

УДК: 616-092.19:57. 053

DOI: 10.15587/2519-4798.2017.103051

СИНДРОМ ГІПЕРАЛЬГЕЗІЇ У ТВАРИН ТА МЕТОДИ ЙОГО ЛІКУВАННЯ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМИ ДАНИМИ ТА МОРФОМЕТРІЄЮ

© Д. В. Дмитрієв

У статті відображено механізми формування синдрому гіперальгезії та механізми розвитку патологічного післяопераційного синдромокомплексу та морфологічних змін в експерименті. Розглянуто компоненти виникнення експериментального синдрому гіперальгезії. Показано роль якісного знеболення як невід'ємної частини інтенсивної терапії після оперативних втручань на моделі експериментальної гіперальгезії. Обгрунтовані методики післяопераційного знеболення такі як використання кетаміну та регіональної анальгезія в експерименті. У роботі експериментально обгрунтовані принципи лікування післяопераційного болю

Ключові слова: гіперальгезія, анальгезія, кортизол, гіперглікемія, карагенін, провідникова анестезія, бупівакаїн, фентаніл, кетамін

1. Вступ

Переважає більшість методів анальгезії супроводжується феноменом розвитку гіперальгезії, яка в свою чергу залежить від багатьох складових, які мають неоднозначний вплив на організм пацієнта в цілому [1]. Гіперальгезія реалізується переважно на рівні спинного мозку та асоціюється зі збільшенням інтенсивності болю, та, відповідно, розвитком стрес-відповіді на біль, підвищенням ризику хронізації болю, розвитком толерантності до опіоїдів та потребою у підвищенні їх доз [3]. На сучасному етапі розвитку медицини, з метою зменшення вірогідності розвитку гіперальгезії та зменшення її негативного впливу на організм застосовують методику мульти-модальної анальгезії [2]. Ефективність застосування опіоїдних анальгетиків часто обмежується розвитком класо-специфічних побічних реакцій, тому проблема пошуку нових підходів в корекції гіперальгезії залишається актуальною [3].

2. Обгрунтування дослідження

Серед основних причин неадекватної анальгезії в післяопераційному періоді є:

- відсутність загальновідомих і простих методів оцінки важкості больового синдрому;
- використання переважно наркотичних анальгетиків;
- неможливість або обмеження використання ефективних сучасних методів післяопераційної анальгезії та переконання частини лікарів, що такі діти є менш чутливими до болю [4].

Неадекватна анальгезія в ранньому післяопераційному періоді погіршує перебіг і прогноз цього періоду і збільшує рівень післяопераційних ускладнень та сприяє розвитку гіперальгезії [5]. Гіперальгезія – це стан підвищеної чутливості до болю, який виникає внаслідок інтенсивної ноцицептивної стимуляції або може бути індукований опіоїдними анальгетиками [6]. Гіперальгезія реалізується переважно на рівні спинного мозку та асоціюється зі збільшенням інтенсивності болю, та, відповідно, розвитком стрес-відпо-

віді на біль, підвищенням ризику хронізації болю [7], розвитком толерантності до опіоїдів та потребою у підвищенні доз [8]. На сьогодні немає експериментальних та клінічних наукових досліджень з приводу змін в ділянці шкіри біля операційної рани при застосуванні різних методів знеболення. Саме тому необхідно провести дослідження синдрому гіперальгезії та обгрунтувати метод знеболення в експерименті.

3. Мета дослідження

Оцінка методу анальгезії по її відношенню до розвитку гіперальгезії в експерименті.

4. Матеріали та методи

Дослідження проводилось на базі Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова.

Оцінювали антифлогогенну (АФА) та анальгетичну активності (АА) на моделі розвитку гіперальгезії шляхом введення карагеніну. В якості біохімічних показників стресової реакції, в тому числі і больової, визначали ступінь гіперглікемії (глюкозо-оксидазним методом), а також вміст кортикостерону (імуноферментним методом).

