

© Дмитрієв Д. В.

УДК: 615.035.4

Дмитрієв Д. В.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ КЕТАМІНУ ДЛЯ ПОПЕРЕДЖЕННЯ РОЗВИТКУ ГІПЕРАЛГЕЗІЇ

Вінницький національний медичний університет

імені М. І. Пирогова (м. Вінниця)

dmytrodmytriiev@gmail.com

Дана робота виконана у рамках планових науково-дослідних робіт Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України (ВНМУ): «Використання модулаторів активності метаболізуючих ферментів та сорбентів в якості засобів корекції фармакологічної активності та токсичності лікарських засобів» (№ державної реєстрації – 0101U002832) та «Асоціативні біомаркери прогнозу, перебігу, ефективності та безпеки фармакотерапії захворювань внутрішніх органів» (№ державної реєстрації – 0104U003730).

Вступ. Лікування післяопераційного болю, зокрема, в ранньому післяопераційному періоді, традиційно включає опіоїдні анальгетики. Неадекватна аналгезія в ранньому післяопераційному періоді погіршує перебіг і прогноз цього і збільшує рівень післяопераційних ускладнень та сприяє розвитку гіпералгезії. Гіпералгезія – це стан підвищеної чутливості до болю, який виникає внаслідок інтенсивної ноцицептивної стимуляції або може бути індукований опіоїдними анальгетиками. Гіпералгезія 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 доз [1-3, 6,7].

Мета дослідження. Морфологічно обґрунтувати використання кетаміну для попередження розвитку гіпералгезії.

Об'єкт і методи дослідження. В дослідженні використано 50 нелінійних щурів масою 200-250 г. В якості моделі гіпералгезії використовували карагеніновий набряк (0,1 мл 1% р-н). 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. Тварини були поділені на 4 груп. I – карагеніновий набряк без лікування (контроль), тваринам II групи в/оч вводили, відповідно, фентаніл (5 мг/кг), тваринам IV групи – кетамін (10-25 мг/кг) [2,3,5].

Експерименти проведені з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються

для дослідних та інших наукових цілей, у відповідності до Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та згідно з етичними нормами і правилами роботи з лабораторними тваринами (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Academy Press, Washington DC, 1996).

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 3-4 годину та 7-14 -ту добу експерименту, окрім традиційного метода забарвлення гематоксиліном та еозином, сріблялись за методом Фути 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. При мікроскопії проводилась оцінка стану та складу тканин у вогнищі запалення, наявність патологічних і репаративних змін, їх характер.

Статистичну обробку отриманих даних проводили із застосуванням методів варіаційної статистики за допомогою програми «Statistica 5.5» (належить ЦНІТ ВНМУ імені М. І. Пирогова, ліцензійний № AXHR910A374605FA). Оцінювали та визначали середні значення, стандартні відхилення та похибки середнього. Вірогідність різниць значень між кількісними величинами в разі відповідності розподілів нормального визначали критеріями Ст'юдента та Фішера. Вірогідними вважались відмінності при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. На 3 годину експерименту в першій групі тварин у тканинах визначались такі зміни (**рис. 1**).

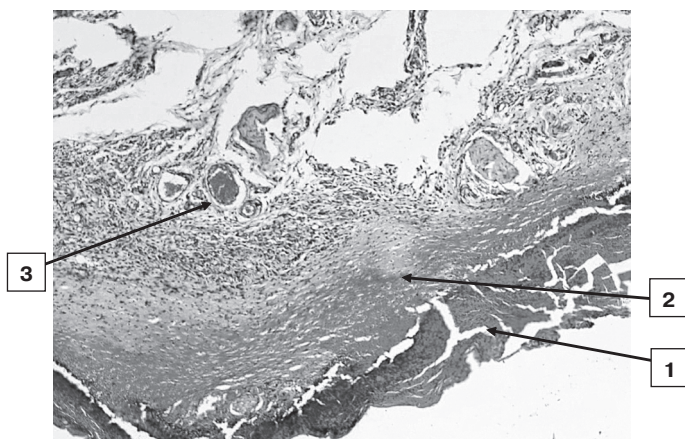


Рис. 1. Ділянка шкіри в зоні запалення через 3 год від початку експерименту, група карагеніну (1 – формування зони некрозу; 2 – незначний набряк, розшарування дерми; 3 -повнокрів'я судин дерми з незначною периваскулярною лімфолейкоцитарною інфільтрацією). Гематоксилін-еозин. x100.

