechu pro koncentraci 20 %.**

Grafy průběhů jednotlivých fyziologických parametrů z celého měření pro všechny měřené koncentrace jsou k nahlédnutí v příloze F.

## 4 Diskuse

Mezi hlavní zjištění studie patří vliv oxidu dusného na pozornost, který se projevil teprve u 20 %  $N_2O$  a na reakční dobu, u které bylo zaznamenáno zkrácení pro středně vysoké koncentrace. Z fyziologických parametrů se vliv projevil u saturace krve kyslíkem u všech měřených koncentrací a také u koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu, který byl nejvýraznější pro nižší koncentrace včetně kontrolní nuly. U koncentrací 15 a 20 % došlo ke snížení dechové frekvence. Tyto koncentrace způsobily i znatelný pocit točení hlavy a opilosti.

Pro měření kognitivních funkcí byl zvolen test DSST, který jsem vybrala pro možnost porovnání s jinými studii a také z důvodu, že jde o standartní test používaný pro testování farmakodynamiky. Pomocí DSST se zkoumá účinek substance na organismus. Reakční doba byla vybrána též pro následnou možnost srovnání s výsledky jiných studií a také proto, že jde o časově nenáročné testování, které nám dá informaci, zda proband reaguje stejně rychle na okolní podněty během experimentů, nezávisle na přítomnosti oxidu dusného ve vdechované směsi. Po vyhodnocení dat z pilotního experimentu byl skutečný experiment upraven. Maximální zvolená koncentrace oxidu dusného byla změněna z 15 % na 20 %, jelikož bylo nutné odhalit nejnižší koncentraci, při které již dojde ke statisticky signifikantnímu ovlivnění daných funkcí a parametrů a výsledky pilotního měření pro 15 % takto významné ovlivnění u mnoha parametrů neodhalily. Samotné fáze experimentu a aparatura byly také upraveny, čemuž se blíže věnuji v kapitole 2.3.3 Výstupy pilotního experimentu. Z měření byla vyřazena koncentrace 7 % z důvodu časové a organizační náročnosti experimentu. Tato koncentrace byla též vyřazena z důvodu, že podle zkoumaných studií by měla prahová koncentrace, která již ovlivňuje organismus, ležet mezi 10 a 15 % oxidu dusného ve směsi. U probanda vedeného pod ID P4 docházelo místy ke kolísání  $FiN_2O$ , ale hodnota  $FeN_2O$  zůstala stabilní bez ovlivnění. Proband byl tedy zahrnut do vyhodnocení.

Po provedení experimentu byla data statisticky vyhodnocena. Vzhledem k tomu, že test reakční doby byl první v celé sérii, občas u prvního měření došlo ke zpoždění reakce díky nepřipravenosti probanda. Z tohoto důvodu byla první reakční doba z deseti vyloučena z následného vyhodnocování. Reakční doba je ovlivněna odlišně



pro krátkodobou (měření po dvou minutách inhalace) a dlouhodobou inhalaci (měření po 4,5 minutách inhalace). Během krátkodobé inhalace  $N_2O$  dochází k pozitivnímu efektu, tedy ke zkrácení reakční doby. Tento efekt je přítomen pro nižší koncentrace, konkrétně do 15 %. Pro koncentraci 12 % nebylo pozorováno zlepšení reakční doby, čemuž mohl přispět fakt, že pro tuto hladinu byla hodnota kyslíku ve směsi nižší než v ostatních případech a pohybovala se mezi 20,5 – 20,7 %, což mohlo negativně ovlivnit výsledek reakční doby a zabránit tak odhalení jejího možného zkrácení. Rozdíl v koncentraci je ale malý a otázka vlivu tohoto faktoru není jasná. Pro koncentraci 20 % je již reakční doba prodloužena i během krátkodobé inhalace. Při dlouhodobé inhalaci dochází k prodloužení reakční doby nezávisle na koncentraci oxidu dusného ve směsi. Během statistického vyhodnocení byl zjištěn signifikantní pokles délky reakce pro koncentraci 10 % během krátkodobé inhalace pomocí párového t-testu s Bonferroniho korekcí pro opakovaná porovnání s porovnáním s  $p < 0,005$ . U 12% směsi nastal signifikantní pokles mezi posledními fázemi, kdy se oxid dusný vymýval z těla. Z tohoto zjištění lze usoudit, že krátkodobá inhalace nízké koncentrace oxidu dusného mírně podporuje reakční schopnost člověka. Ve člancích [17,18] došlo k odhalení náznaku zlepšení reakční doby pro 5 %  $N_2O$ . Tento vliv je pozorován také u etanolu, kdy ve studiích [17,19,20,21,22,23,24] poukazují na mírné zlepšení u nízkých koncentracích alkoholu. Tato změna u reakční doby lze vysvětlit tím, že proband se při měření soustředí pouze na jednoduchý úkon, nemusí zapojovat myšlení a pro takto jednoduchý úkol může nízká koncentrace  $N_2O$  působit mírně stimulačně. Ze statistického hlediska nastal významný vliv u koncentrace 10 % a opačným způsobem až u 20 %. Při porovnání s ostatními experimenty byl statisticky signifikantní negativní vliv zaznamenán u 15 % oxidu dusného [16] pro inhalaci dlouhou 55 minut, mezi 8 – 12 % [10], pro inhalaci po dobu 1,5 hodiny, mezi 10 a 20 % po 30 minutách [15] a 20 % [11] po hodinové inhalaci. Mezi výsledky zmíněných studií je velký rozdíl v prahové koncentraci, kterou je stále nutno blíže odhalit.

V případě testu DSST zaměřeném na pozornost a jednoduché přemýšlení byly výsledky odlišné. Pro kontrolní koncentraci dochází k průběžnému zlepšení během jednotlivých fází díky křivce učení, která byla přítomna i přes zkušební testy provedené před měřením. Pro nízké koncentrace oxidu dusného v inhalované směsi (5, 10 a 12 %) nedochází k významnému zhoršení ve výsledcích testu pro krátkodobou ani dlouhodobou inhalaci. Pro koncentraci 15 % dochází k výraznějšímu poklesu

správných hodnot v průběhu krátkodobé inhalace, avšak stále bez statistické významnosti. Naopak pro vyšší koncentraci 20 % nastává statisticky signifikantní pokles správných odpovědí v testu pro krátkodobou i dlouhodobou inhalaci. Po ukončení dýchání směsi s oxidem dusným se počet správných výsledků signifikantně zvýšil u koncentrací 5, 10, 12 a 20 %, pro 15 % bylo zlepšení znatelné, ale ne statisticky významné. Závěry odborných článků poukazují na významný vliv na výsledky DSST již u 10 % po inhalaci směsi po dobu jedné hodiny [11], u 15 % po 55minutové inhalaci [16] u 30 % během 15minutového měření, které bylo porovnáváno pouze s koncentrací 5 %, kde vliv nenastal [25]. V porovnání s mým experimentem probíhala měření v těchto odborných studiích výrazně delší dobu či pro výrazně vyšší koncentrace. Podmínky tedy neodpovídají našim potřebám do praxe. Pro statistické vyhodnocení byl opět použit párový t-test s Bonferroniho korekcí a porovnána s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ . Tento výsledek lze vysvětlit tím, že pro správné přiřazení symbolu a čísla je zapotřebí vyšší pozornost a zamyšlení se nad danou situací. Jde tedy o složitější úkon než při měření reakční doby a proto je výsledek inhalací ovlivněn negativně, právě díky zpomalení přemýšlení a usuzování.

Pomocí VAS škály byly sledovány pocity probanda. Po statistickém vyhodnocení získaných výsledků bylo zjištěno, že od 15 %  $N_2O$  ve vdechované směsi pociťovali probandi točení hlavy. Tento pocit pomalu narůstal se zvyšující se koncentrací a postupně klesal po ukončení inhalace. Ze zdravotních důvodů byla zjišťována i přítomnost bolesti hlavy, která se ovšem neprojevila u žádné zvolené koncentrace. Ospalost se objevila a narůstala během jednotlivých fází u veškerých koncentrací včetně kontrolní, toto mohlo být způsobeno především délkou experimentu a její vývoj nebyl shledán statisticky signifikantním. Vliv oxidu dusného byl znatelný u koncentrací 15 a 20 %, kdy po ukončení inhalace došlo k mírnému návratu k čilému stavu, ovšem ani tento rozdíl nebyl statisticky významný. Stejně jako ospalost postupně narůstal i výskyt nepříjemných pocitů s pozorovatelným, ale statisticky nevýznamným, rozdílem mezi první a poslední fází, díky dlouhodobému dýchání přes aparaturu se spirometrickým količkem na nose. Spolu s tím souvisí též postupně klesající zaujetí. Signifikantní snížení zaujetí během experimentu bylo odhaleno u středních koncentrací 10 a 12 %. Pokles zaujetí se děl i u ostatních koncentrací vzhledem k délce experimentu, ovšem výsledek nepřesáhl hranici významnosti. Inhalace způsobila statisticky významný pocit opilosti při 15 a 20 %  $N_2O$ . Po ukončení inhalace tento pocit

rychle klesal. Probandi se během měření cítili klidní bez známky napětí. Tyto získané informace byly porovnány s odbornou studií [16], kde pozorovali vliv oxidu dusného u pocitů jako závrať již u 7 %, ospalost, letargii, nepříjemný pocit, opilost a otupělost u 15 %. Tyto pocity byly zaznamenány po 55minutové inhalaci směsi s N<sub>2</sub>O, bylo tedy více času na zdůraznění projevu vlivu na člověka. Data byla statisticky zpracována pomocí párového t-testu s Bonferroniho korekcí a porovnána s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,005$ .

Dalším úkolem bylo vyhodnotit vitální funkce měřených osob. Statistické vyhodnocení fyziologických parametrů mezi jednotlivými fázemi proběhlo pomocí párového T-testu. Porovnáno bylo s korigovanou hladinou významnosti  $p < 0,017$ . Měření bylo rozděleno do tří fází – 1. fáze: inhalace vzduchu, 2. fáze: inhalace směsi oxidu dusného (sloučení fází 2 a 3), 3. fáze: inhalace vzduchu (sloučení fází 4 a 5). Z vyhodnocovaných křivek byly vyřazeny hodnoty získané během první minuty první fáze, jelikož proband mohl být nervózní ze začátku experimentu, což mohlo mít vliv na některé parametry. Dále 2,5 minuty z druhé fáze, kdy docházelo k ustálení hladiny oxidu dusného v těle a docházelo k napouštění Douglasových vaků. A následně dvě minuty ze třetí fáze, kdy byl proband stále ovlivněn hladinou oxidu dusného, a došlo k přepojení Douglasových vaků.

Prvním z vyhodnocených parametrů byla srdeční frekvence, u které nedošlo ke změně průběhu během celého experimentu. Toto zjištění odpovídá informacím z literatury [28], ve které byl vliv zkoumán pro anesteziologické koncentrace N<sub>2</sub>O a též nebyla odhalena změna tepové frekvence. Z ventilačních parametrů byly sledovány dechové objemy při výdechu a nádechu, u kterých též nedošlo ke statisticky signifikantnímu ovlivnění u žádné z měřených koncentrací, ani se k němu neblížilo. Literatura uvádí pokles objemů během inhalace oxidu dusného, ovšem tento jev byl pozorován pro vysoké koncentrace (pro anestezii). Lze usoudit, že do 20 % se tento vliv neprojeví. U poměru inspiria ku expiriu nedošlo k významné změně. Tento poměr mohl být ovlivněn aparaturou, případně připojeným odtahem, který byl ovšem velmi slabý na to, aby podpořil výdech, ale byl zapojen po celou dobu měření, a proto by se jeho vliv projevil pro všechny fáze identicky. Zkoumána byla také dechová frekvence. Pro tento případ byla odhalena statisticky signifikantní změna u druhé fáze pro koncentrace 15 a 20 %, kdy došlo ke zklidnění dýchání. Při porovnání se zjištěním pro anesteziologické koncentrace [28] je tento výsledek opačný, ale stejně jako u rekční

doby je možné, že nízká koncentrace oxidu dusného má na organismus jiný vliv než koncentrace vysoká. Z experimentu lze usoudit, že středně vysoké koncentrace (15 – 20 %) mají zklidňující vliv na dechovou frekvenci.

Mimo tyto parametry byla sledována i saturace periferní krve kyslíkem ( $SpO_2$ ). Přítomnost oxidu dusného v těle způsobuje vyšší spotřebu kyslíku v mozkové tkáni a také vazodilataci (rozšíření cév). Vzhledem k vazodilataci a tomu, že inhalovaná směs byla doplněna 21% frakcí kyslíku (v několika případech se frakce dostala až k 22 %) bylo dodáno dost kyslíku pro okysličení mozku. Ke změně saturace krve v perifériích dochází se zpožděním až do 120 sekund [30], díky eliminaci hodnot z počátku jednotlivých fází je toto zpoždění z hodnocení odstraněno. K významnému ovlivnění  $SpO_2$  došlo již od 5% koncentrace až do 20 %, konkrétně pro třetí fázi (závěrečná inhalace vzduchu po směsi). Důvodem byly dva faktory, zaprvé nižší koncentrace kyslíku v čistém vzduchu, tato koncentrace ovšem odpovídala první fázi. Druhým faktorem je difúzní hypoxie. Po ukončení inhalace  $N_2O$  se oxid dusný eliminuje tak rychle, že dochází k ředění  $O_2$  a  $CO_2$  v alveolech, což způsobuje difúzní hypoxii, která se projeví na saturaci krve kyslíkem. Z tohoto důvodu se po ukončení anestezie vedené s oxidem dusným inhaluje po dobu několika minut 100% kyslík. Vymývání může být u jednotlivých osob odlišné, v závislosti na procentech tukové vrstvy, jelikož tuk zpomaluje vymývání  $N_2O$  z těla [28]. Vliv přetrvává, dokud alveolární parciální tlak neklesne pod parciální tlak tkáně.

Posledním hodnoceným fyziologickým parametrem bylo  $EtCO_2$  (koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu). Pro všechny koncentrace, včetně kontrolní, došlo ke značnému poklesu  $EtCO_2$  během druhé fáze. Tento pokles byl signifikantní pro 0, 5 a 12 %, u ostatních hodnot se statistické významnosti blížil, ale nebylo jí dosaženo. Hypokapnie je podporována zvýšenou dechovou frekvencí, ke které v našem případě nedošlo. Naopak pro koncentrace 15 a 20 % byla dechová frekvence snižena, proto lze usoudit, že tento faktor způsobil nedosažení statistické hranice významnosti pro tyto koncentrace. Zaznamenaná mírná hypokapnie oproti ostatním fázím mohla způsobit snížení mozkové perfúze a tedy i vymývání oxidu dusného z mozku [25]. Vzhledem k tomu, že značný pokles nastal i u koncentrace 0 %, je možné předpokládat, že důvodem nebyla výhradně přítomnost  $N_2O$  ve vdechované směsi.

Při zpracování dat z testů reakční doby a DSST bylo možné pozorovat vliv učení během jednotlivých fází. Většina starších studií (s výjimkou Moorea) tento problém

nebrala v potaz a mohlo dojít k ovlivnění výsledků díky zkušenostem získaným v průběhu měření. Při hodnocení dat reakční doby nebyl opomenut ani vliv samotného počítače, který mohl svou chybou ovlivnit výsledky měření. Délka obnovování obrazovky počítače použitého pro testování je 60 Hz, což odpovídá 16,7 ms. Směrodatná odchylka vypočtená pro dané měření pro jednotlivé koncentrace je přibližně 43 ms, délka obnovování obrazovky počítače je tedy kratší.

Porovnání s jinými studii není v některých případech dost přesné, jelikož již proběhlé experimenty byly zaměřeny na dlouhodobou inhalaci oxidu dusného (kolem 1 hodiny) a tento vliv se může lišit od krátkodobé inhalace (viz reakční doba). Proto je podstatné vytvořit studii zaměřenou na kratší délku inspirace oxidu dusného, jelikož praktické využití tohoto plynu v nízkých koncentracích bude sloužit pouze pro odhalení nežádoucích přídechů probanda.

Hranice vlivu oxidu dusného na kognitivní funkce člověka byla odhalena pomocí testu DSST u 20 %, u reakční doby již u 10 %. U subjektivního vnímání byl tento vliv pozorován také od 10 % pro pocit ospalosti a znučenosti. Vitální funkce začaly být ovlivňovány již dřív v případě EtCO<sub>2</sub>, u té byl signifikantní rozdíl pozorován i u kontrolní koncentrace, důvod tedy není možné jednoznačně přisoudit N<sub>2</sub>O. Dále byl vliv zaznamenán u 10 % u saturace krve kyslíkem. Díky těmto výsledkům jsem vyhodnotila koncentraci 5 % oxidu dusného ve vdechované směsi jako koncentraci s nejmenším vlivem na lidský organismus. Tato koncentrace je ze zkoumaných nejvíce vhodná pro použití jako sledovacího plynu při jiných experimentech sledujících vedlejší přídechy probandů. Toto zjištění je v souladu s jinými studii.

Mezi limitace práce patří nedostatečný počet probandů a jejich nepohodlí vzhledem k délce experimentu, během kterého musí celou dobu dýchat přes spirometr pro získání průběhů ventilačních parametrů.

Problematika vlivu nízkých koncentrací oxidu dusného na lidský organismus byla zkoumána již dříve, ovšem výsledky studií se neshodují a neodhalují prahovou koncentraci již způsobující vliv na kognitivní parametry a fyziologické funkce. Studie také zkoumaly výhradně vliv následkem dlouhodobého vystavení oxidu dusnému, což může vést k odlišným výsledkům než krátkodobá inhalace.