В дослідженні використано 147 нелінійних щурів масою 120–150 г. Антифлогогенну дію препаратів вивчали на моделі гіперальгезії викликану введенням карагеніну. Карагеніновий набряк відтворювали сублантарним введенням 0,05 мл 1 % розчину карагеніну (Sigma, USA) в праву задню кінцівку тварини [4]. Спостереження за розвитком простагландинового набряку у тварин обох статей проводили на 3-й годині (піку розвитку) після введення флогогену. Тваринам визначали мінімальний поріг болю на поверхні кінцівки за допомогою набору з 10 каліброваних монофіламентів Вон-Фрея (VFMs), здійснювали тиск на шкіру зі зростаючою силою від 4 г (39.216 mN) до 300 г (2941.176 mN) (Touch-Test Sensory Evaluator, North Coast Medical Inc., CA, USA), притискаючи монофіламенти у зростаючому порядку до поверхні шкіри під кутом 90°, доки останній не

зігнеться, на 1–1,5 сек. Між дослідженнями витримували адаптаційний інтервал в 10 секунд. Механічний больовий поріг визначали як найменшу силу тиску, що спричинювала больову реакцію пацієнта. Під час експерименту з тваринами поводитись згідно Хельсінкської декларації.

Перша група включала в себе інтактних 7 тварин – контрольна група. До другої групи увійшли тварини, яким асептичне запалення викликалось введенням антифлогогенного карагеніну (35 тварин). До третьої групи увійшли 35 тварини, яким був введений карагенін та застосований внутрішньочеревинно фентаніл в дозі 5 мг/кг. Четверта група (35 тварин) – шури, яким були введені карагенін та бупівакаїн в дозі 25 мг/кг, 1–2 мл в періневральный простір. П'ята група піддослідних тварин (35 тварин), яким введені карагенін та кетамін в дозі 25 мг/кг внутрішньочеревинно (табл. 1).

Розподіл експериментальних тварин по групам

Групи експериментальних тварин	Термін виведення тварин з експерименту					Всього
	1 день	3 день	7 день	14 день	21 день	
Контроль – інтактні тварини	7					7
Введення карагеніну	7	7	7	7	7	35
Введення карагеніну + фентаніл	7	7	7	7	7	35
Введення карагеніну + бупівакаїн	7	7	7	7	7	35
Введення карагеніну + кетамін	7	7	7	7	7	35

При мікроскопії проводилась оцінка стану та будови тканин у вогнищі запалення, наявність патологічних і репаративних змін, їх характер.

Були досліджені зміни гістологічної будови та характер реакцій тканин шкіри білих лінійних щурів при введенні карагеніна з подальшим введенням фентаніла, бупівакаїна та кетаміна. На 1-шу, 3-тю, 7-му, 14-ту та 21-шу добу тварини вилучались з експерименту, шурам виконувалась біопсія ран – брались фрагменти шкіри з підлеглими тканинами з місця розвитку асептичного запалення, відступаючи від його меж на 0,5 см. Забраний матеріал фіксувався 10 % водним розчином нейтрального формаліну протягом 48 годин, потім він промивався проточною водою, в подальшому проводилось його зневоднення у системі багатоатомних спиртів і заливка в парафін за стандартною схемою. Приготовані напівтонкі зрізи товщиною 7–8 мкм забарвлювались гематоксиліном і еозином (основний метод забарвлення гістологічних препаратів) для оцінки патологічних змін та реакцій тканин при розвитку в них асептичного запалення, порушень мікрогемодинаміки у відповідь на введення флогогену.

Також гістологічні препарати, виготовлені зі шматочків тканин, взятих на 21-шу добу експерименту, окрім традиційного метода забарвлення

гематоксиліном та еозином, сріблились за методом Фута для визначення розвитку в тканинах у процесі розриву запалення дрібних нервових закінчень та патологічних їх змін. Мікроскопію гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа OLIMPUS BX 41 із застосуванням збільшень у 40, 100, 200 та 400 разів.

Для проведення експерименту була напрацьована техніка проведення футлярної анестезії нижньої кінцівки у щурів бупівакаїном. Для цього нижню кінцівку тварини розміщували у витягнутому положенні за своєю віссю. Після обробки шкіри антисептиком, довгою голкою проводять пункцію по передньо-латеральній поверхні крізь м'які тканини паралельно стегновій кістці до верхньої її третини, поступово вводять розчин анестетика.

