

УДК 615.212 : 615.22

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ КОМБИНАЦИИ ФЕНТАНИЛА И ДЕКСМЕДЕТОМИДИНА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Н.Г. Венгерович¹, М.А. Юдин¹,
М.С. Вахвияйнен², О.О. Владимирова¹,
И.И. Алексеева¹, О.И. Алешина¹

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

²ООО «Инновационная фармацевтическая компания «Сильвер Фарм», 195279, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

На экспериментальной модели сердечной недостаточности, вызванной ежедневным подкожным введением адреналина гидрохлорида в дозе 0,4 мг/кг в течение 7 суток, проведен сравнительный анализ влияния фентанила, дексмететомидина и их комбинации на толерантность к физической нагрузке, показатели электрокардиограммы и интегральные показатели переносимости (широта терапевтического действия). Также выполнено гистоморфологическое подтверждение полученных результатов. На предложенной модели сердечной недостаточности проведено исследование по оценке анальгетической активности и токсичности фентанила, дексмететомидина и комбинации на их основе в сравнении с интактными животными. Показано, что на фоне патологии сердца для каждого из данных препаратов наблюдается снижение среднелетальных доз на 13-25 %. При этом, в отличие от анальгезии монопрепаратами, при введении комбинации лекарственных средств среднеэффективная обезболивающая доза не изменялась.

Ключевые слова: фентанил, дексмететомидин, сердечно-сосудистая недостаточность, ишемическая болезнь сердца.

Введение. По данным эпидемиологического исследования ЭПОХА-ХСН распространенность сердечной недостаточности (СН) среди населения Российской Федерации составила 7 % случаев (8 млн. человек) [1]. При этом отмечено снижение возрастной границы до 20-29 лет [2]. СН остается одной из основных причин смертности, а также временной или стойкой утраты трудоспособности населения [3-4]. Наличие СН у пациентов также сопряжено с высоким риском осложнений и летальности после оперативного вмешательства [5].

На сегодняшний день адекватная анестезия у пациентов с сопутствующей патологией сердечно-сосудистой системы остается актуальной задачей. Наиболее остро стоит вопрос оказания

анестезиологической помощи пациентам с перенесенным острым инфарктом миокарда [6]. В анестезиологической практике широко используются опиоиды короткого действия, такие как фентанил и его производные, а также центральные α_2 -адреномиметики (α_2 -АМ), например, дексмететомидин. При этом доказано влияние обоих препаратов на сердечно-сосудистую систему (ССС) [7]. В ряде исследований показано изменение фармакологической активности фентанила на фоне патологии ССС, трудности подбора терапевтической обезболивающей дозы, что в единичных случаях приводило к гибели пациентов [8]. При этом практические рекомендации для коррекции доз анальгетиков на фоне СН часто отсутствуют.

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

Юдин Михаил Анатольевич (Judin Mihail Anatol'evich), д.м.н., 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

Вахвияйнен Мария Сергеевна (Vakhviyainen Mariya Sergeevna), м.н.с. ООО «Инновационная фармацевтическая компания «Сильвер Фарм», 195279, г. Санкт-Петербург, kalmukova.spbu@gmail.com

Владимирова Ольга Олеговна (Vladimirova Ol'ga Olegovna.), к.б.н., научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург

Алексеева Ирина Ивановна (Alekseeva Irina Ivanovna), научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург

Алешина Ольга Игоревна (Aleshina Ol'ga Igorevna), младший научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург

Несмотря на наличие опиоидных рецепторов в сердце и их центральные эффекты, считается, что действие опиоидов на миокард, особенно на сократительные свойства, значительно слабее, чем у многих других внутривенных и ингаляционных анестетиков [9]. В связи с этим исследование фармакологического профиля агонистов опиоидных рецепторов, $\alpha 2$ -АМ, а также применение их в комбинации на фоне патологии сердца остается актуальной задачей.