Pro budoucí možné vyhodnocení těchto parametrů na větším množství dobrovolníků byl navržen precizně upravený experiment, ve kterém byly brány v potaz

veškeré nedostatky odhalené v mém finálním experimentu a vyhodnocených datech (viz kapitola 2.5 návrh odborného experimentu).

## 5 Závěr

Cíle i jednotlivé podcíle mé diplomové práce byly splněny. Nejprve jsem vybrala reakční dobu a pozornost jako vhodné kognitivní funkce pro měření, z fyziologických parametrů jsem vybrala tepovou frekvenci, saturaci krve kyslíkem a další respirační parametry jako dechové objemy, poměr inspiria ku expiriu, koncentraci oxidu uhličitého na konci výdechu. Jako poslední test jsem zvolila VAS škálu pro hodnocení subjektivních pocitů probandů.

Navrhla jsem pilotní experiment pro odhalení vlivu nízkých koncentrací oxidu dusného na organismus. Pilotní experiment proběhl pro maximální zvolenou koncentraci 15 %  $N_2O$  ve vdechované směsi. Po vyhodnocení byl proveden finální upravený experiment pro koncentrace 0, 5, 10, 12, 15 a 20 % oxidu dusného ve směsi. Získané výsledky byly statisticky zpracovány a vyhodnoceny. Nejvýznamnější vliv byl pozorován pro koncentrace 20 % u pozornosti, poklesu dechové frekvence a saturace krve kyslíkem a u pocitů opilosti a točení hlavy. Nejmenší vliv měla koncentrace 5 %, kdy došlo ke statisticky významnému ovlivnění pouze u saturace krve kyslíkem a koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu, který byl ovšem ovlivněn i pro kontrolní koncentraci. U jednotlivých zkoumaných parametrů došlo ke statisticky významnému ovlivnění pro jiné koncentrace, ovšem jako nejvhodnější koncentraci použitelnou v praxi pro detekci nežádoucích přídechů probandů během lavinových experimentů jsem vyhodnotila koncentraci 5 %, která nezpůsobuje významné zlepšení ani zhoršení kognitivních funkcí.

Pomocí zjištěných výsledků byl navržen finální experiment pro potvrzení získané hypotézy s účastí většího počtu dobrovolníků.

## Seznam použité literatury

- [1] *Remedia: farmakoterapeutický dvouměsíčník pro lékaře a farmaceuty*. Praha: MEDICAL TRIBUNE CZ. ISSN 0862-8947.
- [2] DUARTE, R., A. MCNEILL, G. DRUMMOND a B. TIPLADY. Comparison of the sedative, cognitive, and analgesic effects of nitrous oxide, sevoflurane, and ethanol. *British Journal of Anaesthesia* [online]. 2008, **100**(2), 203-210 [cit. 2019-05-10]. DOI: 10.1093/bja/aem369. ISSN 00070912. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0007091217345610>.
- [3] HÖNEMANN, Christian, Olaf HAGEMANN a Dietrich DOLL. Inhalational anaesthesia with low fresh gas flow. *Indian Journal of Anaesthesia* [online]. 2013, **57**(4) [cit. 2019-05-13]. DOI: 10.4103/0019-5049.118569. ISSN 0019-5049. Dostupné z: <http://www.ijaweb.org/text.asp?2013/57/4/345/118569>.
- [4] Bruce DL, Bach MJ, Arbit J. Trace anesthetic effects on perceptual, cognitive, and motor skills. *Anesthesiology*. 1974 May; **40**(5), 453–458.
- [5] STEINBERG, Hannah. Selective effects of an anaesthetic drug on cognitive behaviour. *Quarterly Journal of Experimental Psychology* [online]. 1954, **6**(4), 170-180 [cit. 2019-05-10]. DOI: 10.1080/17470215408416662. ISSN 0033-555X. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17470215408416662>.
- [6] ROUBÍK, Karel, Ladislav SIEGER, Karel SYKORA a A.B. Johan GROENEVELD. Work of Breathing into Snow in the Presence versus Absence of an Artificial Air Pocket Affects Hypoxia and Hypercapnia of a Victim Covered with Avalanche Snow: A Randomized Double Blind Crossover Study. *PLOS ONE* [online]. 2015, **10**(12) [cit. 2019-05-15]. DOI: 10.1371/journal.pone.0144332. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0144332>.
- [7] KETY, S.S., HARMEL, M.H., BROOMELL, H.T. a RHODE, C.B. The solubility of nitrous oxide in blood and brain. *J Biol Chem*. 1948, **173**(2), 174:487–96.
- [8] RUPREHT, J., B. DWORACEK, B. BONKE, M. R. DZOLJIC, J. H. M. EIJDHOVEN a M. VLIJGER. Tolerance to Nitrous Oxide in Volunteers. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* [online]. 1985, **29**(6), 635-638 [cit. 2019-05-10]. DOI: 10.1111/j.1399-6576.1985.tb02271.x. ISSN 00015172. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-6576.1985.tb02271.x>.
- [9] ZACNY, J.P., CHO, A.M., COALSON, D.W., et al. Differential acute tolerance development to effects of nitrous oxide in humans. *Neuroscience Letters*. 1996; **209**: 73–76.
- [10] ALLISON, R.H., A.W. SHIRLEY a G. SMITH. THRESHOLD CONCENTRATION OF NITROUS OXIDE AFFECTING PSYCHOMOTOR PERFORMANCE. *British Journal of Anaesthesia* [online]. 1979, **51**(3), 177-180 [cit. 2019-05-06]. DOI: 10.1093/bja/51.3.177. ISSN 00070912. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0007091217449920>.



- [11] FAGAN, D., D. L. PAUL, B. TIPLADY a D. B. SCOTT. A dose-response study of the effects of inhaled nitrous oxide on psychological performance and mood. *Psychopharmacology* [online]. 1994, **116**(3), 333-338 [cit. 2019-05-06]. DOI: 10.1007/BF02245337. ISSN 0033-3158. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02245337>.
- [12] FAGAN, D., B. TIPLADY a D.B. SCOTT. Effects of ethanol on psychomotor performance under steady-state conditions. *Journal of Psychopharmacology* [online]. 2016, **8**(2), 75-80 [cit. 2019-05-10]. DOI: 10.1177/026988119400800201. ISSN 0269-8811. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/026988119400800201>.
- [13] FOWLER, B., GRANGER, S., ACKLES, K.N., HOLNESS, D.E. and WRIGHT, G.R. The effects of inert gas narcosis on certain aspects of serial response time. *Ergonomics*, 1983, **26**: 1125-1138.
- [14] MOORE, P. Psychomotor impairment due to N<sub>2</sub>O exposure. *Anesthesia Progress*. 1983, **30**, 72-75. ISSN 1878-7177.
- [15] COOK, T.L., SMITH, M., STARKWEATHER, J.A., WINTER, P.N.I. a EAGER, E.I.: Behavioral effects of trace and subanesthetic halothane and nitrous oxide in man. *Anesthesiology*. 1978, **49**(6), 419-424.
- [16] ARMSTRONG, P. J., C. MORTON, W. SINCLAIR a B. TIPLADY. Effects of nitrous oxide on psychological performance. A dose-response study using inhalation of concentrations up to 15%. *Psychopharmacology*[online]. 1995, **117**(4), 486-490 [cit. 2019-05-06]. DOI: 10.1007/BF02246223. ISSN 0033-3158. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02246223>.
- [17] Hindmarch I, Kerr JS, Sherwood N. The effects of alcohol and other drugs on psychomotor performance and cognitive function. *Alcohol Alcohol*. 1991, **26**(1), 71-79.
- [18] TIPLADY, B., W. SINCLAIR a B. TIPLADY. Effects of nitrous oxide on psychological performance. A dose-response study using inhalation of concentrations up to 15%. *Psychopharmacol Bull*[online]. 1992, **28**(4), 207-211 [cit. 2019-05-06].
- [19] CARLSON, A., N. KLEITMAN a C. MUEHLBERGER. *Studies on the possible intoxicating action of 3.2 per cent beer*. Chicago: University of Chicago Press, 1934.
- [20] JOYCE, C., P. EDGEcombe, D. KENNARD a M. WEATHERALL. Potentiation by phenobarbitone of effects of ethyl alcohol. *Journal of mental science*. 1959, **105**(438), 51-60.
- [21] PALVA, E. S., M. LINNOILA, I. SAARIO a M. J. MATTILA. Acute and Subacute Effects of Diazepam on Psychomotor Skills: Interaction with Alcohol. *Acta Pharmacologica et Toxicologica* [online]. 1979, **45**(4), 257-264 [cit. 2019-05-06]. DOI: 10.1111/j.1600-0773.1979.tb02391.x. ISSN 00016683. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0773.1979.tb02391>.
- [22] CHRISTOFOROU, Zoi, Matthew G. KARLAFTIS a George YANNIS. Reaction times of young alcohol-impaired drivers. *Accident Analysis & Prevention* [online]. 2013, **61**, 54-62 [cit. 2019-05-06]. DOI: 10.1016/j.aap.2012.12.030. ISSN 00014575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001457512004526>.

- [23] MAYLOR, E. a P. RABBITT. ALCOHOL, REACTION-TIME AND MEMORY - A METAANALYSIS. *BRITISH JOURNAL OF PSYCHOLOGY*. 1993, **84**, 301-317 [cit. 2019-05-06].
- [24] HERNÁNDEZ, Oscar H., Muriel VOGEL-SPROTT, Teresita C. HUCHÍN-RAMIREZ a Fernando AKÉ-ESTRADA. Acute dose of alcohol affects cognitive components of reaction time to an omitted stimulus: differences among sensory systems. *Psychopharmacology* [online]. 2006, **184**(1), 75-81 [cit. 2019-05-06]. DOI: 10.1007/s00213-005-0237-7. ISSN 0033-3158. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00213-005-0237-7>.
- [25] DRUMMOND, G.B., L FISHER, O PUMPHREY a R.R. KENNEDY. Direct measurement of nitrous oxide kinetics †. *British Journal of Anaesthesia* [online]. 2012, **109**(5), 776-781 [cit. 2019-05-10]. DOI: 10.1093/bja/aes260. ISSN 00070912. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0007091217316409>.
- [26] KORTTILA K., M.M. GHONEIM, L. JACOBS, S.P. MEWALDT a R.C. PETERSEN. Time course of mental and psychomotor effects of 30 per cent nitrous oxide during inhalation and recovery. *Anesthesiology* [online]. 1981, **54**(3), 220-226 [cit. 2019-05-10].
- [27] BLOCK, Robert I., M.M. GHONEIM, Dharendra PATHAK, Viney KUMAR a James V. HINRICHS. Effects of a subanesthetic concentration of nitrous oxide on overt and covert assessments of memory and associative processes. *Psychopharmacology* [online]. 1988, **96**(3), 324-331 [cit. 2019-05-10]. DOI: 10.1007/BF00216058. ISSN 0033-3158. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00216058>.
- [28] BUTTERWORTH, J., D. MACKEY a J. WASNICK. *Morgan and Mikhail's Clinical Anesthesiology*. 5th ed. Mc Graw Hill Education, 2013. ISBN 0071816690.
- [29] ANTKOWIAK, B. In vitro networks: cortical mechanisms of anaesthetic action. *British Journal of Anaesthesia* [online]. 2002, **89**(1), 102-111 [cit. 2019-05-10]. DOI: 10.1093/bja/aef154. ISSN 00070912. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0007091217375943>.
- [30] AGUILAR, Steve A. a Daniel P. DAVIS. Latency of Pulse Oximetry Signal with Use of Digital Probes Associated with Inappropriate Extubation during Prehospital Rapid Sequence Intubation in Head Injury Patients: Case Examples. *The Journal of Emergency Medicine* [online]. 2012, **42**(4), 424-428 [cit. 2019-05-14]. DOI: 10.1016/j.jemermed.2011.06.127. ISSN 07364679. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0736467911011395>.

# Příloha A: Etická komise



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

Fakulta biomedicínského inženýrství

nám. Sítňá 3105, 272 01 Kladno

## Žádost o projednání výzkumného projektu v etické komisi FBMI ČVUT

*Application for approval of a research project by FBMI CTU Institutional Ethical/Review Board*

Název projektu: **Hodnocení vlivu inhalace nízkých koncentrací oxidu dusného na kognitivní funkce jedince**  
Name of the project: **Evaluation of the effect of low concentrations of nitrous oxide on cognitive functions of the individual**

Hlavní řešitel projektu: MUDr. Lenka Horáková, ČVUT FBMI, horakle5@fbmi.cvut.cz  
Bc. Květa Válková, ČVUT FBMI, valkovke@fbmi.cvut.cz


**Stručný popis projektu:** Cílem projektu je sledování vlivu inhalace nízkých koncentrací oxidu dusného na kognitivní funkce zdravých dobrovolníků, které budou hodnoceny pomocí série psychologických testů před, během a po inhalaci oxidu dusného.  
**Zajištění bezpečnosti:** Bude inhalována koncentrace oxidu dusného výrazně nižší, než je běžně používaná v klinické praxi. Experiment bude probíhat pod dohledem lékaře a po celou dobu budou monitorovány životní funkce probandů. Účast ve studii je dobrovolná. Výsledky ani osobní data nebudou zneužita.

**Charakter projektu:** Kvalifikační práce (specifikace): Diplomová práce

**Seznam příkládaných dokumentů:**

- sylabus projektu
- informovaný souhlas vč. informace pro subjekt hodnocení

V Kladně dne 28.2.2019

  
podpis hlavního řešitele

## Vyjádření souhlasu etické komise FBMI ČVUT

*FBMI CTU Institutional Ethical/Review Board approval*

Projekt byl schválen etickou komisí FBMI ČVUT dne: 5.3.2019  
pod číslem: C 51019

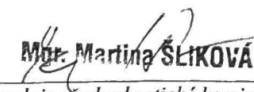
platný do: 12/2021

Etická komise FBMI ČVUT v Praze, ve složení Mgr. Martina Dingová Šliková (předsedkyně), prof. Ing. Karel Roubík, Ph.D., RNDr. Táňa Jarošíková, CSc., Ing. Petr Kudrna, PhD., MUDr. Radek Matlach, a Ing. Lucie Šedzmáková, zhodnotila předložený projekt a neshledala žádné rozpory s platnými zásadami, předpisy a mezinárodními směrnicemi pro provádění biomedicínského výzkumu zahrnujícího lidské účastníky nebo laboratorní zvířata.

Řešitel projektu splnil podmínky nutné k získání souhlasu etické komise.

V Kladně dne 5.3.2019

ETICKÁ KOMISE  
České vysoké učení technické v Praze  
Fakulta biomedicínského inženýrství  
nám. Sítňá 3105  
272 01 Kladno

  
podpis předsedy etické komise

ČVUT v Praze  
Fakulta biomedicínského inženýrství  
nám. Sítňá 3105

tel.: (+420) 224 358 419  
fax: (+420) 312 608 204  
www.fbmi.cvut.cz

IČ: 68407700  
DIČ: CZ68407700  
Bankovní spojení: KB Praha 6

# Příloha B: Protokol experimentu

## Efekty malých koncentrací oxidu dusného na organismus

### 1. měření

<b>ID probanda:</b> <b>Klíč:</b>
Datum měření: Čas měření: Místo měření: Protokol zapsal:

### Personální zajištění

Pozice	Funkce	Jméno a příjmení	Připraven
Vedoucí (doktor)	Řídí měření, kontroluje čas, zapisuje protocol, obsluhuje Douglasovy vaky		<input type="checkbox"/>
Obsluha PC	Řídí se pokyny zkoušejícího – spouští stopky, obsluhuje testovací počítače apod.		<input type="checkbox"/>
Obsluha Datexu	Řídí se pokyny zkoušejícího – Kontroluje zdravotní stav probanda, obsluhuje monitor vitálních funkcí, zapisuje hodnoty vitálních funkcí		<input type="checkbox"/>
Spirometr + dozor	Řídí se pokyny zkoušejícího – obsluhuje spirometr, kontroluje odpočívající probandy		<input type="checkbox"/>

### Technické a programové zajištění

Zařízení	Název	Výrobní číslo	Připraven
Počítač/notebook (3x)			<input type="checkbox"/>
Aplikace na měření reakční doby			<input type="checkbox"/>
Aplikace DSST			<input type="checkbox"/>
Aplikace VAS			<input type="checkbox"/>
Tlaková lahev s oxidem dusným			<input type="checkbox"/>
Směšovač plynů			<input type="checkbox"/>
Monitor vitálních funkcí Datex			<input type="checkbox"/>
Douglasův vak (2x)			<input type="checkbox"/>
Časomíra			<input type="checkbox"/>
Spirometr			<input type="checkbox"/>
TV k Datexu			<input type="checkbox"/>

## 1. Příprava měření

- Po příchodu do laboratoře zapnout všechny potřebné přístroje
  - Tři počítače (hlavní místnost a čekací místnost)
  - Monitor vitálních funkcí Datex + TV
- Kontrola přívodu plynů do směšovače (vzduch, kyslík, oxid dusný)
- Připravit počítače a SW pro měření reakční doby, VAS a DSST
  - Spustit aplikaci pro měření reakční doby
  - Spustit aplikaci pro VAS
  - Spustit aplikaci pro měření DSST
- Informovat personál o zásadách a průběhu experimentu
  - Dodržovat klid v laboratoři
  - Seznámit personál s jednotlivými úkoly
- Seznámit probanda s průběhem experimentu a vlivem N<sub>2</sub>O
- Vyloučit kontraindikace podání N<sub>2</sub>O
- Zapsat identifikační kód (ID) probanda a koncentraci N<sub>2</sub>O do tohoto protokolu, do karty probanda a informovaného souhlasu
- Vyplnit kartu probanda
- Zkontrolovat podepsání informovaného souhlasu a karty probanda probandem
- Zkontrolovat, zda proband provedl pilotní měření
- Naplnit Douglasův vak vzduchem z rozvodu
- Naplnit druhý Douglasův vak směsí N<sub>2</sub>O dle randomizovaného výběru koncentrace
- Usadit probanda do pohodlné pozice vsedě pro celý experiment
- Nasazení čidla pulzního oxymetru na prst méně dominantní ruky probanda
- Nasazení klipsu na nos