Досягнувши топографічної точки на межі верхньої та середньої третини стегна, вводиться решта розчину анестетика. Через 2–3 хвилини настає знечуження нижньої кінцівки щура (рис. 1).

Таблиця 1



Рис. 1. Топографічна точка введення анестетика.

Через 3 години тварин виводили із досліду (з обов'язковим виконанням існуючих методичних прийомів), а на рівні кульшових суглобів ампутували набряклі і ненабряклі задні кінцівки (рис. 2).

Активність досліджуваних речовин визначали за їх здатністю зменшувати розвиток набряку в порівнянні з контролем і виражали у відсотках, які свідчать, наскільки дана речовина пригнічує розвиток карагенінового набряку по відношенню до контролю, де величина набряку приймається за 100 %. Активність сполук, які вивчаються, розраховується за формулою:

$$A = 100\% - \frac{M_{\text{нк}} - M_{\text{зд}} \times 100}{M_{\text{нк}} - M_{\text{зк}}},$$

де A – антиексудативна активність (%); M_{нк} – маса набряклої кінцівки в досліді; M_{зд} – маса здорової

кінцівки в досліді; Мнк – маса набряклої кінцівки в контролі; Мзк – маса здорової кінцівки в контролі.



Рис. 2. набряк кінцівки експериментальної тварини після введення антифлогену

Статистичну обробку отриманих даних проводили із застосуванням методів варіаційної статистики за допомогою програми «Statistica 5.5» Оцінювали та визначали середні значення, стандартні відхилення та похибки середнього. Вірогідність різниць значень між величинами в разі відповідності розподілів нормальному визначали критеріями Фішера-Стьюдента. Вірогідними вважались відмінності при $p < 0,05$.

5. Результати дослідження

Комбіноване застосування кетаміну та бупівакаїну, як і монотерпія цими препаратами проявляла помірно виражену антифлогенну дію (АФА становила 25,3 %, 20,9 % та 11,6 %, відповідно), що тоді як введення фентанілу – навпаки, супроводжувалось зростанням простагландинового набряку. Відповідний розподіл експериментальних тварин за групами досліджуваних сполук представлено в табл. 2.

Водночас при застосуванні бупівакаїну в дозі 25 мг/кг, 1–2 мл шляхом введення в періневральный простір анальгетична антифлогенна активність виявилась більш ефективною, ніж моно введення анестетика та неопіоїдного анальгетика, і за показником АА статистично відрізнялась від опіоїдного агоніста.

При дослідженні динаміки рівня кортикостерону в крові у дослідних тварин, яким викликали гіперальгезію введенням карагеніну, виявлено вірогідне підвищення середніх значень кортикостерону в крові в 2,7 рази в порівнянні з інтактними тваринами ($p < 0,05$). Застосування фентанілу призводило до аналогічного ефекту та підвищенню рівня кортикостерону в плазмі в 2,9 разів в порівнянні з інтактними тваринами ($p < 0,05$).

Слід зазначити, що використання бупівакаїну в дозі 25 мг/кг, шляхом введення в періневральный простір призводить до значного анальгетичного анальгетичного ефекту що і підтверджується незначним (в 1,24 рази) рівнем кортикостерону кортизолу в порівнянні з групою інтактних тварин ($p < 0,05$), та 2,34 рази менші в порівнянні з групою, в якій використовувалась для знеболення фентанілу ($p < 0,05$) (табл. 3).

В свою чергу використання кетаміну для знеболення та попередження експериментальної гіперальгезії призводить до слабкого анальгетичного ефекту, що і підтверджується значним підвищенням (в 1,82 рази) рівня кортикостерону в порівнянні з групою інтактних тварин ($p < 0,05$), та лише 1,24 рази менші в порівнянні з групою, в якій використовувалась для знеболення фентанілу ($p < 0,05$) (табл. 3).

Слід зазначити, що аналогічним чином реагує рівень глюкози в крові в залежності від типу знеболення (табл. 3).