Цель исследования: экспериментально обосновать модель сердечной недостаточности и изучить на ней обезболивающую эффективность и широту терапевтического действия (ШТД) при применении комбинации фентанила и дексметомидина в сравнении с монопрепаратами.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 210 белых нелинейных крысах-самцах массой 200-240 г (питомник Рапполово, Ленинградская область), содержащихся в стандартных условиях вивария. Экспериментальные исследования проводили в соответствии с требованиями Приказа Минздравсоцразвития России от 23.08.2010 г № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики». В качестве анальгетиков использовали субстанцию фентанила (N (1-фенилэтилпиперидин-4-ил)-N-фенилпропанамид) и дексметомидина (4-[(S)-1-(2,3-диметилфенил)этил]-1H-имидазола гидрохлорид). Анальгетическую активность препаратов и их комбинацию исследовали в тесте отдергивания хвоста от теплового излучения на приборе «Tail-Flick Analgesia Apparatus» (Columbus Instruments, USA) через 10 мин после внутримышечного введения. Критерием болевого порога животных служил латентный период отдергивания хвоста, а критерием анальгезии – его увеличение до 15 с и более [10].

Для указанных препаратов в предварительных экспериментах были рассчитаны средние эффективные дозы (ED_{50}) по эффекту обезболивания, которые при внутримышечном введении составили для фентанила и дексметомидина $54,5 \pm 6,9$ и $22,5 \pm 5,17$ мкг/кг, соответственно. При их совместном введении было выявлено взаимное потенцирование эффектов, которое усиливалось с увеличением доли агониста опиоидных рецепторов. Применение метода изоболографического анализа в сочетании с математической моделью на основе логистической регрессии позволило рассчитать оптимальное соотношение препаратов в составе комбинации и определить ее среднюю эффективную дозу по эффекту анальгезии – $34,88 \pm 5,71$ мкг/кг ($30,66$ мкг/кг для фентанила и $4,22$ мкг/кг для дексметомидина).

Для формирования у животных СН и ИБС использовали модель адреналинового повреждения миокарда [11] в модификации Гаман Д.В. и со-

авт. [12]. Было показано, что подкожное введение адреналина гидрохлорида на протяжении 7 суток в дозах, указанных авторами приводило к гибели части животных. В связи с чем, ежедневная доза адреналина была скорректирована с 1 до 0,4 мг/кг, что потребовало подтверждения предложенной модели. Кроме того, особенно важным для исследования считали изменение функциональной способности сердца. В связи с этим, для подтверждения модели исследовали изменение толерантности к физической нагрузке и изменения со стороны электрокардиограммы (ЭКГ).

Физическую работоспособность исследовали используя методику «Однократное плавание с грузом до отказа». Нагрузка плаванием осуществлялась в сосудах из оргстекла с величиной слоя воды 50 см. Тестирование выполняли в одинаковое время с 9:00 до 11:00 утра. Со стенок сосуда предварительно удаляли пузырьки воздуха. Температура воды поддерживалась постоянной на уровне $28-29^{\circ}\text{C}$. Крысы тестировались раздельно, по одной в каждом сосуде с отягощением грузом 7 % от массы тела, что соответствовало смешанному типу нагрузок. В качестве груза использовали свинцовые шарики, крепление которых осуществляли при помощи резинок к корню хвоста. Для экспериментальных исследований отбирали животных, длительность плавания которых находилась в пределах 200-600 с.

Для регистрации параметров сердечно-сосудистой системы применяли компьютерный электрокардиограф «ecgTUNNEL» (Emka Technologies, Франция). Регистрацию ЭКГ осуществляли при размещении крыс в пеналах с расположением конечностей на электродах-пластинах, что позволяло выполнять исследования без подкожного введения игольчатых электродов. Регистрацию данных производили через 60 с после нормализации показателей в течение 5 мин.

Для оценки изменений со стороны миокарда после аутопсии животных сердце фиксировали в 10 % нейтральном формалине, обезжировали и заливали в парафин по общепринятой методике. Микропрепараты поперечных срезов миокарда окрашивали двумя методиками: фосфорновольфрамовым гематоксилином по Маллори и гематоксилином по Карацци и эозином. Обработку материала проводили на микроскопе Leica DM 2500 и Olympus CX 41, фотосъемку осуществляли с помощью цифровой фотокамеры Leica DFC 490 с базовым программным обеспечением Leica Image Manager фотокамеры VideoZavr 28.5.