## 2. Měření bez inhalace N<sub>2</sub>O po dobu 2,5 minut

- Ověřit připravenost programu pro měření reakční doby
- Ověřit připravenost programu pro DSST
  - Ověřit připravenost programu pro VAS
- Instruovat probanda o průběhu této části
- Proband dýchá z Douglasova vaku bez přidaného N<sub>2</sub>O
  - Proband použije dominantní ruku
- Spuštění nahrávání SpO<sub>2</sub> do počítače
- Spuštění nahrávání spirometrie do počítače
- Spuštění nahrávání ventilačních plynů: FiO<sub>2</sub>, FeO<sub>2</sub>, FiN<sub>2</sub>O, FeN<sub>2</sub>O
- Nechat probanda vyplnit testy (VAS, DSST, reakční doba)

- V případě poklesu EtCO<sub>2</sub> pod 35 mmHg instruovat probanda ke zklidnění dýchání
- Název souborů:

Data z Datexu: TESTY:
--------------------------

- Doplnit Douglasův vak vzduchem z rozvodu
- Zaznamenat vitální funkce probanda:

SpO <sub>2</sub> : HR:
---------------------------

### 3. Měření během 7,5 minutové inhalace N<sub>2</sub>O

- Ověřit připravenost programu pro měření reakční doby
- Ověřit připravenost programu pro DSST
- Ověřit připravenost programu pro VAS
  - Přepojit Douglasův vak se vzduchem na vak s N<sub>2</sub>O
- Instruovat probanda o průběhu této části
- Proband dýchá z Douglasova vaku N<sub>2</sub>O
  - Proband použije dominantní ruku
- Nechat probanda vyplnit testy (VAS, DSST, reakční doba) po uplynutí 2,5 minuty
- V případě poklesu EtCO<sub>2</sub> pod 35 mmHg instruovat probanda ke zklidnění dýchání
- Název souborů:

TESTY:
--------

- Zaznamenat vitální funkce probanda:

SpO <sub>2</sub> : HR:
---------------------------

- Nechat probanda vyplnit testy (VAS, DSST, reakční doba) po uplynutí 5 minut
- V případě poklesu EtCO<sub>2</sub> pod 35 mmHg instruovat probanda ke zklidnění dýchání
- Název souborů:

TESTY:
--------

- Zaznamenat vitální funkce probanda:

SpO <sub>2</sub> : HR:
---------------------------

#### 4. Měření ihned po inhalaci N<sub>2</sub>O po dobu 5 minut

- Ověřit připravenost programu pro měření reakční doby
- Ověřit připravenost programu pro DSST
- Ověřit připravenost programu pro VAS
  - Přepojit Douglasův vak s N<sub>2</sub>O na vak se vzduchem
- Instruovat probanda o průběhu této části
- Proband dýchá z Douglasova vaku se vzduchem
  - Proband použije dominantní ruku
- Nechat probanda vyplnit testy (VAS, DSST, reakční doba)
- V případě poklesu EtCO<sub>2</sub> pod 35 mmHg instruovat probanda ke zklidnění dýchání
  - Název souborů:

TESTY:

- Zaznamenat vitální funkce probanda:

SpO<sub>2</sub>:

HR:

- Nechat probanda vyplnit testy (VAS, DSST, reakční doba) po uplynutí 2,5 minuty
- V případě poklesu EtCO<sub>2</sub> pod 35 mmHg instruovat probanda ke zklidnění dýchání
- Název souborů:

TESTY:

- Zaznamenat vitální funkce probanda:

SpO<sub>2</sub>:

HR:

#### 5. Ukončení měření

- Uložit probanda do pohodlné polohy na lůžko
- Nechat probanda vydýchat až do doby, kdy se bude cítit v pořádku
- Zkontrolovat zdravotní stav probanda
- Ukončit nahrávání spirometrie a ventilačních parametrů
- Zálohovat naměřená data na externí disk
- Naplnit Douglasovy vaky

#### Poznámky k měření:



## Příloha C: Informovaný souhlas

# Informovaný souhlas a informace pro subjekt hodnocení

**Název projektu:** Hodnocení vlivu inhalace nízkých koncentrací oxidu dusného na kognitivní funkce jedince



**Hlavní řešitel, spoluřešitelé a jejich pracoviště:**

MUDr. Lenka Horáková, ČVUT FBMI, Katedra biomedicínské techniky

Bc. Květa Válková, ČVUT FBMI, Katedra biomedicínské techniky

Vážená studentko, vážený studente,

projekt „Hodnocení vlivu inhalace nízkých koncentrací oxidu dusného na reakční dobu a kognitivní funkce jedince“, prováděný na FBMI ČVUT, se zabývá studiem vlivu inhalace nízkých koncentrací oxidu dusného na jedince pro hodnocení možnosti dalšího využití tohoto plynu jako markeru netěsnosti ventilační soustavy. Konkrétně se snaží nalézt nejmenší koncentraci daného plynu, která ještě ovlivní kognitivní funkce a reakční dobu subjektu ventilačních experimentů.

Oxid dusný ( $N_2O$ ), známý rovněž jako „rajský plyn“, je bezbarvý, bez chuti a zápachu, běžně používaný v anestezii v koncentracích 40-60 %. Jde o látku s rychlým nástupem účinku, není odbouráván v játrech a z organismu je eliminován pouze dýcháním. Dosud byly provedeny studie zkoumající účinky rajskeho plynu na kognitivní funkce, výsledky v této oblasti však nejsou jednotné z důvodu různých metodik, používaných koncentrací plynu a trvání expozice.

**Průběh měření:**

Měření bude probíhat na zdravých dobrovolnících z řad studentů FBMI, doba experimentu bude 120 minut samotného měření, celková doba včetně mezer mezi měřeními (1,5h) je 8 hodin a měření bude rozděleno do dvou dní po třech sériích.

K experimentu bude využívána respirační aparatura sestavená speciálně pro tento účel. Skládá se ze směšovače plynů, dvou velkoobjemových těsnících vaků, systému jednocestných ventilů, náustku a monitoru obsahu plynů ve směsi. V principu aparatura zajišťuje míchání dýchací směsi skládající se z 21 % kyslíku (stejný obsah jako ve vzduchu), 0, 5, 7, 10, 12, 15 či 20 % rajskeho plynu a doplněné dusíkem (plyn běžně obsažený ve vzduchu). Tato směs naplní jeden z vaků, přičemž druhý bude naplněn čistým vzduchem. Bude možné volit mezi testovanou plynou směsí a vzduchem a přiváděný plyn bude proband vdechovat pomocí náustku. U inhalace musí mít proband zacpaný nos speciálním pěnovým kolíčkem.

Harmonogram experimentu začíná vstupní fází, ve které bude dobrovolník seznámen s průběhem experimentu. Následně subjekt vyplní dotazník týkající se jeho zdravotního stavu a podrobí se vyšetření plicních funkcí pomocí spirometru a nacvičí si připravené psychotesty před měřením.

Během experimentální části bude proband řešit sérii psychologických testů testů na počítači. Testy jsou určeny na testování reakční doby (RD), rozhodovacích schopností (DSST) a subjektivních pocitů (VAS). DSS test je založen na rozpoznání symbolů a jejich přiřazování k číslům dle přiloženého klíče. Hodnotí se jak správnost, tak i rychlost, s jakou je proband schopen přiřadit symbol k danému číslu. Ve VAS (Visual Analogue Scale) hodnotí proband své pocity (bolest hlavy, únava, závrať, napjatost) bodově na škále od 0 do 10 zápisem do počítačového programu. Test reakční doby bude prováděn pomocí počítačového programu, ve kterém se na obrazovce mění barvy (bílá/černá) a proband reaguje na barevnou změnu co nejrychlejšími stisknutím tlačítka. Tyto tři testy budou tvořit jeden testovací cyklus trvající 2,5 minut.

Během ventilační fáze bude proband vsedě inhalovat připravenou plynou směs přes náustek. První 2,5 minuty bude dýchat čistý vzduch a bude řešit sérii výše uvedených psychologických testů. Následujících 7,5 minuty bude proband inhalovat směs s oxidem dusným a budou provedeny dva testovací cykly. V následujících 5 minutách bude proband opět dýchat čistý vzduch a provedou se dva testovací cykly. Poslední cyklus proběhne po ukončení celé ventilační fáze.

Během celého průběhu experimentu bude dobrovolník pod dohledem lékaře a bude sledována činnost jeho dýchacího a oběhového systému měřením srdečního rytmu a obsahu kyslíku v krvi. Žádné z těchto měření není invazivní, nebudou odebrány žádné vzorky krve.

#### **Vylučovací kritéria a zdravotní rizika:**

**Účast probandů s alergií na oxid dusný, s těžkými formami astmatu a dalších respiračních onemocnění a v těhotenství není povolena. Proband svým podpisem tohoto informovaného souhlasu stvrzuje, že těmto vylučujícím kritériím porozuměl a že tato vylučovací kritéria nenaplnuje.**

Účast probanda v tomto výzkumném projektu může být kromě přítomnosti výše popsaných vylučovacích kritérií ukončena v těchto případech: silný pocit nevolnosti, silný diskomfort, závažné dýchací potíže. Z naměřených dat nebudou vyvozovány jakékoli závěry o zdravotním stavu probanda.

Diskomfortem pro probandy je čas strávený při experimentu podle předem dohodnutého programu. Kromě uvedených vylučujících kritérií je metoda zcela bezpečná a nejsou známy žádné vedlejší účinky ani rizika.

Účast na experimentu je zcela dobrovolná, bez nároku na odměnu. Zároveň se nepředpokládají žádné finanční výdaje probanda. Náklady na odškodnění v případě poškození probanda ponese FBMI ČVUT, nicméně riziko je prakticky minimální.

Podepsáním tohoto písemného informovaného souhlasu souhlasíte s tím, že hlavní řešitelé a etická komise budou mít umožněn přímý přístup k původní klinické dokumentaci za účelem ověření průběhu studie anebo údajů, aniž dojde k porušení důvěrnosti informací o Vaší osobě, v míře povolené právními předpisy.

Záznamy, podle nichž lze identifikovat probanda, budou uschovány jako důvěrné a nebudou, v míře zaručené právními předpisy, veřejně zpřístupněny. Budou-li výsledky studie publikovány, totožnost probanda nebude zveřejněna.

Vyskytne-li se informace, která by mohla mít vliv na rozhodnutí probanda, zda pokračovat v účasti ve studii nebo ne, bude proband o této skutečnosti včas informován.

Další informace týkající se této studie lze získat u výše zmíněných řešitelů.

Vaše účast ve studii je dobrovolná, můžete ji odmítnout nebo můžete od účasti ve studii kdykoliv odstoupit, a to bez udání důvodu a bez jakýchkoliv finančních, právních či jiných následků.

**Prohlašuji a svým podpisem stvrzuji, že jsem se seznámil a porozuměl všemu výše uvedenému a souhlasím s účastí ve studii. Prohlašuji, že nesplňuji žádné vylučovací kritérium výše uvedené, které by znemožňovalo moji účast ve výzkumném projektu.**

Jméno probanda:

Odpovědný řešitel:

Datum narození:

Podpis probanda:

Podpis odpovědného řešitele:

Datum:

Datum:

# Příloha D: Karta probanda

**Výzkumný projekt:**

**Efekty malých koncentrací oxidu dusného na organismus**

**ID probanda:**

**Základní údaje:**

**Příjmení:**

**Jméno:**

**Pohlaví:**  muž  žena

**Věk:**

**Datum narození:**

**Místo bydliště:**

**Kontakt:**

**Naměřené údaje:**

**Výška (cm):**

**Váha (kg):**

**FVC (l):**

**FEV1 (l):**

**FEV1/FVC (%):**

**Informace o zdravotním stavu:**

**Kouření:**

v současnosti:  ano  ne

četnost:

čas posledního kouření:

dříve:  ano  ne

ukončení kouření (rok):

**Nemoci respirační soustavy: Astma:**  ano  ne

Jiné:

**Prodělané nemoci respirační soustavy:**

**Aktuální zdravotní stav (respirační problémy, teplota těla):**

zdravý       nemocný

**Těhotenství (ženy):**

ano       ne

**Doplňující informace:**

**Sportovní aktivity (četnost, typ):**

**Poznámky:**

**Proband podepsal informovaný souhlas:**       ano       ne

V Kladně dne: \_\_\_\_\_

Podpis: \_\_\_\_\_

## Příloha E: Statistické tabulky psychologických testů

Tabulka 17: Dosažená hladina významnosti: Reakční doba.

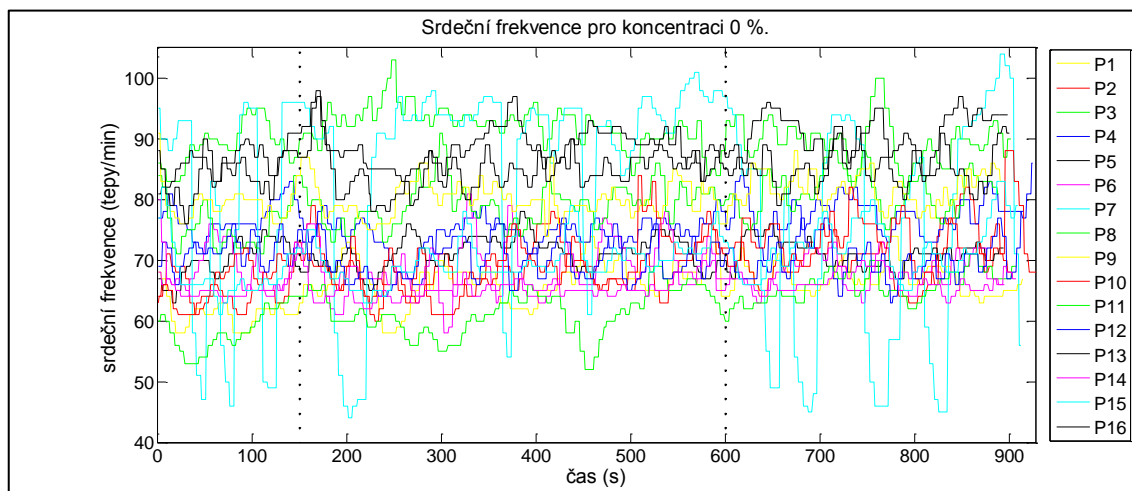
Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,0766	0,2285	0,0016	0,9350	0,3202	0,3588
1-3	0,5232	0,1291	0,2727	0,1914	0,2900	0,0191
1-4	0,6179	0,5586	0,2824	0,0077	0,2612	0,0431
1-5	0,1457	0,0231	0,0326	0,6440	0,8266	0,1665
2-3	0,1318	0,8395	0,2366	0,1850	0,1223	0,0335
2-4	0,1303	0,1343	0,2489	0,0051	0,0220	0,1506
2-5	0,7428	0,9189	0,5896	0,4171	0,2745	0,4872
3-4	0,9364	0,0245	0,9861	0,0445	0,7167	0,3159
3-5	0,4421	0,7062	0,4911	0,0697	0,2713	0,0671
4-5	0,1684	0,0184	0,4840	0,0030	0,1881	0,4852

Tabulka 18: Dosažená hladina významnosti: DSST.

