

УДК 615.21

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ РЕЦЕПТУРЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ЕЁ КОМПОНЕНТОВ

Н.Г. Венгерович¹, М.А. Юдин¹,
А.С. Никифоров¹, Г.С. Сагалов²,
М.С. Вахвияйнен³, А.А. Кузьмин¹

¹ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²ФГБОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ООО «Инновационная фармацевтическая компания «Сильвер Фарм», 195279, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

В эксперименте на крысах изучена анальгетическая активность агониста опиоидных рецепторов фентанила и центрального α_2 -адреномиметика дексмететомидина и характер их взаимодействия при введении в комбинации. Среднеэффективные обезболивающие дозы препаратов в тесте отдергивания хвоста от теплового излучения составили 54,5 и 22,5 мкг/кг, соответственно. Методом изоболографического анализа показано, что для комбинации с равными долями или большей долей фентанила тип взаимодействия препаратов характеризуется потенцированием. Разработана модель для прогнозирования значений вероятности развития анальгетического эффекта в зависимости от доз компонентов комбинации и выполнена ее проверка в эксперименте.

Ключевые слова: анальгезия, фентанил, дексмететомидин, изоболография, логистическая регрессия.

Введение. Прогнозирование эффективных доз препаратов в составе комбинированных средств для обезболивания является актуальной задачей как для клинического применения [1], так и для экспериментальных исследований. В настоящее время наиболее эффективными средствами обезболивания остаются агонисты опиоидных рецепторов. Однако на практике их часто сочетают с препаратами других фармакологических групп (ГАМК-агонисты, NMDA-блокаторы, α_2 -адреномиметики и другие) [4,5]. Данные клинических наблюдений и экспериментальных исследований последних лет свидетельствуют о высокой эффективности

использования агонистов α_2 -адренорецепторов в сочетании с фентанилом [13]. Преимуществом таких комбинаций перед остальными служит снижение дозировок агонистов опиоидных рецепторов и улучшение показателей фармакокинетики.

При исследовании новых комбинаций для обезболивания следует учитывать высокую вероятность взаимного потенцирования как со стороны эффективности, так и со стороны повышения токсичности. Для выявления типа взаимодействия препаратов в комбинациях, а также выбора диапазонов доз в экспериментальной фармакологии и токсикологии

Венгерович Николай Григорьевич (Vengerovich Nikolai Grigor'evich), кандидат медицинских наук, заместитель начальника отдела ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, nikhailai@vengerovich.ru

Юдин Михаил Анатольевич (Judin Mihail Anatol'evich), доктор медицинских наук, доцент по специальности токсикология, начальник отдела ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, mikhail.judin@gmail.com

Никифоров Александр Сергеевич (Nikiforov Aleksandr Sergeevich), доктор биологических наук, доцент по специальности токсикология, ведущий научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, nikiforov2004@mail.ru

Сагалов Георгий Сергеевич (Sagalov Georgij Sergeevich), интерн ФГБОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, г. Санкт-Петербург, sagalov022@mail.ru

Вахвияйнен Мария Сергеевна (Vahvijainen M.S.), научный сотрудник ООО «Инновационная фармацевтическая компания «Сильвер Фарм», 195279, г. Санкт-Петербург, kalmukova.spbu@gmail.com

Кузьмин Андрей Александрович (Kuzmin Andrej Aleksandrovich), кандидат медицинских наук, начальник управления ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург.

в качестве графического метода используется изоболография [6-13]. Данный подход позволяет использовать фиксированные соотношения доз каждого компонента и определять индекс фракционных эффективных доз (ИФД) [14] для различных заданных соотношений между двумя веществами. ИФД представляет собой соотношение $ED_{50} \text{ эксп} / ED_{50} \text{ теор}$ и отражает вариант и силу взаимодействия двух веществ. Значения ИФД менее 0,7 указывает на потенцирование эффектов, диапазон 0,7-1,3 – на суммацию действия, более 1,3 – на антагонистические свойства компонентов в комбинации.