Характеристики острой токсичности исследуемых препаратов определяли при однократном внутримышечном введении. Наблюдение за животными включало регистрацию общего состояния и их поведения, сроков развития основных

признаков интоксикации и гибели. Длительность наблюдения составила 14 суток.

Процедуры статистического анализа выполняли с помощью 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 принимали нулевую гипотезу. Проводили проверку нормальности распределения данных с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для сравнения центральных параметров связанных выборок использовали параметрический парный t-критерий в тесте Стьюдента.

На основании полученных данных рассчитывали ED_{50} и среднелетальные дозы (LD_{50}) методом пробит-анализа по Финни. При расчете ED_{50} использовали различные дозы в 5 группах по 6 животных, при расчете LD_{50} – дозы в 5 группах по 4 животных. ШТД рассчитывали, как отношение LD_{50} к ED_{50} .

Результаты и обсуждение. В предварительных экспериментах уточняли особенности изменения работоспособности, ЭКГ и морфологическую картину после подкожного введения адреналина в дозе 0,4 мг/кг. С целью исследования изменения толерантности к физической нагрузке на фоне СН исследовали время плавания животных с грузом ($M \pm SD$, $n=150$). Было установлено, что время плавания крыс до введения адреномиметика составило $453,31 \pm 87,72$ с. Спустя 7 суток после ежедневного подкожного введения адреналина регистрировали статистически значимое снижение времени плавания до $224,42 \pm 43,26$ с ($p < 0,001$), что позволило сделать вывод о двукратном снижении физической работоспособности на модели экспериментальной СН.

У части животных ($n=20$) спустя сутки после контрольного плавания при регистрации ЭКГ в покое на протяжении всего периода наблюдения отмечали наличие элевации сегмента ST (2, 3-е, aVF отведения), что можно интерпретировать как проявление ишемии миокарда (рис. 1). Нарушений ритма и проводимости зафиксировано не было.

На серии поперечных срезов миокарда отмечены крупные участки трансмурального повреждения мышечной ткани в области верхушки сердца (рис. 2), эпикардального отдела и в центральной зоне левого желудочка (рис. 3). Диффузно по миокарду а левом и правом желудочках и межпредсердной перегородке фиксировали отдельные кардиомиоциты или их мелкие скопления в состоянии деструкции, которое характеризовалось потерей волокнами ядерного компонента, отсутствием поперечной исчерченности, некоторым разрыхлением цитоплазмы и появлением в по-



Рис. 1. ЭКГ крыс через 7 суток после ежедневного подкожного введения адреналина в дозе 0,4 мг/кг.

следней набухших канальцев саркоплазматической сети, фрагментацией или полной потерей миофибриллярного компонента (рис. 4). Повсеместно определялся интерстициальный отек, инфильтрированный лимфоцитами и многочисленными макрофагами с признаками митотической активности. В целом, выявленные особенности гистологической картины морфологического субстрата указывали на повреждение миокарда, которое обуславливает снижение толерантности к физической нагрузке и электрофизиологические сдвиги на ЭКГ.

У животных с СН исследовали изменения анальгетической активности фентанила, дексметомидина и комбинации на их основе ($n=90$) (табл.).

В ходе экспериментов установлено увеличение ED_{50} фентанила с $54,5 \pm 5,9$ до $67,62 \pm 2,8$ мкг/кг. ED_{50} у дексметомидина, напротив, снижалась

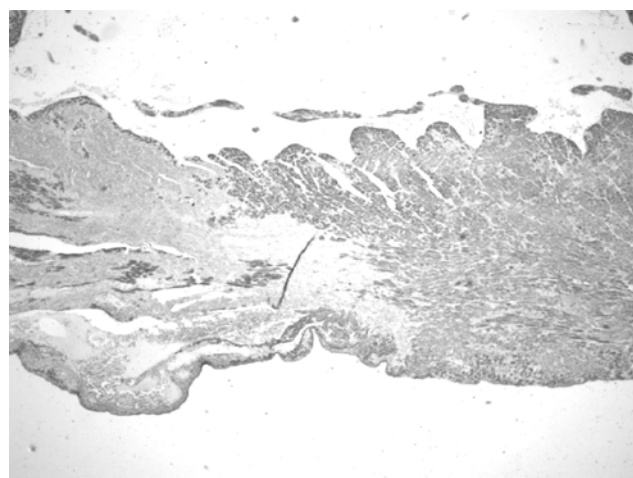


Рис. 2. Поперечный срез сердца в области верхушки через 7 суток после ежедневного подкожного введения адреналина в дозе 0,4 мг/кг, окраска по Маллори, ув. $\times 40$.