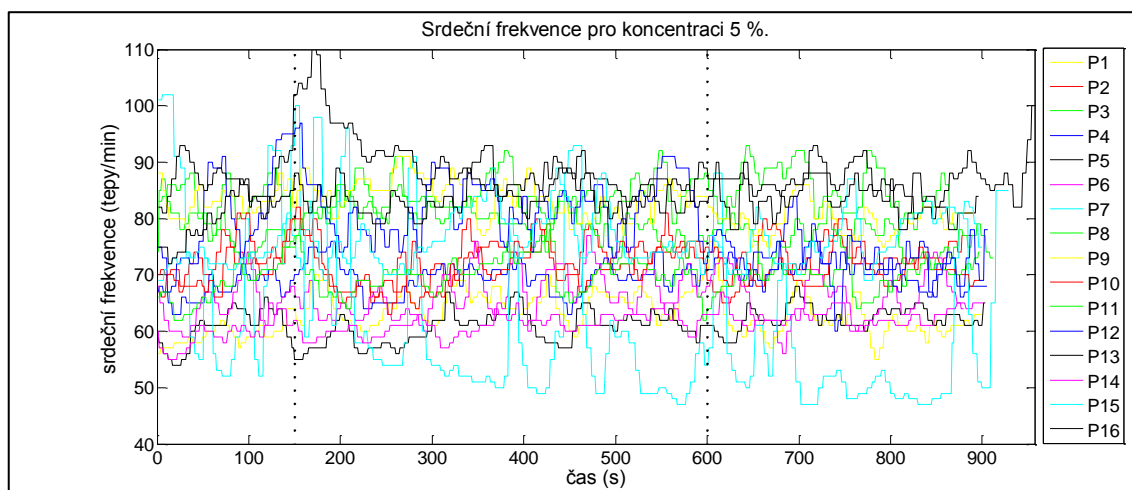
Porovnávané fáze	Koncentrace (%)					
	0	5	10	12	15	20
1-2	0,2113	0,9539	0,7622	0,1041	0,3700	0,0000
1-3	0,0049	0,2194	0,8712	0,0671	0,0555	0,0002
1-4	0,0161	0,4388	0,8485	0,6759	0,8674	0,5995
1-5	0,0047	0,0036	0,0092	0,2529	0,4973	0,9568
2-3	0,1062	0,0861	0,6482	0,4655	0,3515	0,4942
2-4	0,1433	0,3591	0,5526	0,0865	0,2600	0,0066
2-5	0,4554	0,0051	0,0064	0,0173	0,2052	0,0009
3-4	0,9572	0,0168	1,0000	0,0012	0,0309	0,0017
3-5	0,7530	0,0009	0,0023	0,0005	0,0211	0,0007
4-5	0,4298	0,1988	0,0055	0,1990	0,5964	0,4832

# Příloha F: Grafy fyziologických hodnot

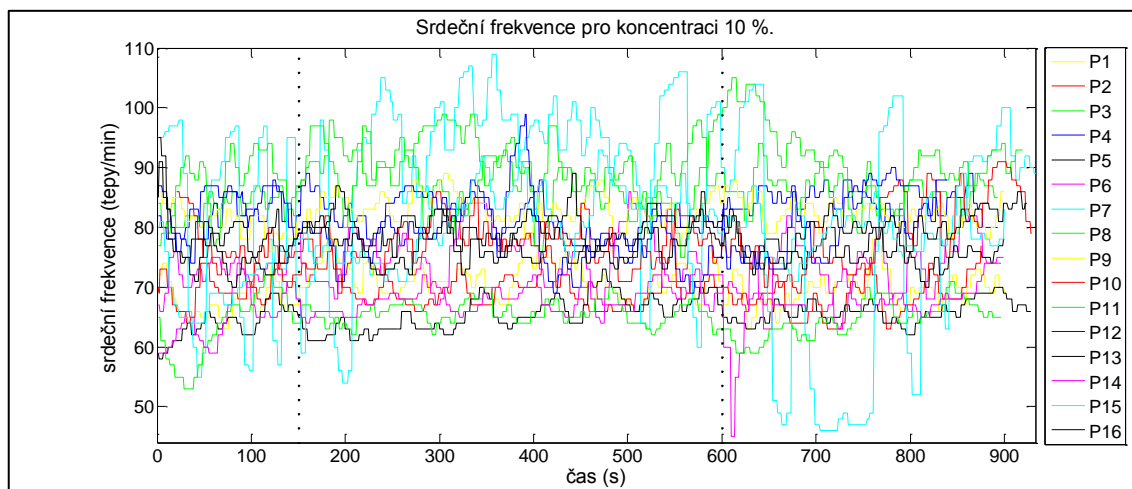
## Srdeční frekvence



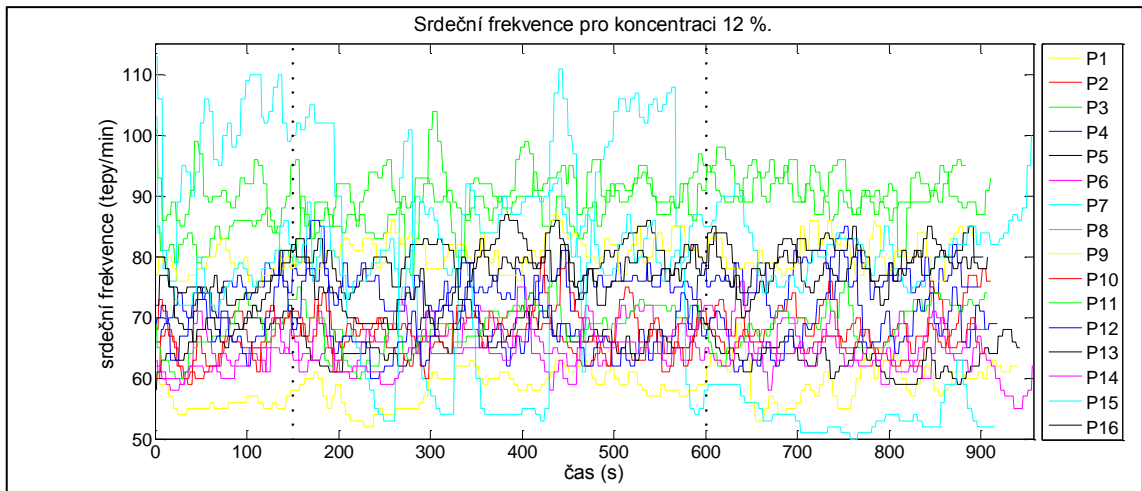
Obrázek 39: Průběh srdeční frekvence pro 0 %.



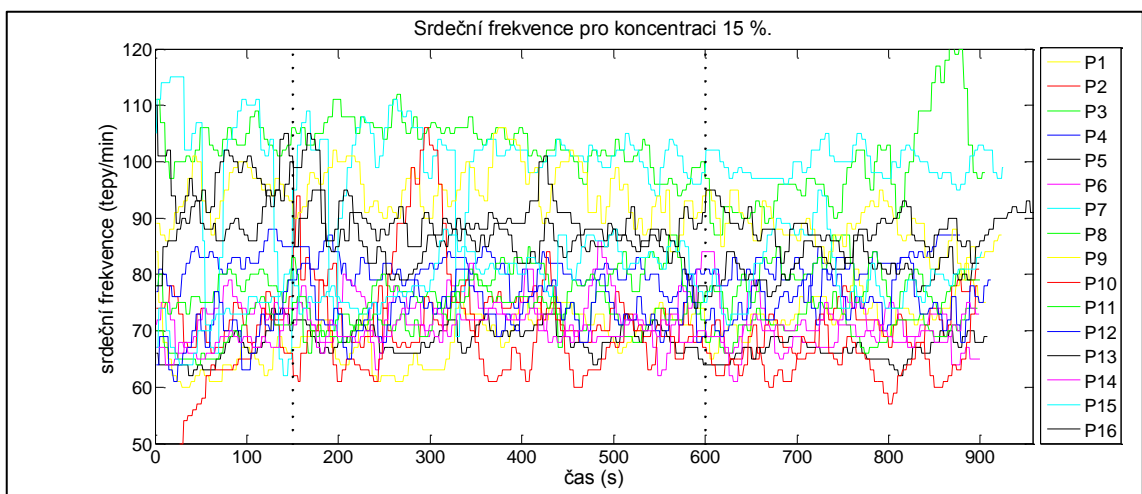
Obrázek 40: Průběh srdeční frekvence pro 5 %.



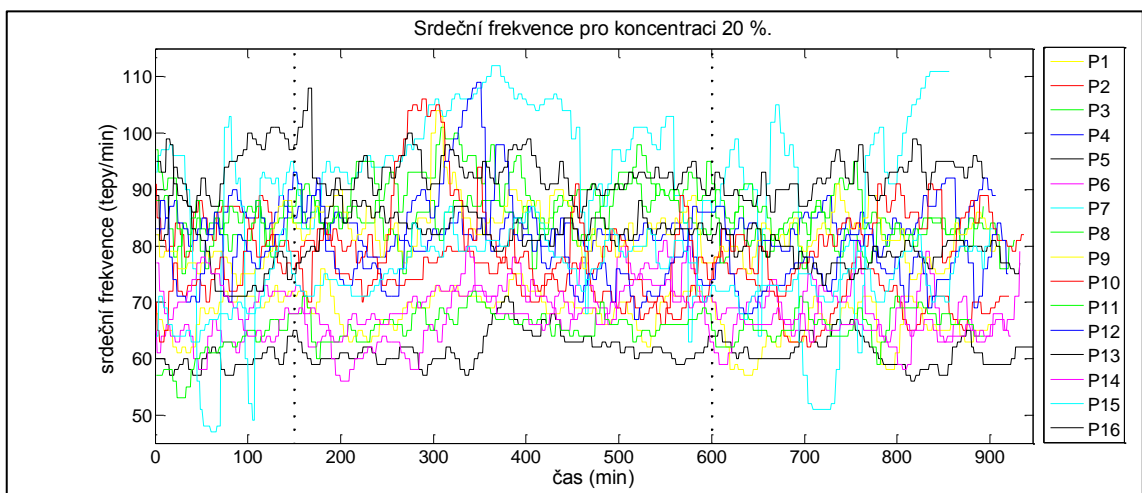
Obrázek 41: Průběh srdeční frekvence pro 10 %.



**Obrázek 42: Průběh srdeční frekvence pro 12 %.**

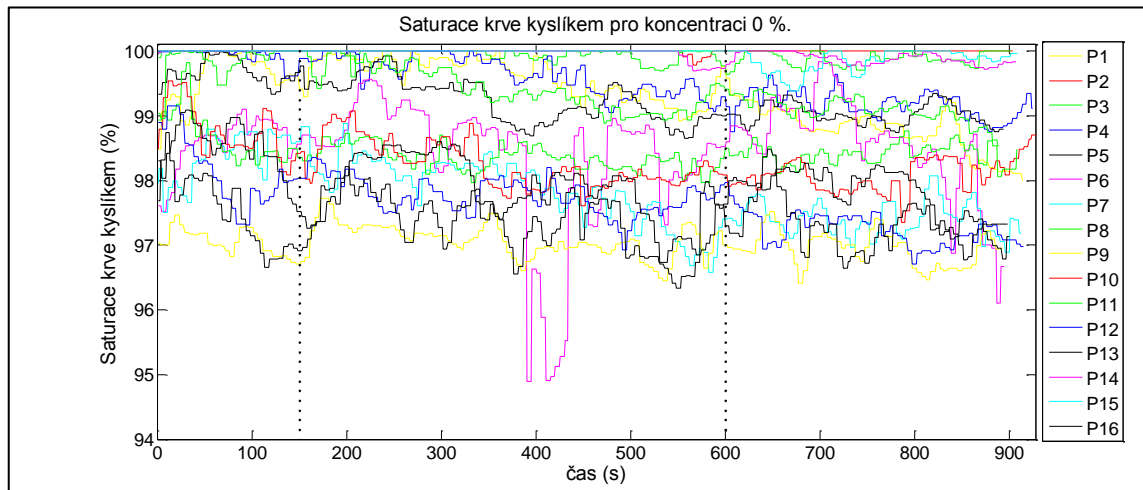


**Obrázek 43: Průběh srdeční frekvence pro 15 %.**

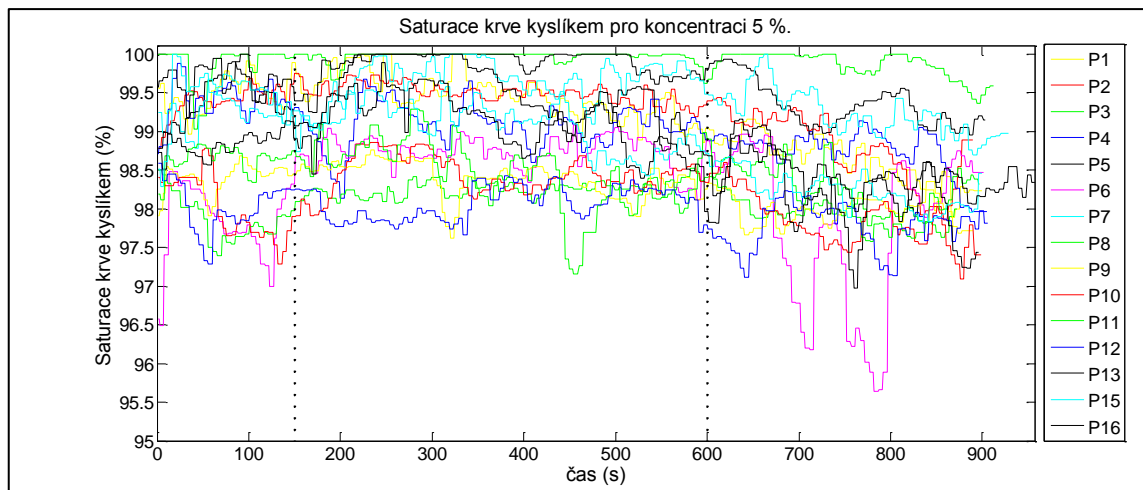


**Obrázek 44: Průběh srdeční frekvence pro 20 %.**

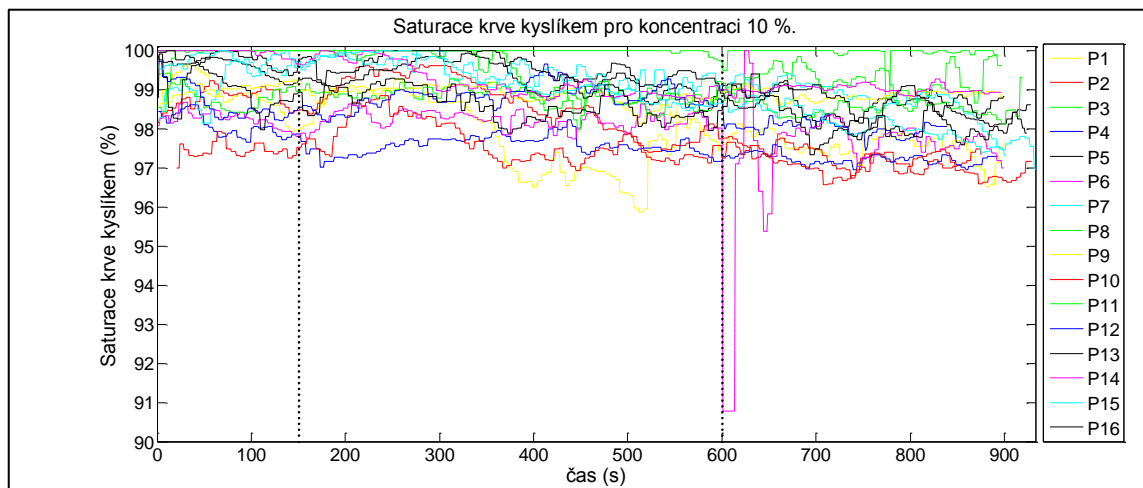
## Saturace periferní krve kyslíkem



Obrázek 45: Saturace periferní krve kyslíkem pro 0 %.

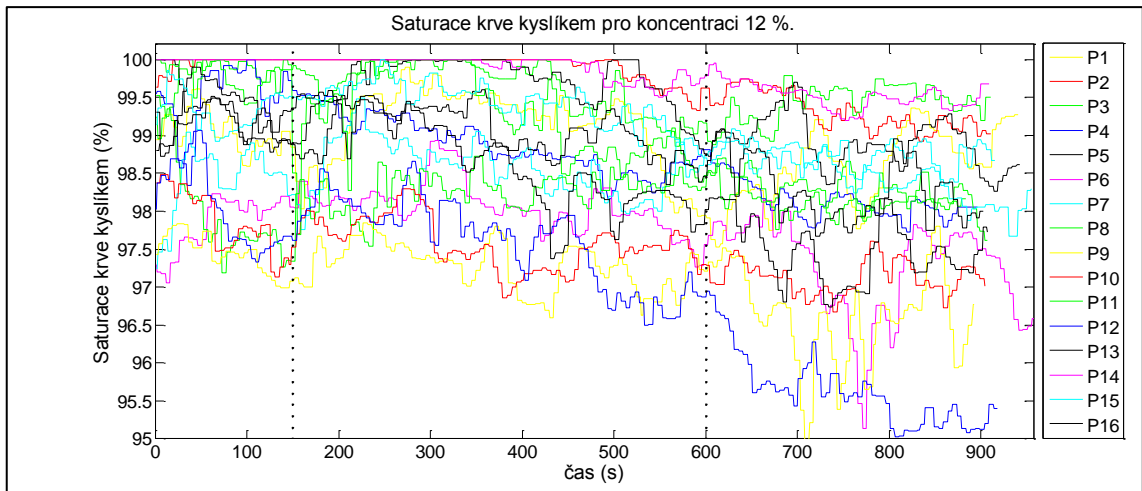


Obrázek 46: Saturace periferní krve kyslíkem pro 5 %.

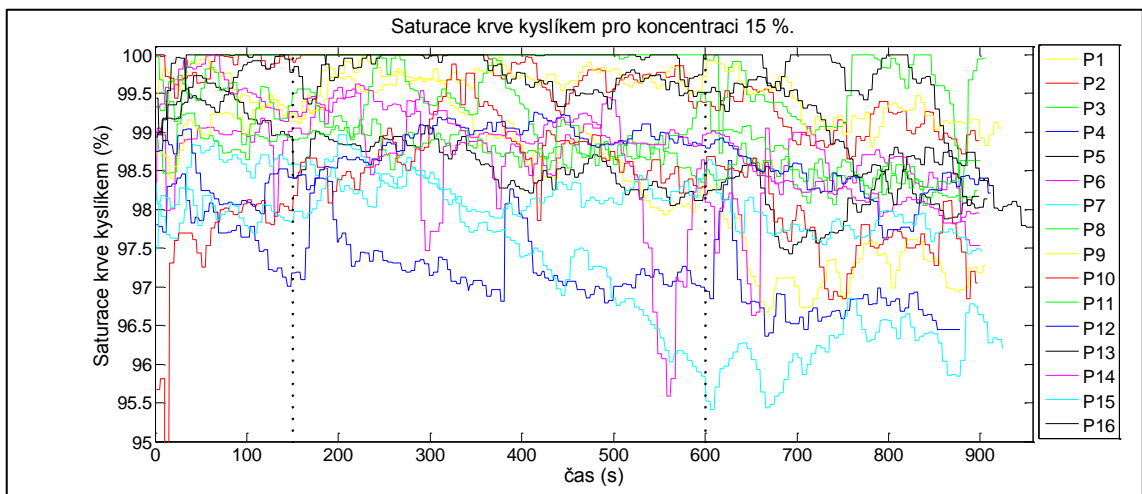


Obrázek 47: Saturace periferní krve kyslíkem pro 10 %.