Тем не менее, метод изоболографии не предусматривает возможность изменять заданные в начале эксперимента соотношения эффективных доз препаратов и их конкретные значения в составе одной комбинации, что ограничивает использование полученных результатов на практике.

Цель исследования состояла в изучении характера взаимодействия агониста опиоидных рецепторов фентанила с агонистом $\alpha 2$ -адренорецепторов дексмететомидином в тесте отдергивания хвоста от теплового излучения и построении математической модели для прогнозирования эффективности анальгезии комбинированной рецептуры на их основе в зависимости от количественного состава.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 144 белых нелинейных крысах-самцах массой 220-260 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Исследование проводили в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [15] и Правилами лабораторной практики [16].

В качестве модельных анальгетиков использовали субстанции фентанила и дексмететомидина. Анальгетическую активность препаратов и их комбинации исследовали в тесте отдергивания хвоста от теплового излучения на приборе «Tail-Flick Analgesia Apparatus» (Columbus Instruments, USA). Изучение эффективности фентанила и дексмететомидина по влиянию на порог возникновения боли проводили при их внутримышечном введении. Критерием болевого порога животных служил латентный период отдергивания хвоста [5]. Для каждого препарата в отдельности и их комбинаций фиксировали длительность обезболивания (мин), рассчитывали средне- и абсолютно эффективные дозы методом пробит-анализа по Финни.

Процедуры статистического анализа выполняли с помощью статистического пакета Statistica 12. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимали равным 0,05. В случае превышения

достигнутого уровня значимости статистического критерия этой величины принималась нулевая гипотеза. Проверку на нормальность распределения фактических данных осуществляли с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для сравнения центральных параметров групп использовали непараметрические методы. Для количественных признаков в сравниваемых группах производили оценку средних арифметических и среднеквадратических отклонений, для оценки взаимосвязи качественных признаков – изоболографию и множественную логистическую регрессию.

Результаты и обсуждение. В экспериментах на крысах исследована анальгетическая активность фентанила и дексмететомидина при внутримышечном введении в диапазоне доз 31,6–100 и 10–100 мкг/кг, соответственно. При этом ED_{50} и ED_{99} для агониста опиоидных рецепторов составили $54,5 \pm 6,9$ и $98,96$ мкг/кг, для центрального агониста $\alpha 2$ -адренорецепторов – $22,5 \pm 5,17$ и $62,4$ мкг/кг. В отличие от фентанила анальгетическое действие дексмететомидина было более продолжительным. Обезболивающий эффект дексмететомидина наблюдали в период с 15 по 45 минуту после введения препарата, в то время как максимум обезболивающего действия агониста опиоидных рецепторов регистрировали на 5-10 минуту наблюдения.

При оценке взаимодействия препаратов в комбинации были изучены следующие соотношения долей среднеэффективных доз фентанила к дексмететомидину: 0,75:0,25; 0,5:0,5; 0,25:0,75. Для каждого соотношения доз препаратов при внутримышечном введении крысам в составе комбинаций были определены средние эффективные дозы по наступлению анальгезии. Графическое представление расчетных значений ($ED_{50} \text{ теор}$) и фактических значений ($ED_{50} \text{ экс}$) среднеэффективных доз комбинаций полученных в эксперименте приведено на рисунке.

Показано, что полученные в эксперименте среднеэффективные дозы существенно ниже расчетных, что подтверждается их расположением ниже линии аддитивности. Наиболее выраженным обезболивающим эффектом обладают комбинации с большей долей агониста опиоидных рецепторов.

Расчетные и фактические величины среднеэффективных доз препаратов в комбинациях с различным соотношением долей препаратов, а также ИФД представлены в таблице 1.

Показано, что при использовании соотношения среднеэффективных доз фентанила к дексмететомидину 0,25:0,75 тип взаимодействия препаратов характеризуется суммацией эффекта, тогда как в остальных соотношениях – потенцированием обезболивания.