Зона некротизованих тканин була значною та складала 1,5 мм, також мала місце зона реактивних змін в оточуючих тканинах, її поширеність складала 2,5-3 мм, значними були вираженість запалення, набряку, порушень мікроциркуляції. Зона пошкодження була без чітких меж, із розвитком у центрі її некрозу з перифокальними реактивними змінами у вигляді запалення, порушень мікроциркуляції. Судини у дермі в зоні ураження були паретично розширені, з вираженими дистрофічними змінами ендотелію, повнокровні, з крайовим стоянням лейкоцитів у них. Навколо додатків шкіри та периваскулярно визначались невеликі скупчення одноядерних клітин – лімфоцитів та клітин моноцитарного ряду з наявністю поодиноких лейкоцитів. У дермі та гіподермі спостерігалось незначне накопичення набрякової рідини на відміну від тварин другої групи як один із проявів розладів мікрогемоциркуляції з незначним розволокненням колагенових і еластичних волокон власне дерми. В набряковій рідині також зустрічались одноядерні клітини типу моноцитів крові, лімфоцитів, поодинокі сегментоядерні лейкоцити.

На 3 годину після введення фентанілу у тварин другої групи спостерігались наступні морфологічні зміни у тканинах. Вони були більш виражені, ніж у тварин другої групи. Зона пошкодження була поширеною, без чітких меж, із розвитком у центрі її некрозу (товщина шару некротизованих тканин складала 2,5 мм) з перифокальними реактивними змінами у вигляді запалення (зона реактивних змін товщиною до 5 мм), порушень мікроциркуляції. Судини у дермі в зоні ураження були паретично розширені, з вираженими дистрофічними змінами ендотелію, повнокровні, з крайовим стоянням лейкоцитів у них. Навколо додатків шкіри та пери-

васкулярно визначались невеликі скупчення одноядерних клітин – лімфоцитів та клітин моноцитарного ряду з наявністю поодиноких лейкоцитів. У дермі та гіподермі спостерігалось накопичення набрякової рідини як один із проявів розладів мікрогемоциркуляції з розволокненням колагенових і еластичних волокон власне дерми. В набряковій рідині також зустрічались одноядерні клітини типу моноцитів крові, лімфоцитів, поодинокі сегментоядерні лейкоцити (рис. 2).

Таким чином, через 3 години після введення фентанілу в уражених тканинах спостерігаються ранні стадії запального процесу у вигляді ознак альтерації, що переважають, та визначаються початкові ознаки ексудативного процесу.

На 3-ю годину експерименту в групі тварин, яким вводили кетамін у тканинах визначались зміни, подібні до змін на 3-ю годину у тварин другої групи (введення фентанілу), але вони також були менш вираженими. Зона пошкодження була тонкою, без чітких меж, із розвитком у центрі її некрозу з перифокальними реактивними змінами у вигляді запалення та незначних порушень мікроциркуляції. Товщина зони некрозу складала 0,04 мм, зона реактивних змін – 2,5 мм. Розлади мікроциркуляції були менш виражені в порівнянні з такими у тварин третьої експериментальної групи (рис. 3).

Судини у дермі в зоні ураження були дещо розширені, з незначними дистрофічними змінами ендотелію, помірно повнокровні, з крайовим стоянням лейкоцитів у деяких з них. Навколо додатків шкіри та периваскулярно визначались поодинокі одноядерні клітини – лімфоцити та клітини моноцитарного ряду з домішкою поодиноких лейкоцитів. В набряковій рідині також зустрічались одноядерні