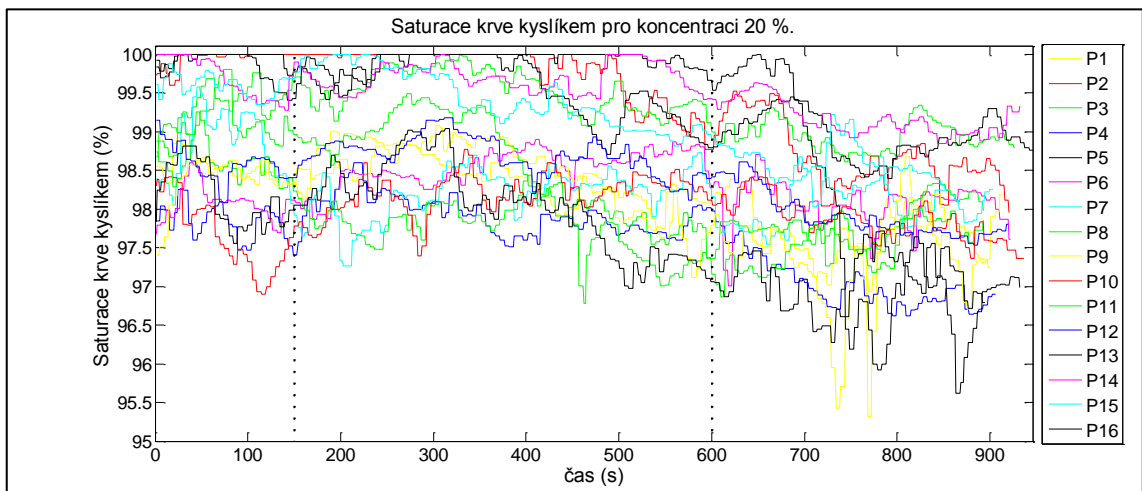




**Obrázek 48: Saturace periferní krve kyslíkem pro 12 %.**

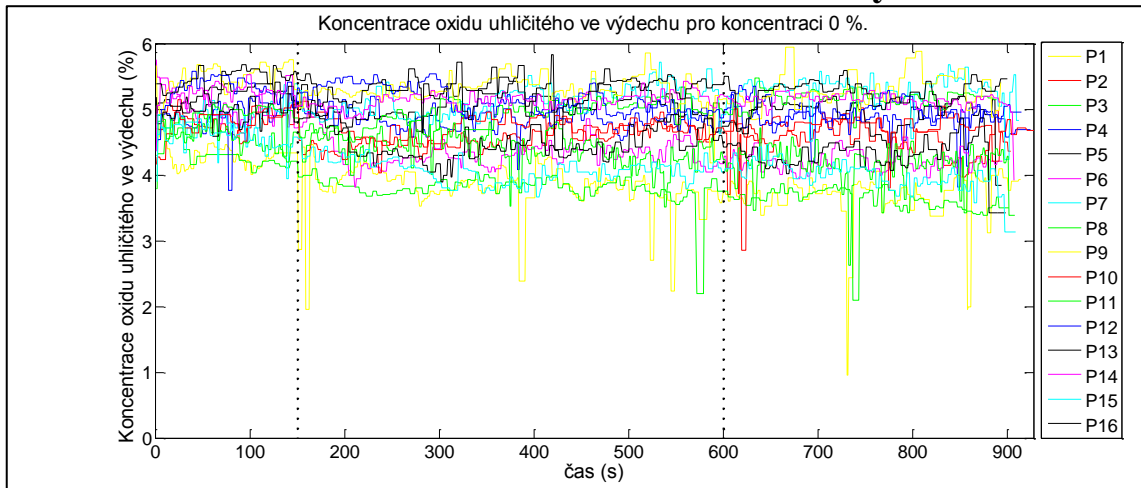


**Obrázek 49: Saturace periferní krve kyslíkem pro 15 %.**

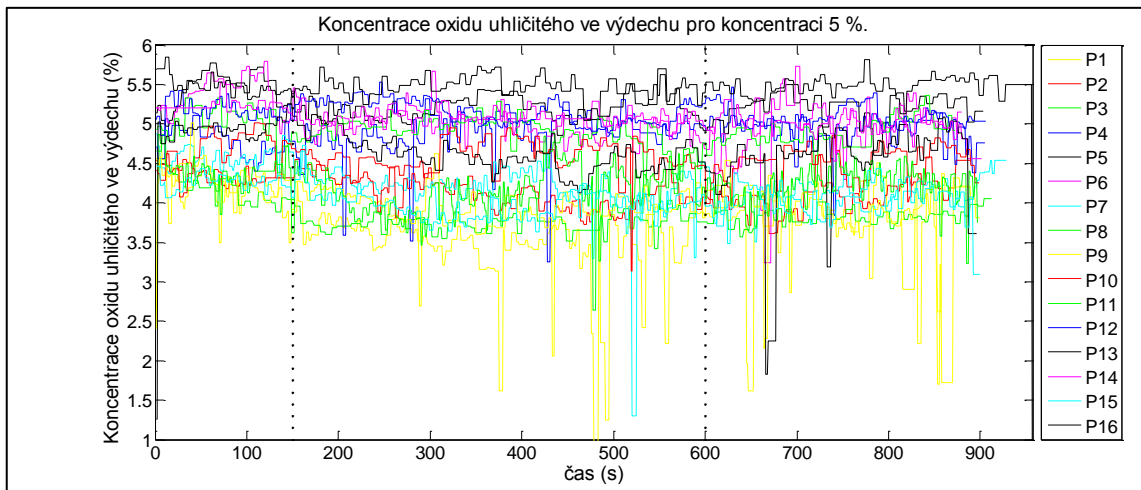


**Obrázek 50: Saturace periferní krve kyslíkem pro 20 %.**

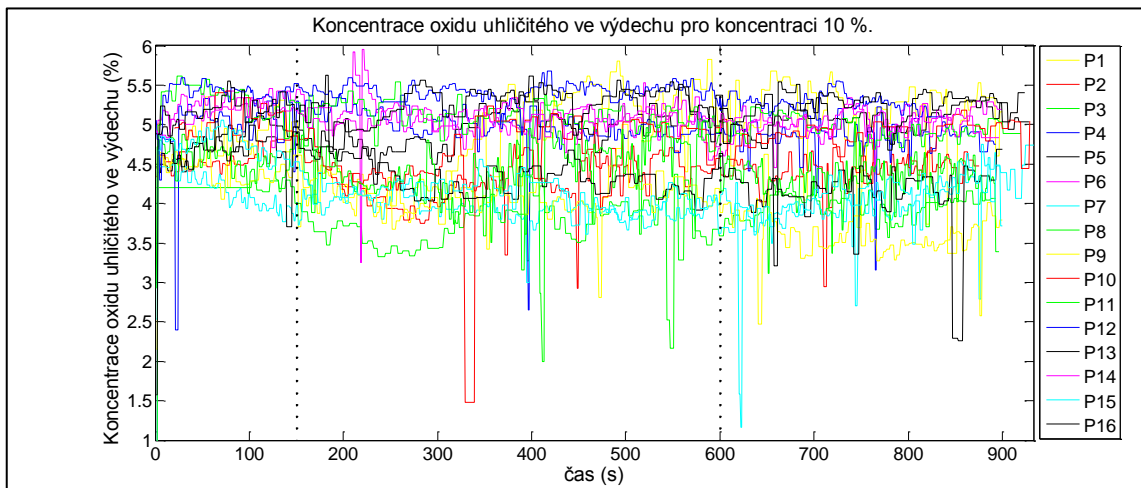
## Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu



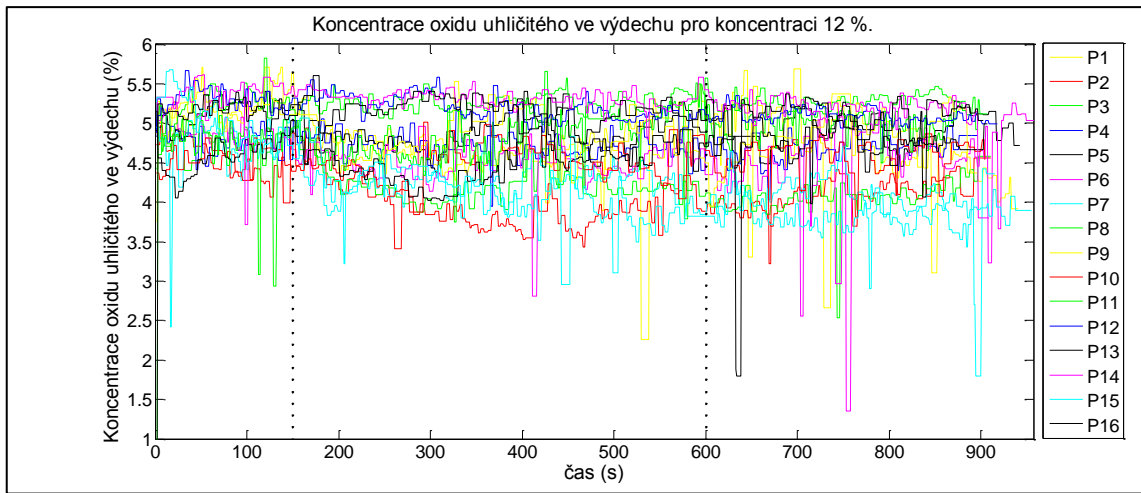
Obrázek 51: Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu pro 0 %.



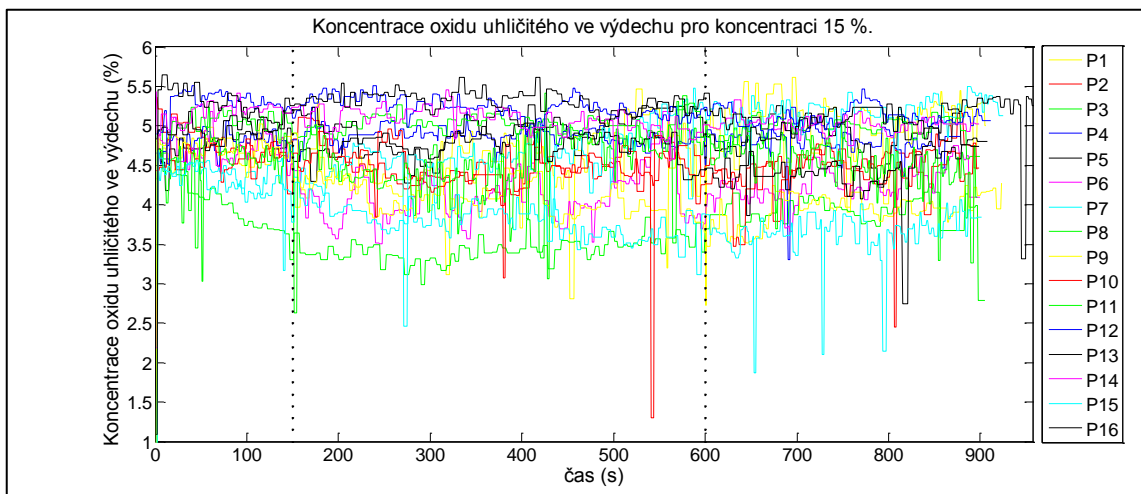
Obrázek 52: Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu pro 5 %.



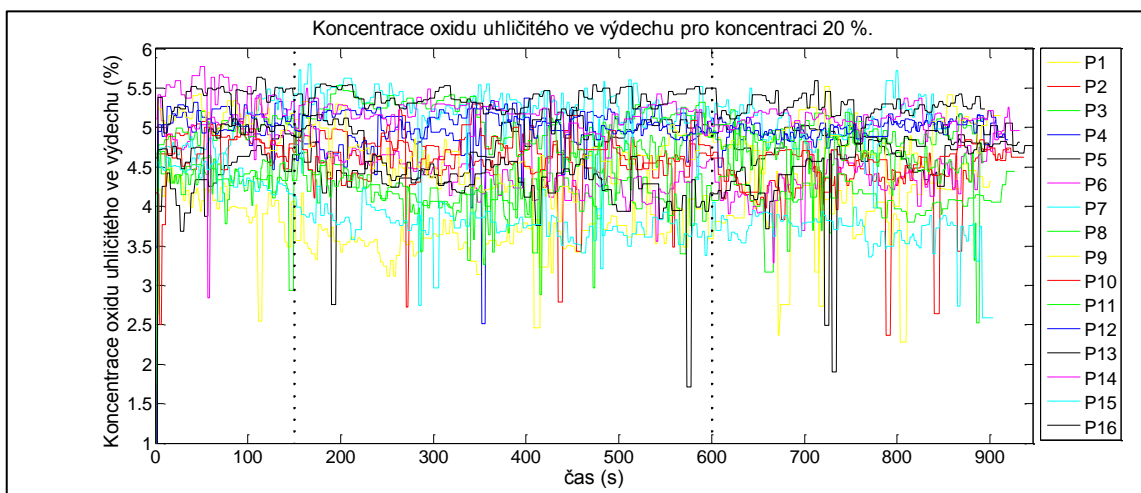
Obrázek 53: Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu pro 10 %.