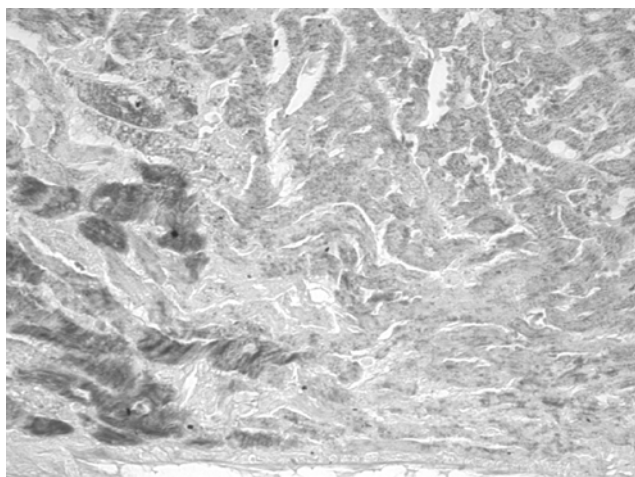


Рис. 3. Поперечный срез сердца в области левого желудочка через 7 суток после ежедневного подкожного введения адреналина в дозе 0,4 мг/кг окраска по Маллори, ув.×400.

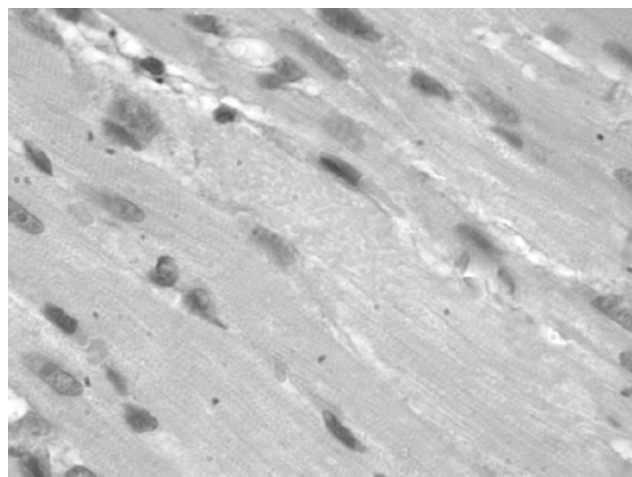


Рис. 4. Поперечный срез сердца в области левого желудочка через 7 суток после ежедневного подкожного введения адреналина в дозе 0,4 мг/кг, окраска гематоксилином по Карацци и эозином, ув.×1000.

Таблица

Среднеэффективные анальгетические и среднелетальные дозы, параметры безопасности фентанила, дексмететомидина и комбинации на их основе ($XD_{50} \pm SED$, мкг/кг)

Показатель	Препарат		
	Фентанил	Дексмететомидин	Комбинация
Интактные животные			
ED ₅₀	54,5±5,9	22,5±3,17	34,9±5,7
LD ₅₀	9786±563	1425±111	3657±327
ШТД	180	63	105
Животные с сердечной недостаточностью			
ED ₅₀ CH	67,6±2,8	15,1±2,4	33,4±2,8
LD ₅₀ CH	8480±197	1074±81	2766±148
ШТДСЧ	125	71	83

с 22,5±3,17 до 15,1±2,4 мкг/кг. При этом среднеэффективная доза комбинации средств анальгетической рецептуры не изменялась и составила 33,4±2,82 мкг/кг.