Таблиця 3

Показники лабораторних стрес-тестів у щурів на тлі введення досліджуваних препаратів

Групи тварин	Вміст глюкози, ммоль/л	Рівень кортикостерону, нг/мл
Інтактні тварини (n=7)	5,45±0,18	94,2±4,25
Контроль карагенін (без лікування) (n=35)	7,21±2,31*	257,2±7,95*
Фентаніл (n=35)	8,6±1,18*	254,4±4,04*
Бупівакаїн (n=35)	5,82±1,32	121,3±6,54*#
Кетамін (n=35)	6,53±1,54	189,8±8,1#

Примітка: * – $p < 0,05$ – статистично вірогідні відмінності відносно інтактних тварин; # – $p < 0,05$ – статистично вірогідні відмінності відносно контролю без лікування

Таблиця 2

Антифлогенна активність досліджуваних сполук у щурів на моделі карагенінового набряку $M \pm m$, $n=147$

Групи тварин	Маса здорової кінцівки, мг	Маса набряклої кінцівки, мг	Приріст маси, %	Антинабрякова активність, %
Інтактні тварини (n=7)	955,0±33,7	1510,0±70,2*	158,1 %	0
Контроль карагенін (без лікування) (n=35)	654,4±11,6	1120,2 ±21,5*	171,2 %	6,0 %
Фентаніл (n=35)	515,2±10,3	801,2±17,1*#	155,5 %	30,0 %
Бупівакаїн (n=35)	545,0±16,4	1085,7±18,4*	125,8 %	14,6 %

Примітка: * – $p < 0,05$ – статистично вірогідні відмінності відносно контролю; # – статистично вірогідні відмінності відносно фентанілу; & – статистично вірогідні відмінності відносно кетаміну

Дослідження порогу больової чутливості додано у дослідних тварин, яким викликали гіперальгезію введенням карагеніну виявлено вірогідне зменшення середніх значень порогу больової чутливості (в 2,8 рази) в порівнянні з інтактними тваринами ($p < 0,05$). Застосування фентанілу призводило до аналогічного ефекту та зменшення механічного порогу больової чутливості в 2,92 разів в порівнянні з інтактними тваринами ($p < 0,05$).

Слід зазначити, що використання бупівакаїну в дозі 25 мг/кг, шляхом введення в перинеуральний простір призводить до значного анальгетичного ефекту, що і підтверджується незначним зменшенням в 1,21 рази механічного порогу больової чутливості в порівнянні з групою інтактних тварин ($p < 0,05$), та зростанням 8,19 рази механічного порогу больової чутливості в порівнянні з групою, в якій використовувався для знеболення фентаніл ($p < 0,05$) (табл. 4).

В свою чергу використання кетаміну для знеболення та попередження експериментальної гіперальгезії до слабого анальгетичного ефекту підтверджується зменшенням в 3,81 рази механічного порогу больової чутливості з групою інтактних тварин ($p < 0,05$), та не значним зростанням 1,69 рази механічного порогу больової чутливості в порівнянні з групою, в якій використовувався для знеболення фентаніл ($p < 0,05$).

Показники морфометрії ділянки гіперальгезії в залежності від різних схем знеболення на 3-ю добу

Показники гіперальгезії (мм)	Групи гіперальгезії та знеболення у експериментальних тварин						
	Карагенін n=35	Фентаніл n=35	p	Кетамін n=35	p	Бупівакаїн n=35	p
Зона некрозу тканин	1,5±0,2	2,5±0,4	0,05	0,09±0,01	0,05	0,01±0,005	0,05
Зона перифокального запалення	3,4±0,6	5,5±0,8	0,05	2,5±0,3	0,05	1,5±0,1	0,05

Таблиця 4

Механічний поріг больової чутливості у щурів на тлі введення досліджуваних препаратів

Групи тварин	Механічний поріг больової чутливості, г
Інтактні тварини (n=7)	100,0±9,8
Контроль карагенін (без лікування) (n=35)	8,9±1,8*
Фентаніл (n=35)	10,1±2,8*
Бупівакаїн (n=35)	80,9±4,4*#
Кетамін (n=35)	26,8±10,1*#

Примітка: * – $p < 0,05$ – статистично вірогідні відмінності відносно інтактних тварин; # – $p < 0,05$ – статистично вірогідні відмінності відносно контролю без лікування

Таким чином, комбіноване застосування провідникової анестезії бупівакаїном разом є ефективним шляхом для лікування гіперальгезії, що підтверджується результатами комплексного дослідження больової поведінки та лабораторних стресових тестів.