**Obrázek 54: Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu pro 12 %.**

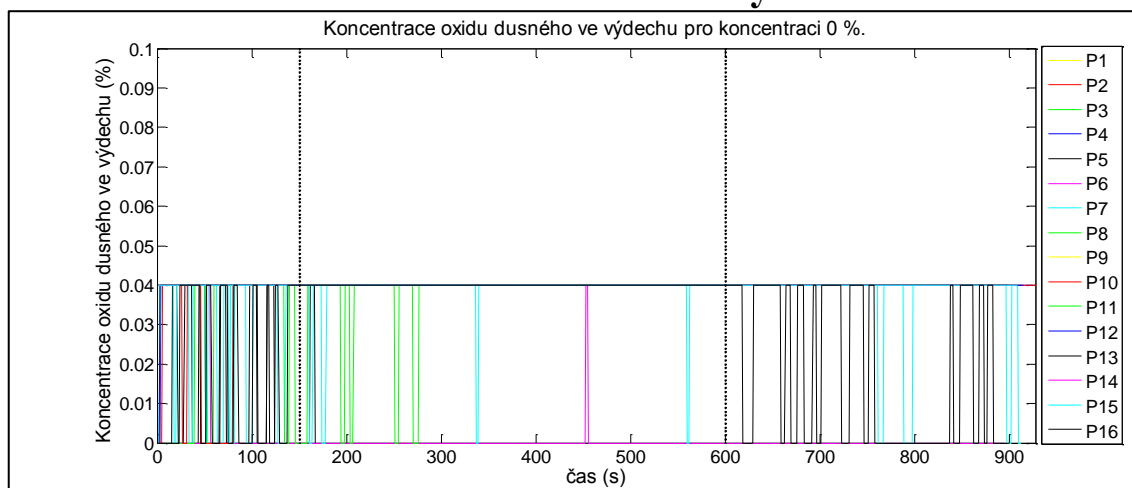


**Obrázek 55: Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu pro 15 %.**

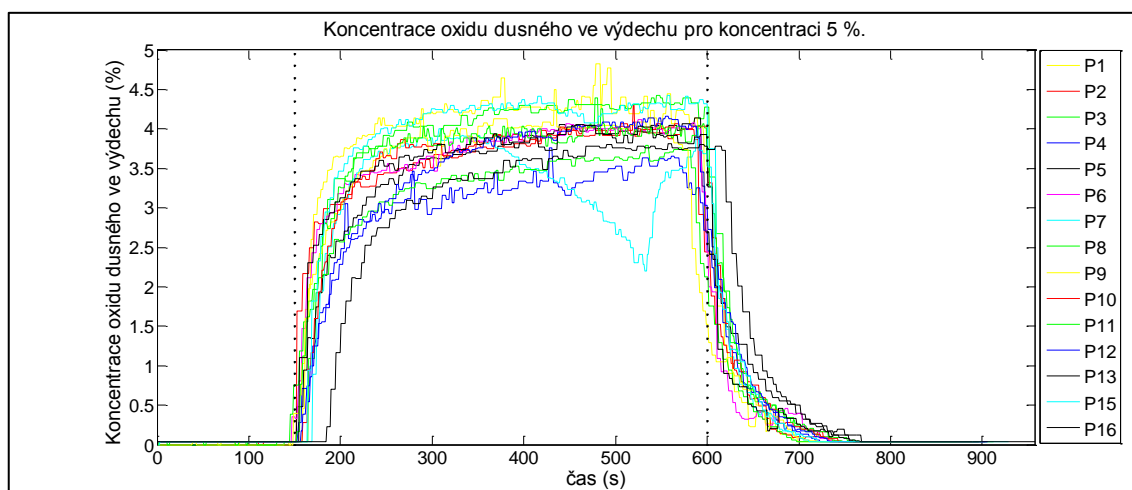


**Obrázek 56: Koncentrace oxidu uhličitého na konci výdechu pro 20 %.**

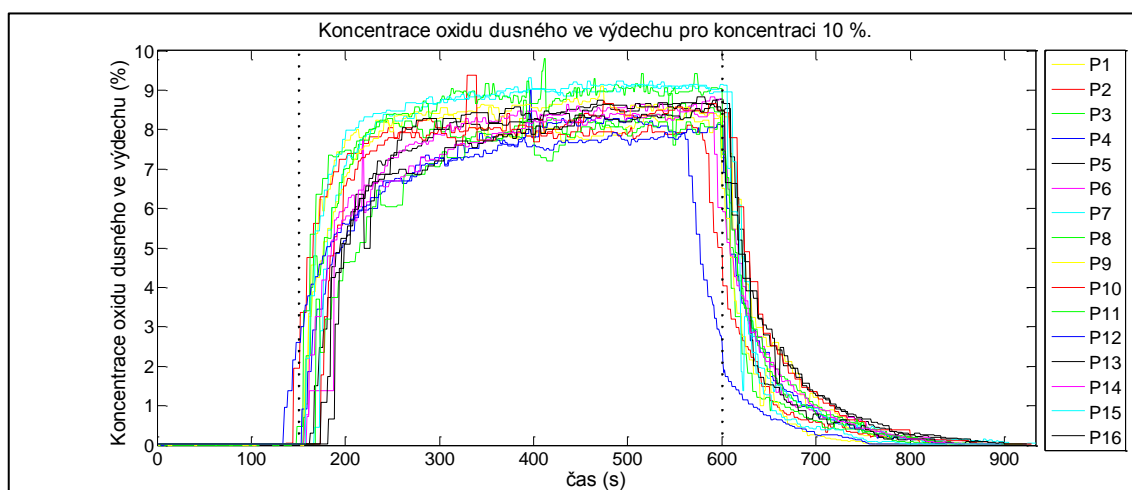
## Frakce oxidu dusného ve výdechu



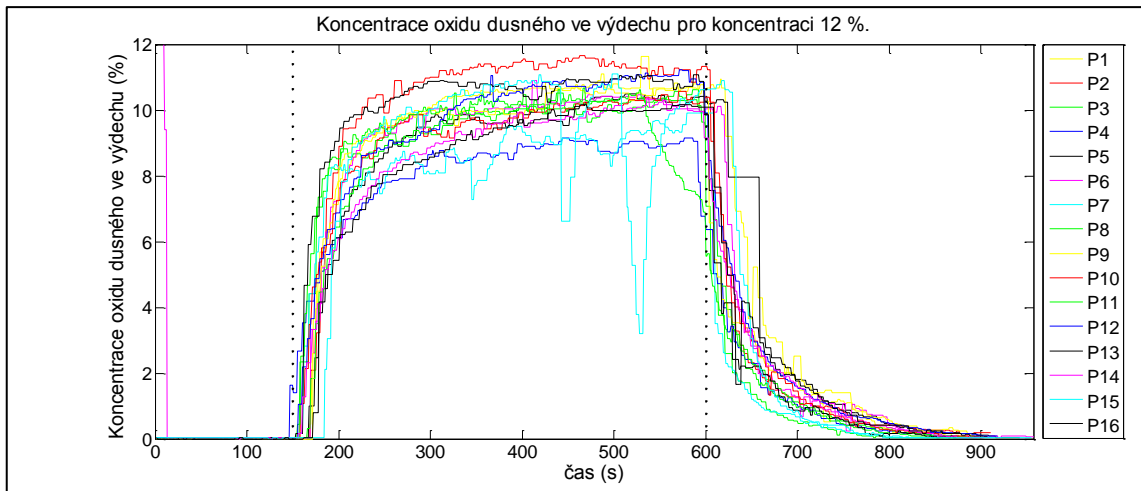
Obrázek 57: Frakce oxidu dusného ve výdechu pro 0 %.



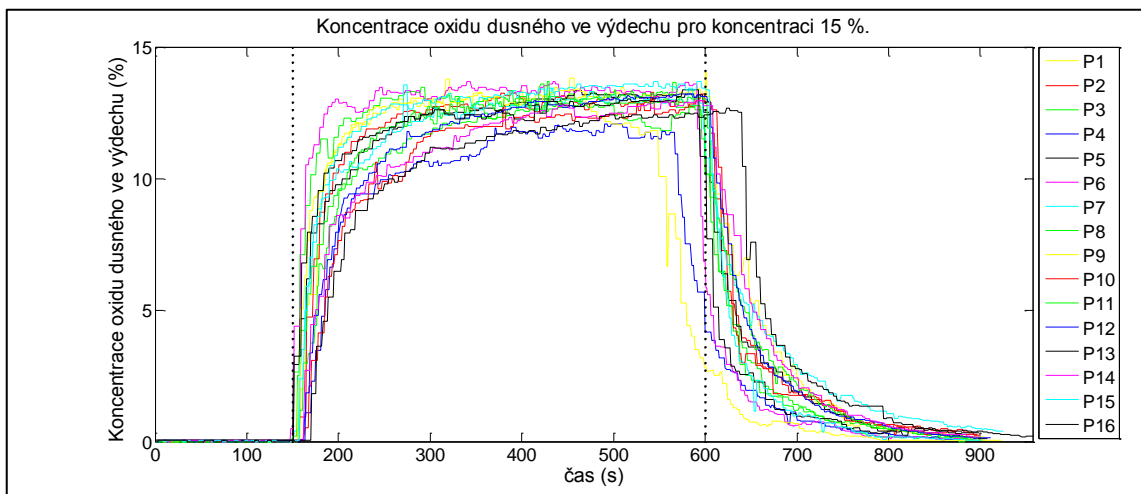
Obrázek 58: Frakce oxidu dusného ve výdechu pro 5 %.



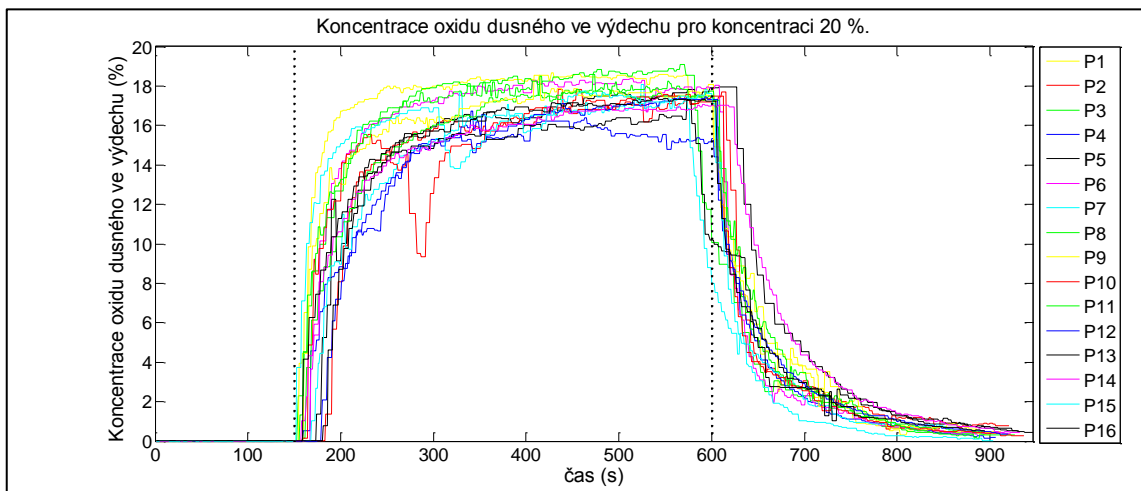
Obrázek 59: Frakce oxidu dusného ve výdechu pro 10 %.



**Obrázek 60: Frakce oxidu dusného ve výdechu pro 12 %.**

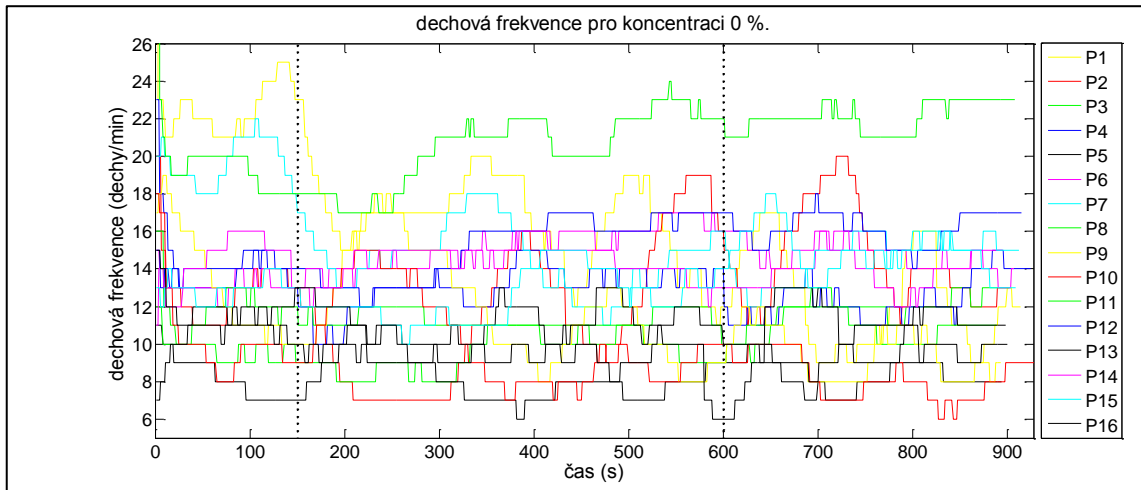


**Obrázek 61: Frakce oxidu dusného ve výdechu pro 15 %.**

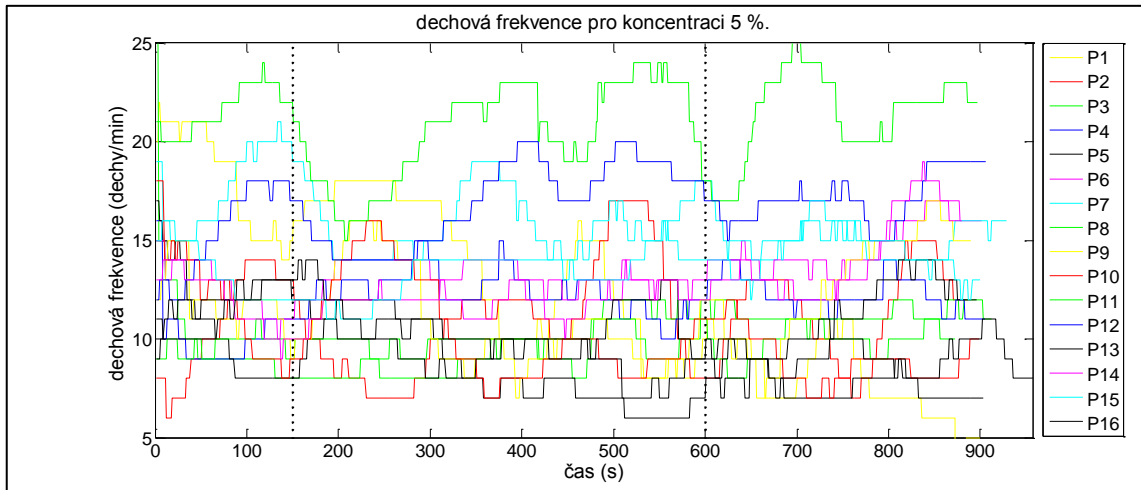


**Obrázek 62: Frakce oxidu dusného ve výdechu pro 20 %.**

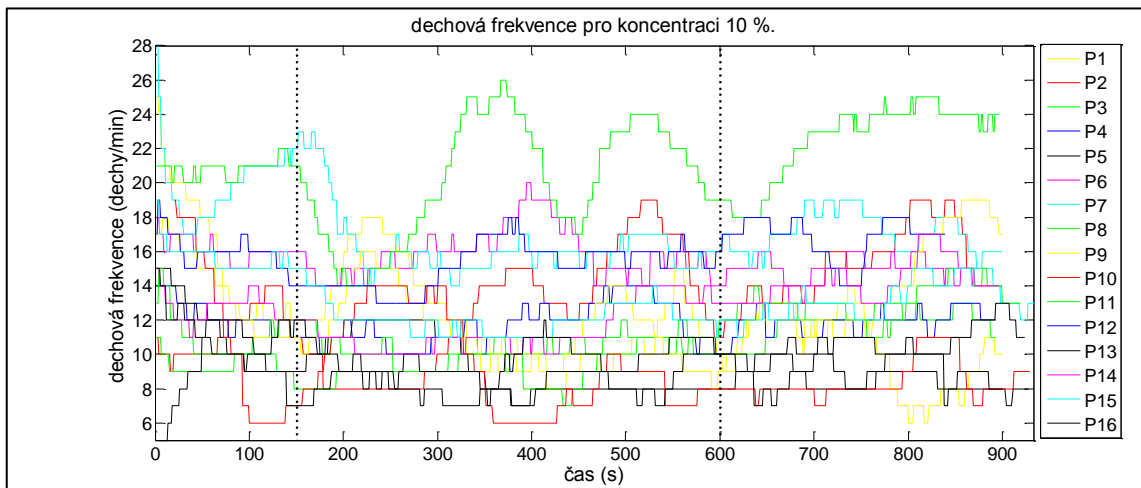
## Dechová frekvence



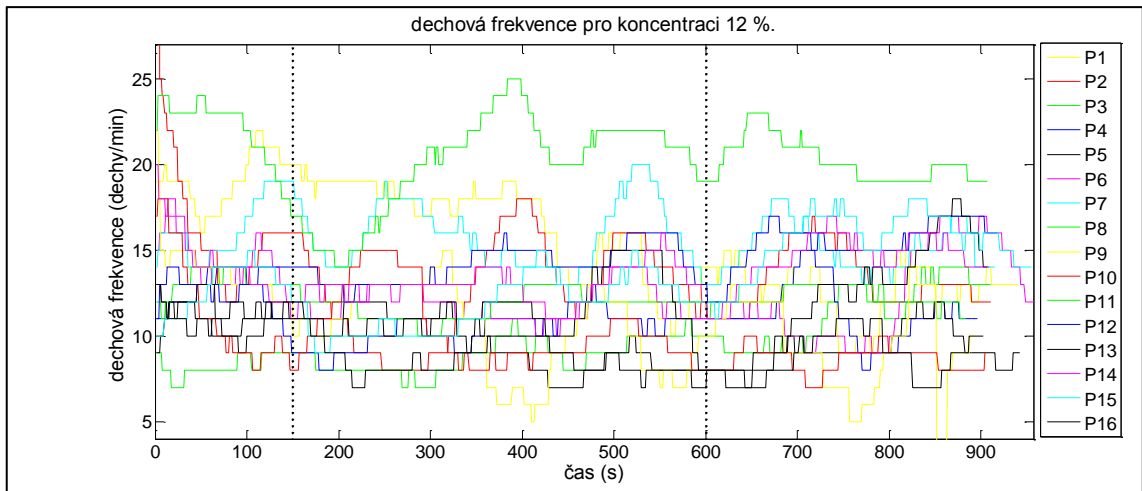
Obrázek 63: Dechová frekvence pro 0 %.



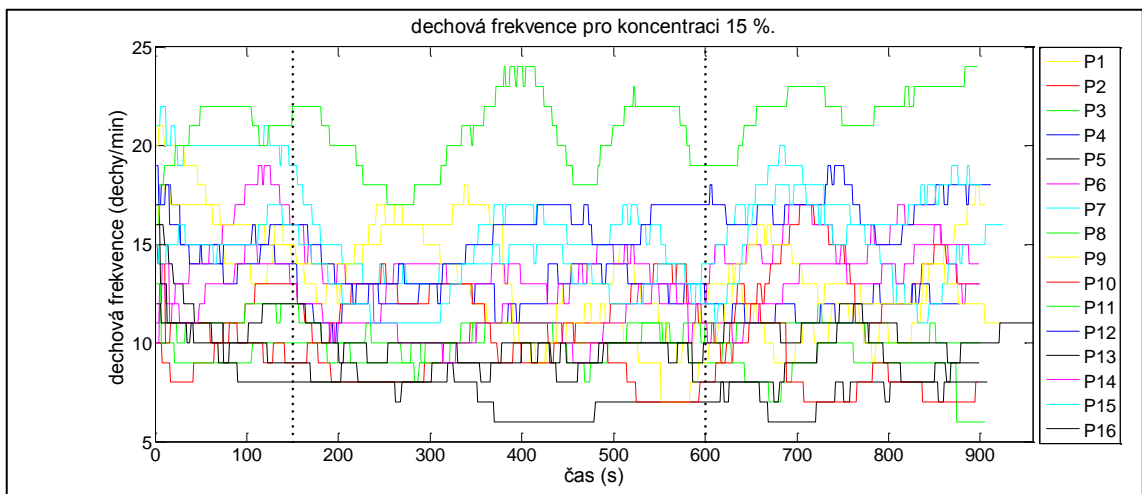
Obrázek 64: Dechová frekvence pro 5 %.