Токсичность анальгетиков и комбинации на их основе исследовали как у интактных животных (n=60), так и после моделирования СН (n=60) (табл.). Во всех экспериментальных группах с СН регистрировали уменьшение среднелетальных доз в сравнении с интактными животными. При этом клиническая картина интоксикации не изменялась и характеризовалась последовательной сменой симптомов замирания, развития каталепсии (кроме группы дексмететомидина) и глубокого наркоза. Гибель животных во всех груп-

пах наступала спустя 30-50 мин после введения препаратов. Продолжительность общей анестезии у выживших животных находилась в пределах 34 ч от момента введения анальгетиков.

Полученные данные позволили заключить, что ШТД у животных без СН снижалась в ряду фентанил (180) – комбинация (105) – дексмететомидин (63). Такая же последовательность прослеживалась в группах животных с СН: фентанил (125) – комбинация (83) – дексмететомидин (71). При этом за счет снижения ED₅₀ отмечено увеличение ШТД дексмететомидина до 71. Для группы комбинации анальгетиков, несмотря на снижение ШТД в среднем на 21 %, эффективные дозы оставались неизменными.

Заключение. Проведенное исследование подтвердило литературные данные об изменении анальгетической эффективности агонистов опиоидных рецепторов на фоне патологии сердечно-сосудистой системы. Также было показано, что у животных с СН существенно снижается ED₅₀ дексметомидина. Во всех экспериментальных группах зарегистрировано снижение среднелетальных доз, что актуализирует необходимость тщательного планирования анестезиологического пособия у лиц с СН. При этом зарегистрированное отсутствие изменения ED₅₀ у экспериментальной комбинации на основе фентанила и дексметомидина

позволяет характеризовать ее как более устойчивую и предсказуемую при применении у больных с патологией сердца, что чрезвычайно важно в клинической практике. Отмеченные в ходе экспериментов результаты указывают на целесообразность разработки комбинированной рецептуры, включающей опиоидный агонист и α 2-AM в качестве перспективного анальгетического средства. Отдельным направлением для решения проблемы «усиления» токсичности может быть введение в состав комбинированной рецептуры антагонистов опиоидных и центральных α 2адренорецепторов с управляемой фармакокинетикой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беленков Ю.Н., Фомин И.В., Мареев В.Ю. и др. Первые результаты Российского эпидемиологического исследования по ХСН. Журнал Сердечная Недостаточность. 2003; 4 (1):26-30.
2. Беленков Ю.Н., Фомин И.В., Мареев В.Ю. и др. Распространенность хронической сердечной недостаточности в Европейской части Российской Федерации-данные ЭПОХА-ХСН (часть 2). Журнал Сердечная Недостаточность. 2006; 7 (3): 3-7.
3. Клузев В.М. Ардашев В.Н., Брюкховецкий А.Г., Михеев А.А. Ишемическая болезнь сердца. М.: Медицина; 2004.
4. Бадин Ю.В., Фомин И.В. Выживаемость больных ХСН в когортной выборке Нижегородской области (данные 1998-2002 годов.). Всероссийская конференция ОССН: «Сердечная недостаточность; 2005 год». М., 2005; 31-32.
5. Заболотских И.Б., Лебединский К.М., Трембач Н.В. Perioperative ведение больных с сопутствующей хронической сердечной недостаточностью. Клинические рекомендации ФАР, 2015.
6. Площенко Ю.А. Вопросы профилактики сердечно сосудистых осложнений анестезиологического обеспечения некардиальных оперативных вмешательств. Медицина неотложных состояний. 2013; 6 (53) 183-187.
7. Миллер Р. Анестезия Роналда Миллера. Лебединский К. М. ред.; СПб.: Издательство «ЧЕЛОВЕК»; 2015.
8. Camu F., Vanlersberghe C. Pharmacology of systemic analgesics. Clin. Anaesthesiol. 2002; 16: 475-488.
9. Бунятян А.А., ред., Мизикова В.М. Анестезиология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011.
10. Мионов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.
11. Целлариус Ю.Г., Семенова Л.А. Гистопатология очаговых метаболических повреждений миокарда. Новосибирск: Наука; 1972.
12. Гаман Д.В., Кононенко Н.Н., Губина-Вакулик Г.И. и др. Особенности морфологической ультраструктуры миокарда при экспериментальной ишемии миокарда. Украинский биофармацевтический журнал. 2011;16(5):16-20.
1. Belenkov Yu.N., Fomin I.V., Mareev V.Yu. et al. The first results of Russian epidemiological studies on CHF. Zhurnal Serdechnaya Nedostatochnost'. 2003; 4 (1):26-30 (in Russian).
2. Belenkov Yu.N., Fomin I.V., Mareev V.Yu. et al. The prevalence of chronic heart failure in the European part of the Russian Federation-data AGE-CHF (part 2). Zhurnal Serdechnaya Nedostatochnost'. 2006; 7 (3): 3-7 (in Russian).
3. Klyuzhev V.M. Ardashev V.N., Bryukhovetskij A.G., Mikheev A.A. Ischemic heart trouble. M.: Meditsina; 2004 (in Russian).
4. Badin Yu.V., Fomin I.V. The survival rate of patients with CHF in a cohort sample of Nizhny Novgorod region (data from 1998-2002.). Vserossiyskaya konferentsiya OSSH: «Serdechnaya nedostatochnost'. 2005». M., 2005; 31-32 (in Russian).
5. Zabolotskikh I.B., Lebedinskiy K.M., Trembach N. V. Perioperative management of patients with concomitant chronic heart failure. Clinical guidelines of the Federation of anaesthesiologists and reanimatologists, 2015 (in Russian).
6. Ploshhenko Yu.A. Questions about prevention of cardiovascular complications of anesthesia non cardiac surgical interventions. Meditsina неотложных состояний. 2013; 6 (53) 183-187 (in Russian).
7. Miller R Lebedinskiy K. M. ed. Anesthesia Ronald Miller. Tutorial. SPb.: Izdatel'stvo «CHELOVEK»; 2015(in Russian).
8. Camu F, Vanlersberghe C. Pharmacology of systemic analgesics. Clin. Anaesthesiol. 2002. 16: 475-488.
9. Bunyatyan A.A., ed., Mizikova V.M. Anesthesiology national leadership. M.: GEOTAR-Media, 2011 (in Russian).
10. Mironov A. N. The guidelines for preclinical studies of pharmaceuticals. part 1. M.:Grif i K; 2012 (in Russian).
11. Tsellariyus Yu.G., Semenova L.A. Histopathology focal metabolic myocardial damage. Novosibirsk: Nauka; 1972 (in Russian).
12. Gaman D.V., Kononenko N.N., Gubina-Vakulik G.I. et al. The features of the morphological ultrastructure of the myocardium in experimental myocardial ischemia. Ukrainskij biofarmatsevticheskij zhurnal. 2011;16 (5):16-20 (in Russian).