На основании проведенных экспериментов была разработана модель для прогноза значений вероятности развития анальгетического эффекта по двум предикторным переменным. В качестве бинарной переменной отклика z был выбран анальгетический эффект в тесте отдергивания хвоста от теплового излучения, в качестве предикторов, влияющих на результат, были определены дозы препаратов. Для оценки связи между двумя непрерывными предикторными переменными и одной категориальной переменной использовалась множественная логистическая регрессия.

Вероятность анальгезии = $1/1+e^{-z}$

При построении модели ее уровень значимости был меньше 0,001, значение статистики χ^2 для разницы между текущей моделью и моделью, содержащей только свободный член, составило 42,8.

Результаты логистической регрессии представлены в таблице 2.

Уравнение логистической регрессии имело следующий вид: $z = \exp(3,965 + (0,1473 \times x) + (0,1866 \times y)) / (1 + \exp(-3,965 + (0,1473 \times x) + (0,1866 \times y)))$, $n=78$. Далее методом перебора по заданной вероятности с необходимым уровнем допуска проводили подбор оптимальных доз. Для каждого возможного значения первого предиктора (от указанных минимальных к максимальным значениям с запланированной точностью) анализировали все возможные значения второго.

При экспериментальной проверке работоспособности модели доля от ED_{50} фентанила была зафиксирована в диапазоне 0,125-0,5 для вероятностей развития анальгетического эффекта 95 и 99 % (табл. 3).

Было показано, что при вероятности 95-99 %

в исследуемых выборках устойчивое обезболивание на протяжении 30 минут после внутримышечного введения препаратов наблюдается у всех животных. При этом минимальная суммарная доза препаратов, входящих в комбинацию, составила 39,64 мкг/кг, что было меньше ED_{99} для каждого из препаратов в отдельности. Аналогичный эффект был достигнут в других экспериментальных выборках.

Заключение. Разработанная модель прогнозирования эффективности комбинированной рецептуры на основе фентанила и дексмететомидина обеспечивает достижение необходимой заданной вероятности развития

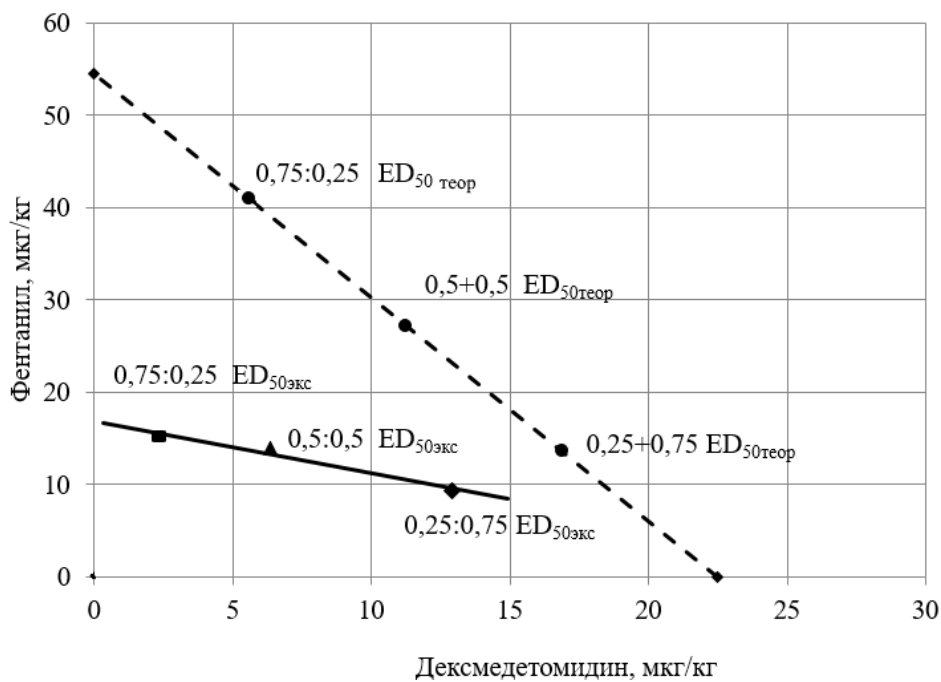


Рис. Изоболограмма взаимодействия фентанила и дексмететомидина в различных соотношениях доз каждого препарата (--- теоретическая изоболога эффективности, — экспериментальная изоболога эффективности)