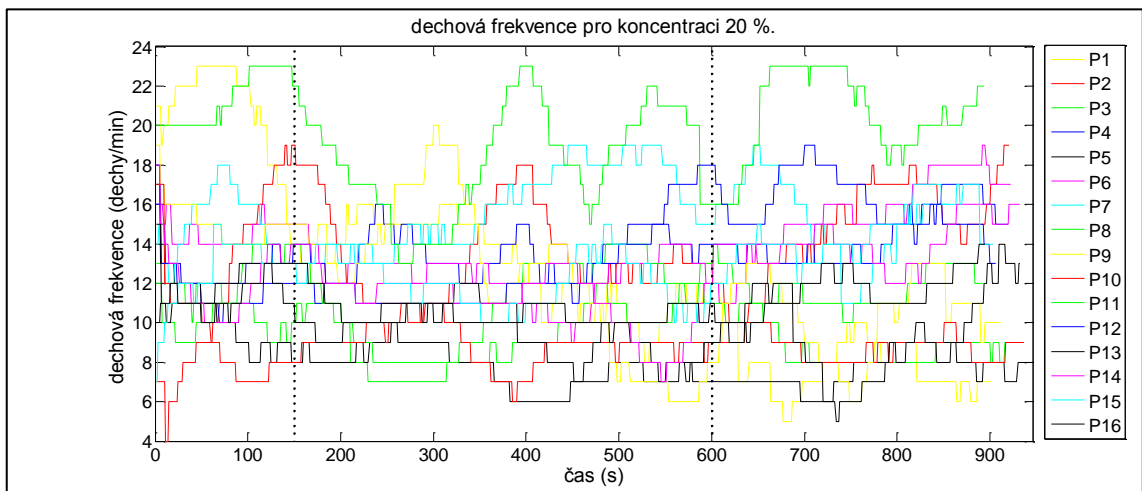
Obrázek 65: Dechová frekvence pro 10 %.



**Obrázek 66: Dechová frekvence pro 12 %.**

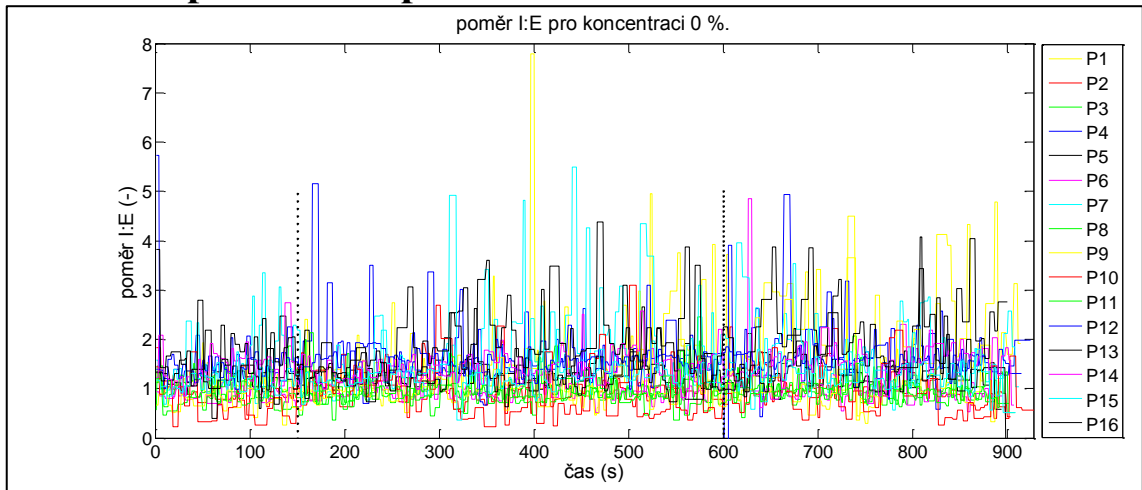


**Obrázek 67: Dechová frekvence pro 15 %.**

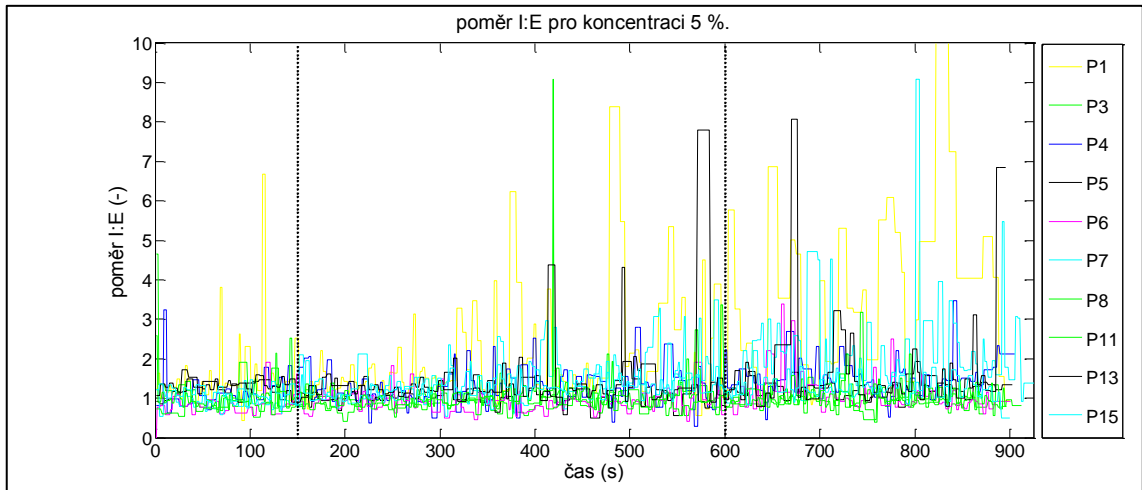


**Obrázek 68: Dechová frekvence pro 20 %.**

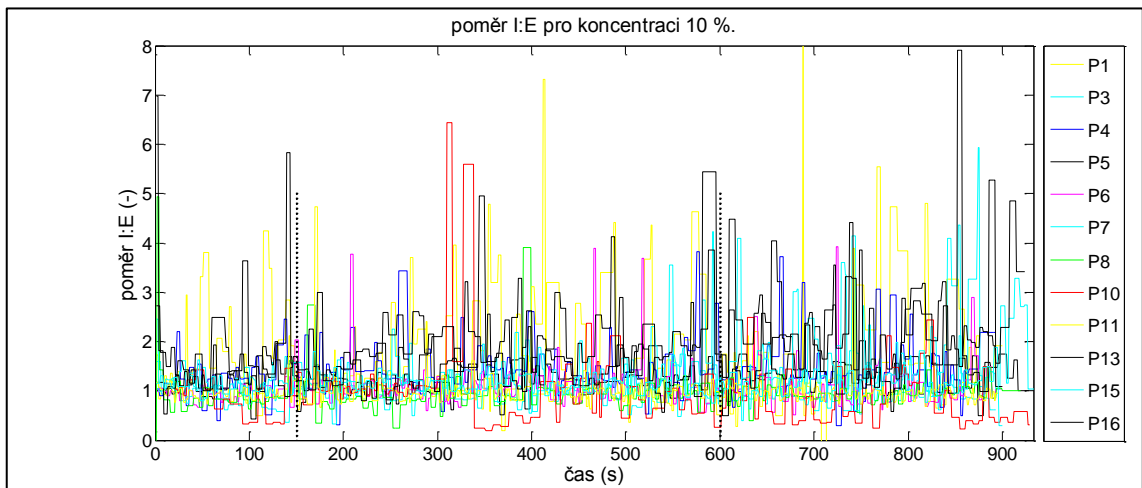
## Poměr inspiria ku expiriu



Obrázek 69: Poměr inspiria ku expiriu pro 0 %.

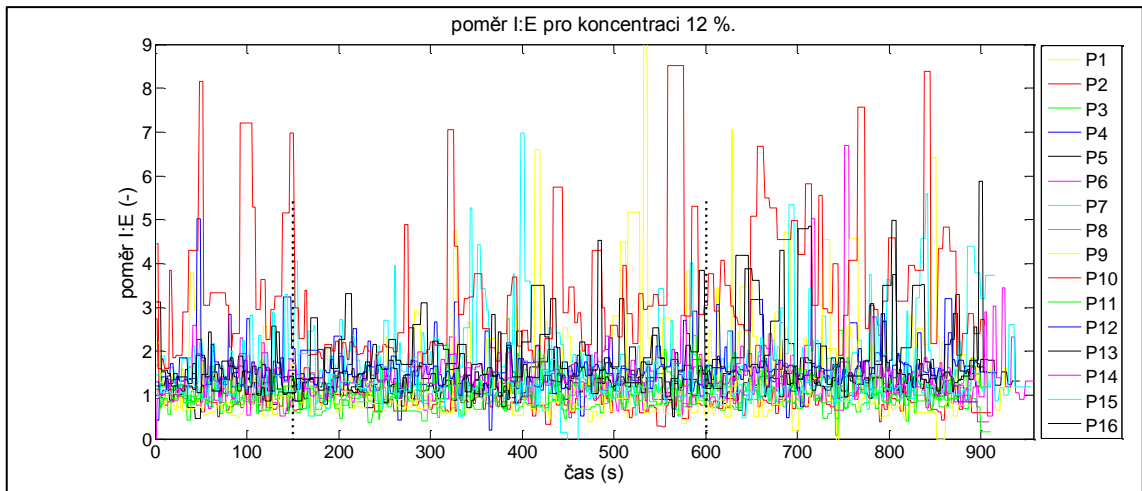


Obrázek 70: Poměr inspiria ku expiriu pro 5 %.

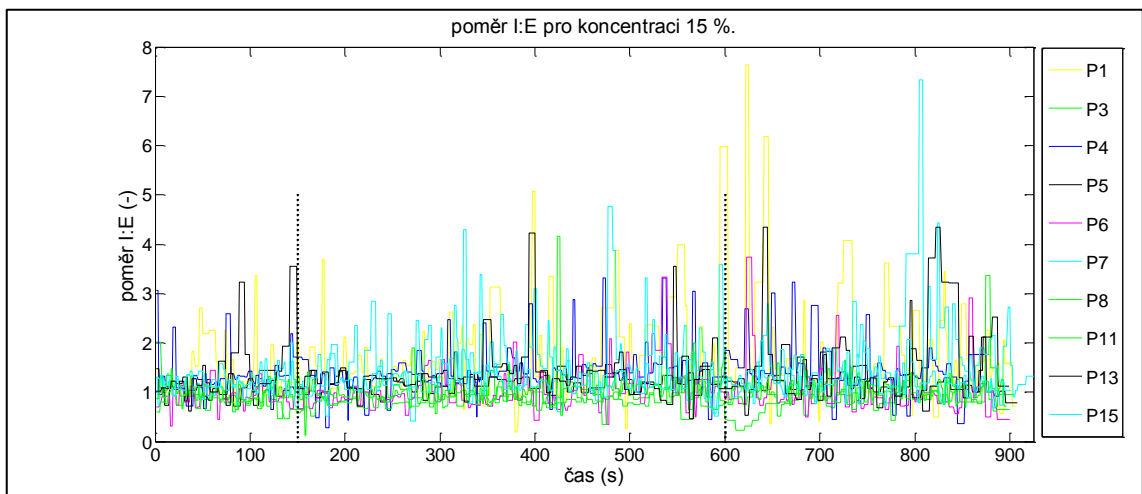


Obrázek 71: Poměr inspiria ku expiriu pro 10 %.

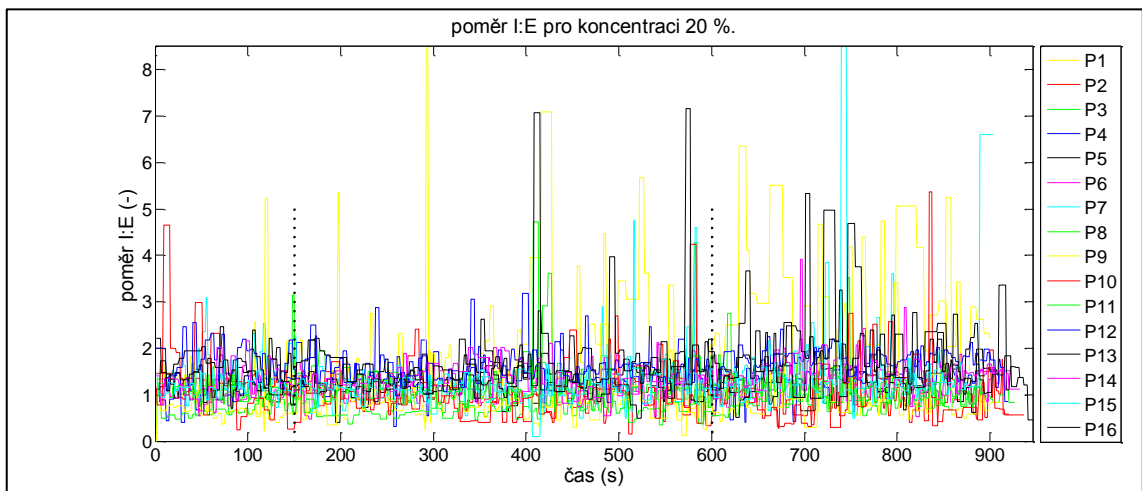




**Obrázek 72: Poměr inspiria ku expiriu pro 12 %.**

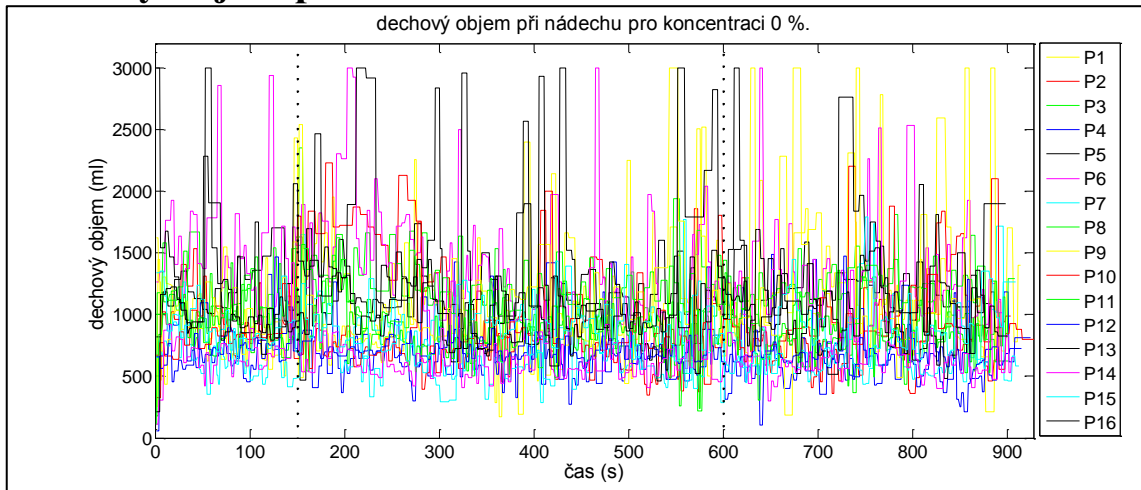


**Obrázek 73: Poměr inspiria ku expiriu pro 15 %.**

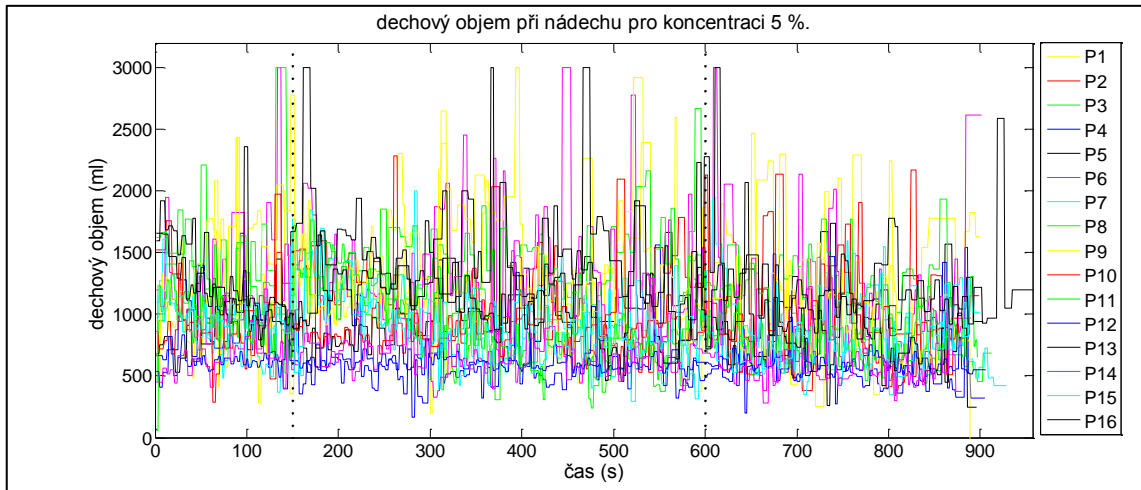


**Obrázek 74: Poměr inspiria ku expiriu pro 20 %.**

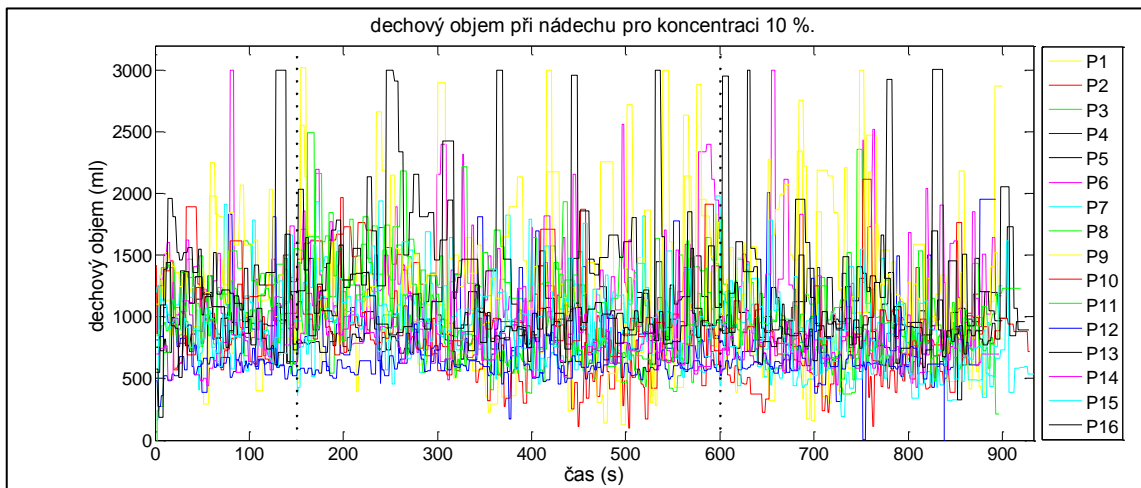
## Dechový objem při nádechu



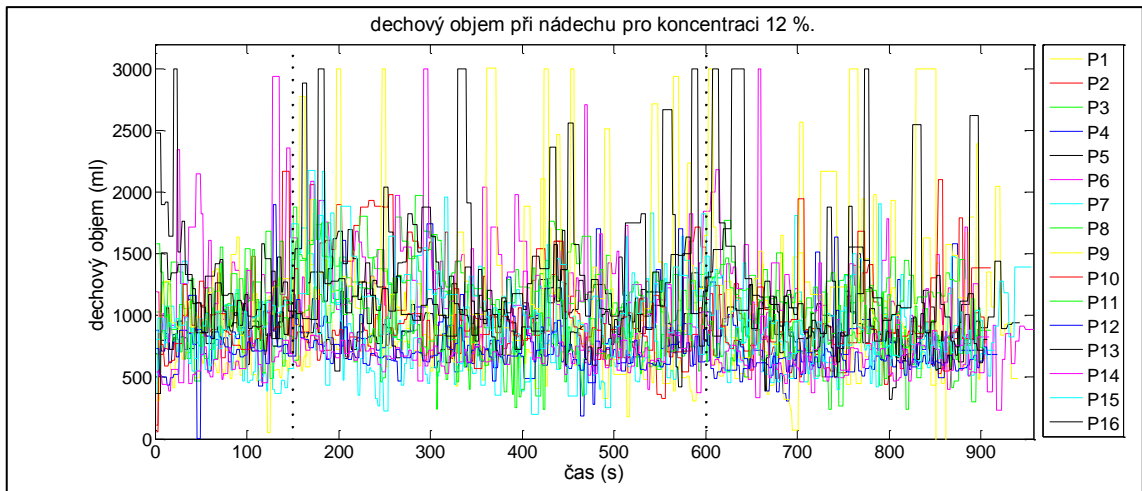
**Obrázek 75: Dechový objem při nádechu pro 0 %.**