Для підтвердження цього було проведено морфометричне дослідження, метою якого було вивчення морфологічних змін в ділянці шкіри у піддослідних тварин, яким викликали гіперальгезію шляхом введення антифлогену.

Морфометричні виміри у експериментальних тварин показали, що при розвитку гіперальгезії на фоні введення карагеніну на 3-ю добу спостерігається некроз тканини до 1,5±0,2 мм ($p < 0,05$) та розвиток перифокального запалення до 3,0±0,4 мм ($p < 0,05$), застосування фентанілу призводить до посилення синдрому гіперальгезії, а саме до некрозу тканин розміром до 2,5±0,2 мм ($p < 0,05$) та перифокального запалення до 5,0±0,4 мм ($p < 0,05$). Слід зазначити, що застосування кетаміну для післяопераційного знеболення зменшує прояви синдрому гіперальгезії, а саме зменшення некрозу до 0,09±0,01 мм та перифокального запалення до 2,5±0,3 мм ($p < 0,05$). Використання в схемах післяопераційного знеболення місцевих анальгетиків та технік регіональної анальгезії значно зменшують місцеві прояви гіперальгезії, що підтверджуються майже відсутністю зони некрозу 0,02±0,001 мм ($p < 0,05$) та зони перифокального запалення до 1,8±0,2 мм ($p < 0,05$) (табл. 5).

Таблиця 5

5. Обговорення результатів дослідження

Нині не існує ідеального анальгетика або методу лікування гострого післяопераційного болю. Наблизитися до вирішення проблеми адекватності післяопераційного знеболення можливо лише реалізуючи в клініці концепцію мультимодальної анальгезії, що передбачає одночасне призначення двох і більше анальгетиків і/або методів знеболення, що володіють різними механізмами дії і дозволяють досягнути адекватної анальгезії за мінімуму побічних ефектів. Мультимодальна анальгезія на сьогоднішній день є методом вибору післяопераційного знеболення [9]. Дослідження показало, що використання постійної інфузії фентанілу є необхідним для забезпечення адекватного рівня знеболення для зменшення післяопераційного стресу, але неадекватне збільшення дози опіатного анальгетика може індукувати розвиток стану підвищеної чутливості до болю, який виникає внаслідок інтенсивної ноцицептивної стимуляції з подальшим збільшенням інтенсивності болю та розвитком стрес-відповіді на біль, підвищенням ризику хронізації болю, розвитком толерантності до опіоїдів та потребою у підвищенні доз [10]. Використання РА ґрунтується на можливості впливу на різні механізми виникнення болю як на центральний (наркотичні анальгетики) так і периферичний механізм (РА) [11]. Проведення

РА дозволяє значно знизити потребу в опіоїдах, а їх комбінування може відновити анальгетичний потенціал останніх [12]. Різні механізми дії даних препаратів дозволяють призначати їх у комбінації і в малих дозуваннях з метою досягнення значного анальгетичного ефекту [13], що дає змогу запропонувати використання регіональної анальгезії в клінічній практиці.

6. Висновки

1. Використання фентанілу з метою знеболення при розвитку карагеніного синдрому гіперальгезії

призводить до формування або посилення запалення, що в свою чергу призводить до розвитку синдрому опіоїд-індукованої гіперальгезії з відповідними морфологічними змінами в шкірі після експериментального моделювання синдрому гіперальгезії.

2. Застосування для періопераційного знеболення регіональної анальгезії, а саме блокади бупівакаїном стегнового нерву у тварини, свідчить про відсутність морфологічних ознак розвитку експериментальної гіперальгезії, що може розцінюватись в клінічній практиці в якості методу вибору проведення анестезії.