Таблица 1

Расчетные и фактические величины среднеэффективных доз комбинаций с различным соотношением долей препаратов и их ИФД (n=78, M±SD)

Комбинации препаратов	Соотношения среднеэффективных доз препаратов	ED ₅₀ теор, мкг/кг	ED ₅₀ экс, мкг/кг	ИФД
Фентанил+ дексмететомидин	0,75:0,25	46,5	17,51±3,78	0,38
	0,5:0,5	38,5	20,27±4,02	0,53
	0,25:0,75	30,5	22,331±4,19	0,73

Таблица 2

Отчет о множественной логистической регрессионной модели с двумя предикторными переменными

Переменная	Свободный член	Доза фентанила	Доза дексметомидина
Коэффициент (β)	-3,965	0,1866	0,1473
Стандартная ошибка	0,9165	0,0462	0,054
Статистика критерия Вальда χ^2	-	16,3083	7,46482
Достигнутый уровень значимости	-	<0,001	0,008
Отношение шансов	-	1,2051	1,1587
95 % доверительный интервал отношения шансов	-	(1,099-1,321)	(1,041-1,290)

Таблица 3

Результаты экспериментальной проверки работоспособности разработанной модели

Доля от ED ₅₀ фентанила	Доля от ED ₅₀ дексметомидина	Рассчитанная вероятность, %	Суммарная дозовая нагрузка, мкг/кг	Доля животных с анальгезией на 30 мин, %
0,500	0,551	95	39,64	100-17
	1,049	99	50,84	100-17
0,375	0,937	95	41,47	100-17
	1,436	99	52,68	100-17
0,25	1,317	95	43,22	100-17
	1,818	99	54,49	100-17
0,125	1,702	95	45,1	100-17
	2,200	99	56,3	100-17

обезболивающего эффекта для различного соотношения долей среднеэффективных доз. Использование разработанной модели позволяет варьировать доли каждого препарата в зависимости от конкретных целей эксперимента, снижать общую дозовую нагрузку. Применение комбинаций с расчетом доз в рамках предложенной модели позволяет снизить дозу агониста опиоидных рецепторов более чем на 72 %. В результате проведенных экспериментальных исследований показано, что комбинации в различных соотношениях доз (с вероятностью эффекта 95 %

и выше) позволяют добиться пролонгирования обезболивающего действия с 15 до 30 минут, что соответствует продолжительности анальгезии для дексметомидина при его применении в моноварианте. Практическое применение модели возможно при проведении экспериментальных исследований, требующих развития стойкой анальгезии и позволит нивелировать побочные эффекты α 2-адреномиметика, такие как гипотония и брадикардия, с другой стороны снизить вероятность угнетения дыхательного центра, вызванное агонистом опиоидных рецепторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волков П.А., Чурадзе Б.Т., Севалкин С.А. и др. Дексмететомидин как составляющая анальгетического компонента общей анестезии при лапароскопических операциях. *Анестез. и реаним.* 2015; 60: 4-8.
 2. Hung C.H., Chiu C.C., Liu K.S. et al. Clonidine as an adjuvant for propranolol enhances its effect on infiltrative cutaneous analgesia in rats. *Neurosci. Lett.* 2016; 29: 70-74.
 3. Chen Y.W., Chiu C.C., Wei Y.L. et al. Propranolol combined with dopamine has a synergistic action in intensifying and prolonging cutaneous analgesia in rats. *Pharmacol. Rep.* 2015; 67 (6): 93-97
 4. Farghaly H.S., Abd-Elattief R.B., Moftah M.Z. et al. The effects of dexmedetomidine alone and in combination with tramadol or amitriptyline in a neuropathic pain model pain physician. *Pain Physician.* 2014; 17: 187-195.