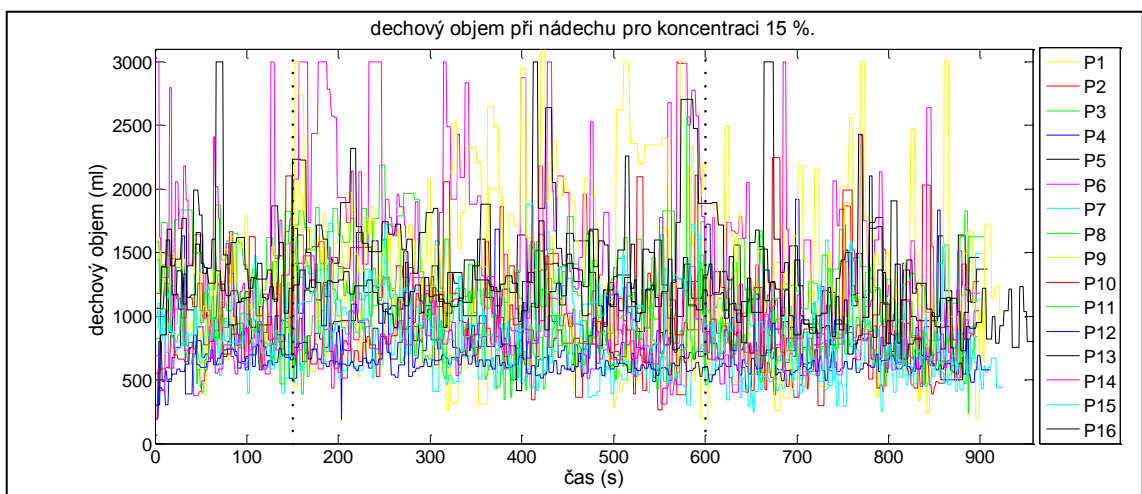
**Obrázek 76: Dechový objem při nádechu pro 5 %.**



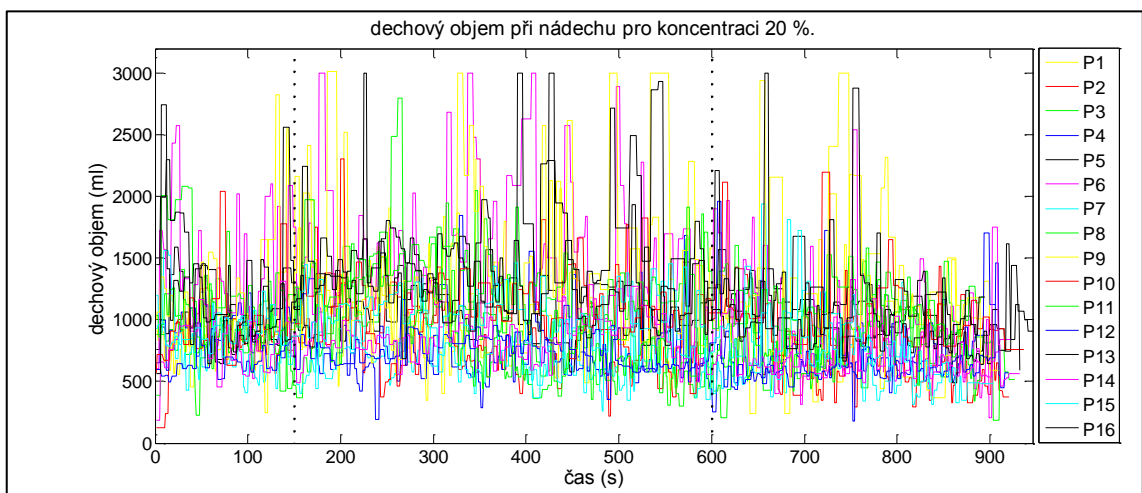
**Obrázek 77: Dechový objem při nádechu pro 10 %.**



**Obrázek 78: Dechový objem při nádechu pro 12 %.**

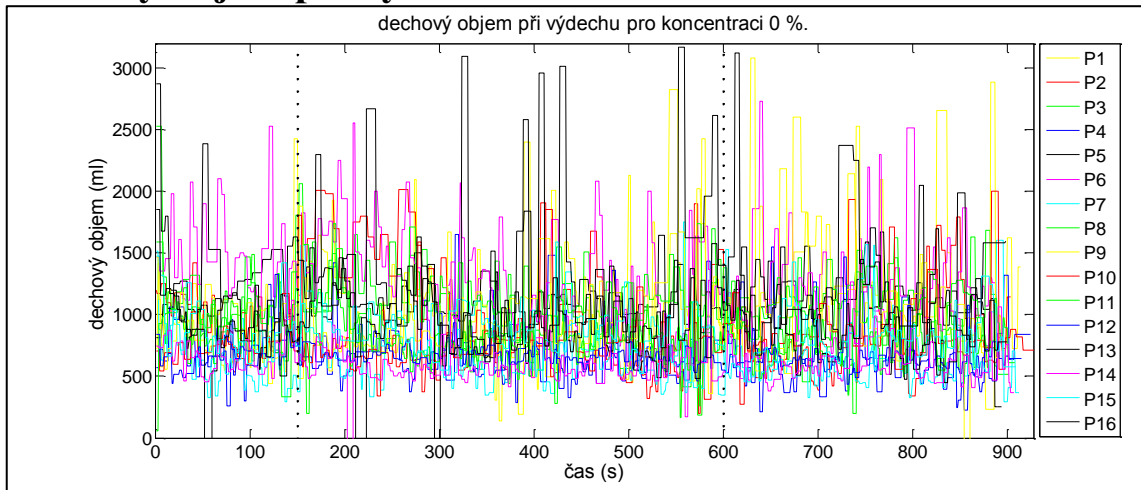


**Obrázek 79: Dechový objem při nádechu pro 15 %.**

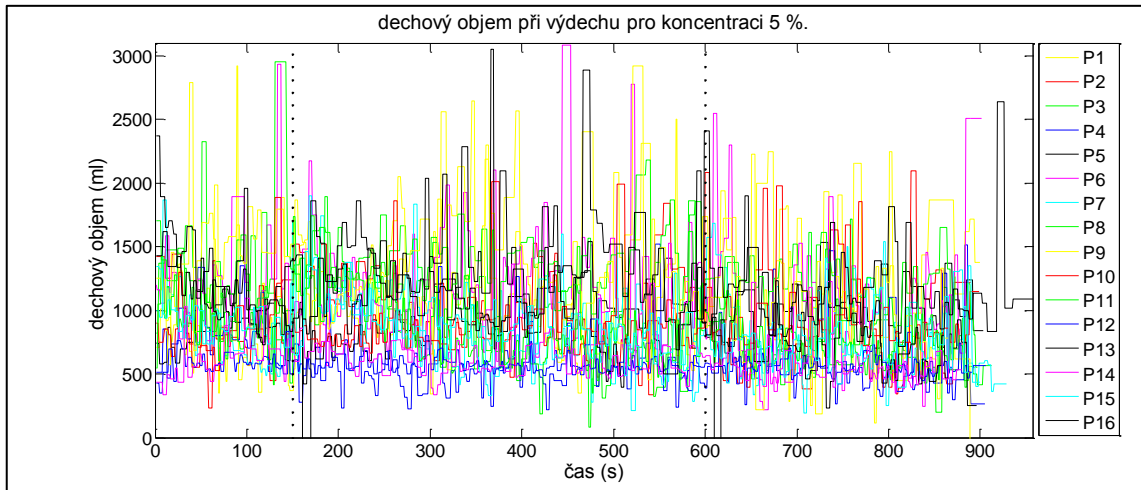


**Obrázek 80: Dechový objem při nádechu pro 20 %.**

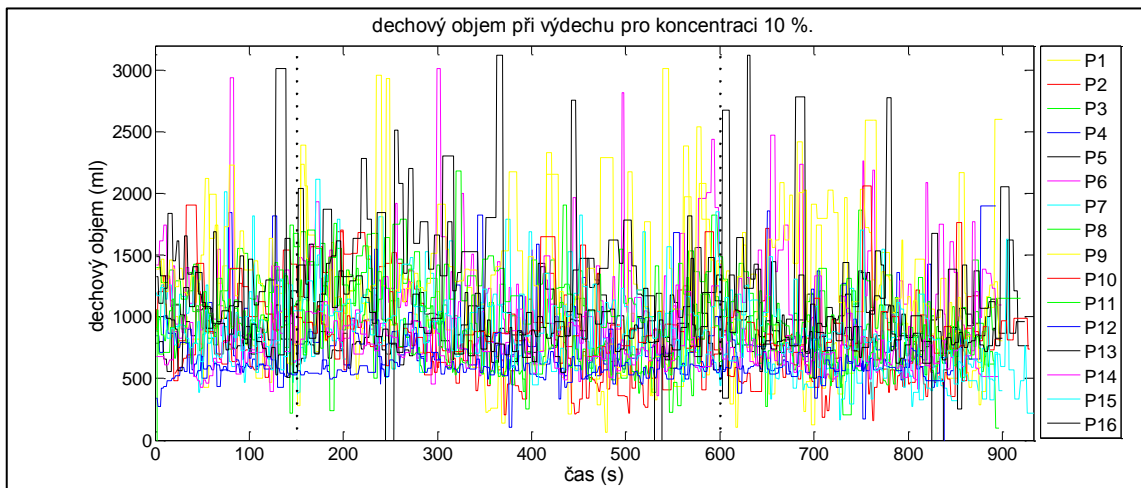
## Dechový objem při výdechu



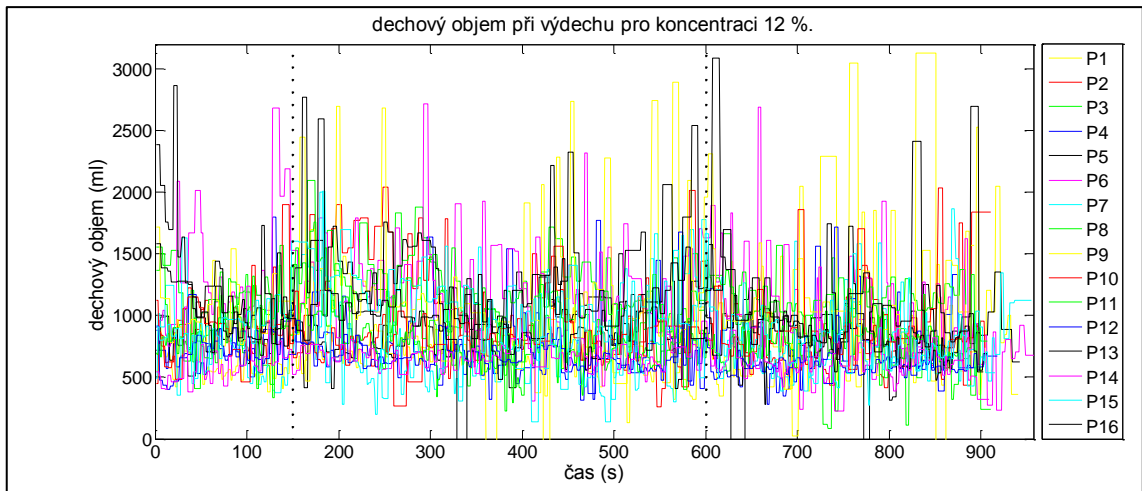
**Obrázek 81: Dechový objem při výdechu pro 0 %.**



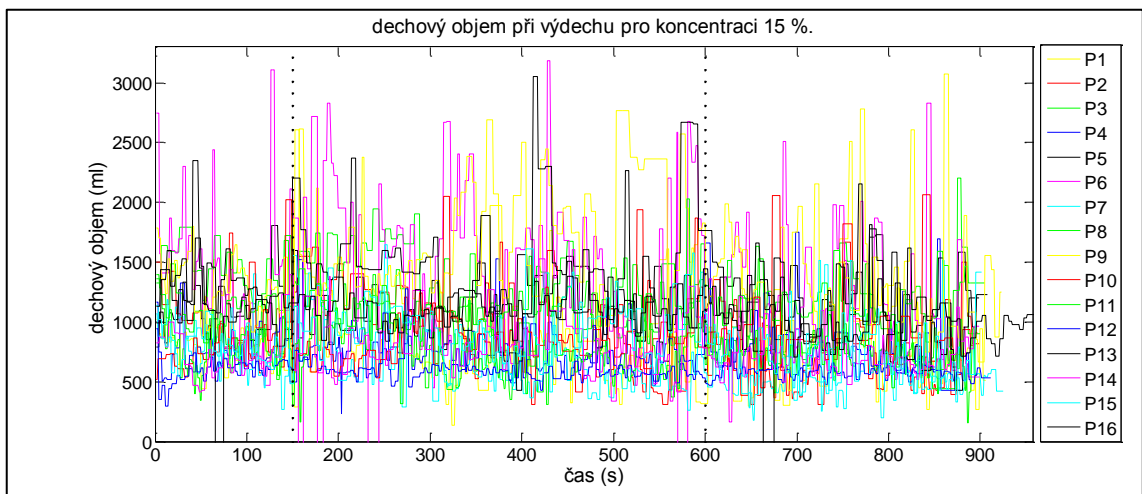
**Obrázek 82: Dechový objem při výdechu pro 5 %.**



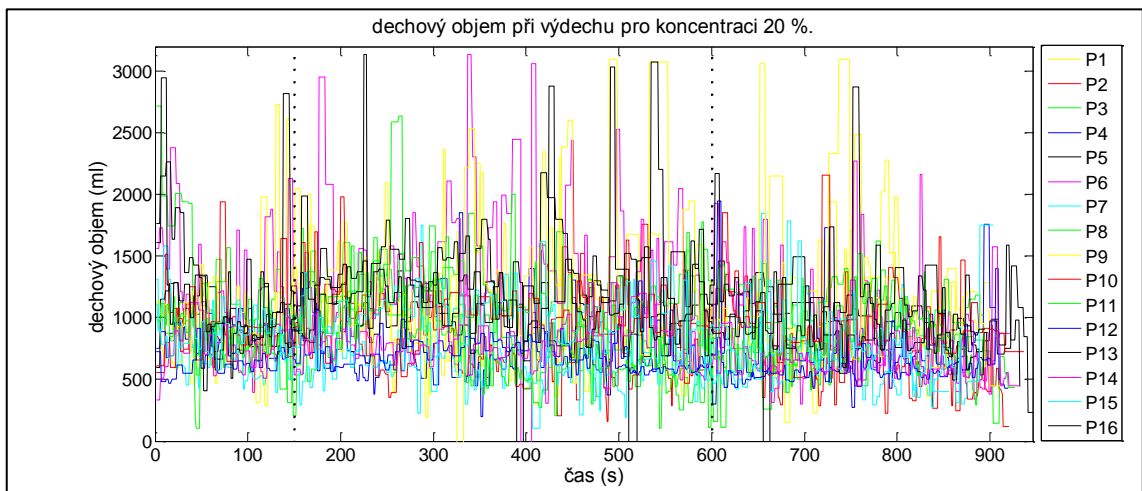
**Obrázek 83: Dechový objem při výdechu pro 10 %.**



**Obrázek 84: Dechový objem při výdechu pro 12 %.**



**Obrázek 85: Dechový objem při výdechu pro 15 %.**



**Obrázek 86: Dechový objem při výdechu pro 20 %.**

## **Příloha G: Obsah příloženého CD**