Література

1. Айзенберг, В. Л. Региональная анестезия в педиатрии [Текст] / В. Л. Айзенберг, Г. Э. Ульрих, Л. Е. Цыпин, Д. В. Заболотский. – СПб.: Синтез Бук, 2012. – 304 с.
2. Кучин, Ю. Л. Опіоїд-індукована гіперальгезія під час анальгоседації у пацієнтів з черепно-мозковою травмою [Текст] / Ю. Л. Кучин, Ф. С. Глумчер, К. Ю. Белка // Біль, знеболювання та інтенсивна терапія. – 2012. – № 1. – С. 254–257.
3. Кучин, Ю. Л. Стрес-індукована гіперальгезія у пацієнтів з множинною травмою [Текст] / Ю. Л. Кучин // Біль, знеболювання та інтенсивна терапія. – 2013. – № 2. – С. 262–266.
4. Angst, M. S. Opioid-induced Hyperalgesia [Text] / M. S. Angst, J. D. Clark // Anesthesiology. – 2006. – Vol. 104, Issue 3. – P. 570–587. doi: 10.1097/00000542-200603000-00025
5. Celerier, E. Opioid-induced hyperalgesia in a murine model of postoperative pain: role of nitric oxide generated from the inducible nitric oxide synthase [Text] / E. Celerier, J. R. Gonzalez, R. Maldonado et. al. // Anesthesiology. – 2006. – Vol. 104, Issue 3. – P. 546–555. doi: 10.1097/00000542-200603000-00023
6. Wilder-Smith, O. H. Postoperative hyperalgesia: its clinical importance and relevance [Text] / O. H. Wilder-Smith, L. Arendt-Nielsen // Anesthesiology. – 2006. – Vol. 104, Issue 3. – P. 601–607. doi: 10.1097/00000542-200603000-00028
7. Lavand'homme, P. Intraoperative epidural analgesia combined with ketamine provides effective preventive analgesia in patients undergoing major digestive surgery [Text] / P. Lavand'homme, M. De Kock, H. Waterloos // Anesthesiology. – 2005. – Vol. 103, Issue 4. – P. 813–820. doi: 10.1097/00000542-200510000-00020
8. Kopert, W. The impact of opioid-induced hyperalgesia for postoperative pain [Text] / W. Kopert, M. Schmelz // Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology. – 2007. – Vol. 21, Issue 1. – P. 65–83. doi: 10.1016/j.bpa.2006.12.004
9. Lee, M. A comprehensive review of opioid-induced hyperalgesia [Text] / M. Lee, S. Silverman, H. Hansen, V. B. Patel, L. Manchikanti // Pain Physician. – 2011. – Vol. 14, Issue 2. – P. 145–161.
10. Unal, M. Ineffective Doses of Dexmedetomidine Potentiates the Antinociception Induced by Morphine and Fentanyl in Acute Pain Model [Text] / M. Unal, S. Gursoy, A. Altun, C. Duger, I. O. Kol, K. Kaygusuz et. al. // The Korean Journal of Physiology & Pharmacology. – 2013. – Vol. 17, Issue 5. – P. 417–422. doi: 10.4196/kjpp.2013.17.5.417
11. Bi, Y. Effects of stellate ganglion block on AMP-activated protein kinase and astrocyte in hippocampal neurons in postoperative aged rats [Text] / Y. Bi, B. Wang, Z. Yin, G. Zhang, H. Chen, M. Wang // Zhonghua Yi Xue Za Zhi. – 2014. – Vol. 94, Issue 28. – P. 2222–2226.
12. Erdivanli, B. Anti-nociceptive, analgesic and pathohistological effects of intrathecal dexmedetomidine and bupivacaine in rats [Text] / B. Erdivanli, M. Altun, O. K. Sezen, S. A. Colakoglu // Brazilian Journal of Anesthesiology. – 2013. – Vol. 63, Issue 2. – P. 183–187. doi: 10.1016/s0034-7094(13)70212-5
13. Blecharz-Klin, K. Paracetamol impairs the profile of amino acids in the rat brain [Text] / K. Blecharz-Klin, I. Joniec-Maciejak, A. Piechal, J. Pyrzanowska, A. Wawer, E. Widy-Tyszkiewicz // Environmental Toxicology and Pharmacology. – 2014. – Vol. 37, Issue 1. – P. 95–102. doi: 10.1016/j.etap.2013.11.004

*Рекомендовано до публікації д-р мед. наук Лісний І. І.
Дата надходження рукопису 18.04.2017*

Дмитрієв Дмитро Валерійович, кандидат медичних наук, доцент, кафедра хірургії № 1 з курсом анестезіології та реаніматології, Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, вул. Пирогова 56, м. Вінниця, Україна, 21018
E-mail: respiratory@inbox.ru