N.G. Vengerovich¹, M.A. Yudin¹, M.S. Vakhviyajnen², O.O. Vladimirova¹,
I.I. Alekseeva¹, O.I. Aleshina¹.

SAFETY STUDY OF FENTANYL AND DEXMEDETOMIDINE COMBINATION ON AN EXPERIMENTAL MODEL OF IMPAIRED CARDIAC FUNCTION

¹State Research and Test Institute of Military Medicine, R.F.Ministry of Defense, 195043, Saint-Petersburg, Russian Federation

²Innovative Pharmaceutical Company «Silver Pharm», 195279, Saint-Petersburg, Russian Federation

A comparative analysis of influence of fentanyl, dexmedetomidine and their combination on physical activity tolerance, electrocardiogram indexes and integral tolerance rates (therapeutic indices range) was conducted on an experimental model of cardiac failure induced by daily subcutaneous injections of 0.4 mg/kg adrenaline hydrochloride over 7 days. The findings were also confirmed by histomorphologic validation. In a suggested model of impaired cardiac function, the analgesic activity and toxicity of fentanyl, dexmedetomidine and their combination were assessed in comparison with intact animals. It was shown that on the background of cardiac pathology, 13 to 25% decrease of average lethal doses was observed for each of the drugs under consideration. At the same time when drugs were administered in combination, an average analgesic dose did not change unlike single-drug analgesia.

Keywords: fentanyl, dexmedetomidine, cardiovascular failure, coronary heart disease.

Материал поступил в редакцию 17.10.2016 г.