5. Gudin J.A., Mogali S., Jones J.D. et al. Risks, management, and monitoring of combination opioid, benzodiazepines, and/or alcohol use. *Postgrad Med.* 2013; 125 (4): 115-130.
 6. Uzumcugil F., Canbay O., Celebi N. et al. Comparison of dexmedetomidine-propofol vs. fentanyl-propofol for laryngeal mask insertion. *Eur. J. Anaesthesiol.* 2008; 25: 675-680.
 7. Feld J., Hoffman W.E., Paisansathan C. et al. Autonomic activity during dexmedetomidine or fentanyl infusion with desflurane anesthesia. *J. Clin. Anesth.* 2007; 19: 30-36.
 8. Feld J.M., Hoffman W.E., Stechert M.M. et al. Fentanyl or dexmedetomidine combined with desflurane for bariatric surgery. *Clin. Anesth.* 2006; 18: 24-28.
 9. Кацнельсон Б.А., Казмер Ю.И., Вараксин А.Н. и др. К методологии

оценки типа комбинированной токсичности на основе данных эколого-эпидемиологического исследования. *Токс. вест.* 2011; 3: 2-6.
 10. Казмер Ю.И., Кацнельсон Б.А., Вараксин А.Н. Методика определения типа комбинированной токсичности на основе эпидемиологических данных. *Информат. и сист. упр.* 2010; 24 (2): 131-134.
 11. Tallarida, R.J. Statistical analysis of drug combinations for synergism. *Pain.* 1992; 49: 93-97.
 12. Porecca F., Jiang Q., Tallarida R. Modulation of morphine antinociception by peripheral [Leu5] enkephalin: a synergistic interaction. *Eur. J. Pharmacology.* 1990; 179: 463-468.
 13. Luszczycki J.J., Andres M.M., Czuczwar P. et al. Pharmacodynamic and pharmacokinetic characterization of interactions between Levetiracetam and numerous antiepileptic drugs in the mouse

maximal electroshock seizure model: an isobolographical analysis. *Epilepsia.* 2006; 47: 10-20.
 14. Карпова М.Н., Абросимов И.Ю., Крыжановский Г.Н. Эффективность сочетанного применения некоторых блокаторов потенциалзависимых и рецепторактивируемых Са-каналов с различными антиэпилептическими препаратами. *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* 1997; 124 (7): 46-49.
 15. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К. 2012.
 16. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (Минздравсоцразвития России) от 23 августа 2010 г. N 708н г. Москва «Об утверждении Правил лабораторной практики». Available at <http://rg.ru/2010/10/22/laboratornaya-praktika-dok.html>

REFERENCES:

1. Volkov P.A., Churadze B.T., Sevalkin S.A. et al. Dexmedetomidine as a component of the analgesic component of general anesthesia for laparoscopic surgery. *Anesteziology i reanimatologiya.* 2015; 60 (1): 4-8.
 2. Hung C.H., Chiu C.C., Liu K.S. et al. Clonidine as an adjuvant for propranolol enhances its effect on infiltrative cutaneous analgesia in rats. *Neurosci. Lett.* 2016; 29: 70-74.
 3. Chen Y.W., Chiu C.C., Wei Y.L. et al. Propranolol combined with dopamine has a synergistic action in intensifying and prolonging cutaneous analgesia in rats. *Pharmacol. Rep.* 2015; 67 (6): 93-97.
 4. Farghaly H.S., Abd-Elattief R.B., Moftah M.Z. et al. The effects of dexmedetomidine alone and in combination with tramadol or amitriptyline in a neuropathic pain model pain physician. *Pain Physician.* 2014; 17:

187-195.
 5. Gudin J.A., Mogali S., Jones J.D. et al. Risks, management, and monitoring of combination opioid, benzodiazepines, and/or alcohol use. *Postgrad Med.* 2013; 125 (4): 115-130.
 6. Uzumcugil F., Canbay O., Celebi N. et al. Comparison of dexmedetomidine-propofol vs. fentanyl-propofol for laryngeal mask insertion. *Eur. J. Anaesthesiol.* 2008; 25: 675-680.
 7. Feld J., Hoffman W.E., Paisansathan C. et al. Autonomic activity during dexmedetomidine or fentanyl infusion with desflurane anesthesia. *J. Clin. Anesth.* 2007; 19: 30-36.
 8. Feld J.M., Hoffman W.E., Stechert M.M. et al. Fentanyl or dexmedetomidine combined with desflurane for bariatric surgery. *Clin. Anesth.* 2006; 18: 24-28.
 9. Katsnel'son B.A., Kazmer Yu.I., Varaksin A.N. et al. By the methodology

for assessing the toxicity of the combined type, based on eco-epidemiological study data. *Toksikologicheskiy vestnik.* 2011; 3: 2-6.
 10. Kazmer Yu.I., Katsnel'son B.A., Varaksin A.N. Methods of determining the types of combined toxicity on the basis of epidemiological data. *Informatika i sistemy upravleniya.* 2010; 2 (24): 131-134.
 11. Tallarida R.J. Statistical analysis of drug combinations for synergism. *Pain.* 1992; 49: 93-97.
 12. Porecca F., Jiang Q., Tallarida R. Modulation of morphine antinociception by peripheral [Leu5] enkephalin: a synergistic interaction. *Eur. J. Pharmacology.* 1990; 179: 463-468.
 13. Luszczycki J.J., Andres M.M., Czuczwar P. et al. Pharmacodynamic and pharmacokinetic characterization of interactions between Levetiracetam

and numerous antiepileptic drugs in the mouse maximal electroshock seizure model: an isobolographical analysis. *Epilepsia.* 2006; 47: 10-20.
 14. Карпова М.Н., Абросимов И.Ю., Крыжановский Г.Н. The effectiveness of the combined use of several blockers potential dependent and receptor-activated Ca-channels with a variety of anti-epileptic drugs. *Byul. eksperim. biologii i meditsiny.* 1997; 124 (7): 46-49.
 15. Mironov A.N. Guidelines for conducting pre-clinical trials of medicinal products. Part one. М.: Гриф и К. 2012.
 16. "On Approval of Rules laboratory practice" Order № 708n Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation (Russian Ministry of Public Health) of 23 August 2010 Moscow. Available at <http://rg.ru/2010/10/22/laboratornaya-praktika-dok.html>

N.G. Vengerovich¹, M.A. Yudin¹, A.S. Nikiforov¹, G.S. Sagalov², M.S. Vakhviyainen³, A.A. Kuzmin¹

EFFECTIVENESS PROGNOSTICATION OF A COMBINED ANALGESIC FORMULATION DEPENDING ON QUANTITATIVE COMPOSITION OF ITS COMPONENTS

¹State Research and Test Institute of Military Medicine, RF Ministry of Defense 195043, Saint Petersburg, Russian Federation

² S.M. Kirov Medical Military Academy, RF Ministry of Defense, 194044, Saint Petersburg, Russian Federation

³Innovative pharmaceutical company "Silver Pharm" Ltd., 195279, Saint Petersburg, Russian Federation

In experiments on rats, analgesic activity of fentanyl opioid receptor agonist and central $\alpha 2$ -adrenomimetic dexmedetomidine as well as the character of their interaction at a combined administration were studied. Mean-effective anesthetic doses of the drugs in heat radiant tail flick test were 54.5 and 22.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ correspondingly. Using izobolographic analysis, it was shown that for a combination with equal parts or with a greater part of fentanyl, the type of drug interaction can be characterized as potentiation. A model of prognostication of probability values of the analgesic effect development in relation to doses of combination components was elaborated and experimentally tested.

Keywords: analgesia, fentanyl, dexmedetomidine, izobolographic analysis, logistic regression.

Переработанный материал поступил в редакцию 16.06.2016 г.