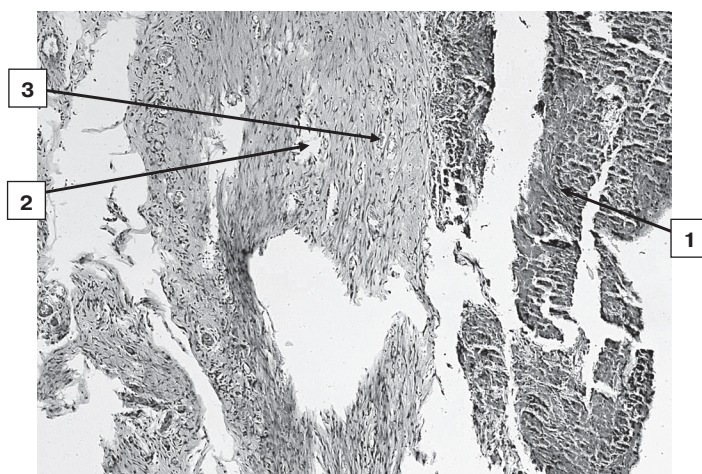


Рис. 2. Ділянка шкіри в зоні запалення через 3 години від початку експерименту, група фентанілу (1 – формування зони некрозу; 2 – набряк, розшарування дерми; 3 – повнокрів'я судин дерми з незначною периваскулярною лімфолейкоцитарною інфільтрацією). Гематоксилін-еозин. x100.

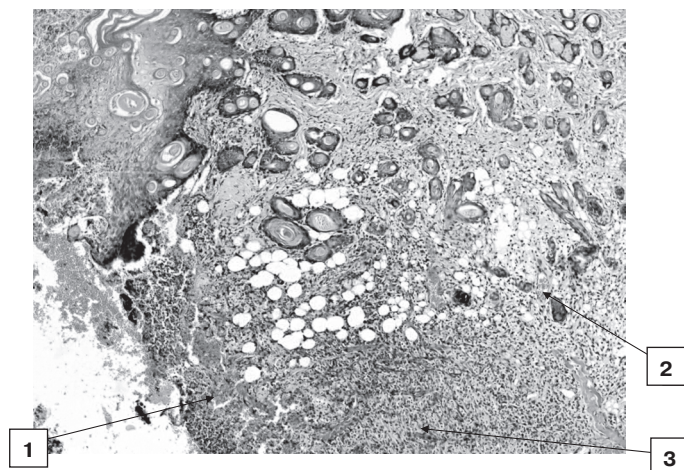


Рис. 3. Ділянка шкіри в зоні запалення через 1 добу від початку експеримента, група кетаміну (1 – формування зони некрозу; 2 – помірний набряк, незначне розшарування дерми, та гіподерми; 3 – повнокрів'я судин дерми; значна лімфолейкоцитарна інфільтрація). Гематоксилін-еозин. x100.

клітини типу моноцитів крові, лімфоцитів, поодинокі сегментоядерні лейкоцити (рис. 3).

Таким чином, дані зміни свідчать про повне розрішення запалення з формуванням сполучнотканинного рубця, в якому спостерігаються процеси його ремоделювання. У групі кетаміну тварин

в результаті розрішення запалення також утворюється повноцінний рубець з додатками шкіри без запальних змін та розладів мікрогемоциркуляції. Найкращі результати відмічаються в 3-й групі піддослідних тварин, найгірші – в 2-й.

Висновки

1. На 3 годину після введення фентанілу спостерігали наступні морфологічні зміни у тканинах тварин. Зона пошкодження була дуже поширеною, без чітких меж, із розвитком у центрі її некрозу (товщина шару некротизованих тканин складала до 5 мм) з вираженими перифокальними реактивними змінами у вигляді значного запалення (зона реактивних змін товщиною до 7 мм), мали місце суттєві порушення мікроциркуляції.

2. При використанні для знеболення кетаміну в тканинах визначали подібні морфологічні зміни як й після введення фентанілу, але морфологічні зміни були менш виразними.

Перспективи подальших досліджень.

З врахуванням позитивного перебігу запального процесу, формування сполучнотканинного рубця з ознаками ремоделювання, відновлення мікроциркуляції при експериментальному застосуванні кетаміну, перспективним є проведення клінічних досліджень щодо попередження розвитку гіпералгезії у хворих шляхом використання кетаміну.

Література

1. Кучин Ю. Л. Опіоїд-індукована гіпералгезія під час анальгоседації у пацієнтів з черепно-мозковою травмою / Ю. Л. Кучин, Ф. С. Глумчер, К. Ю. Белка // Біль, знеболювання та інтенсивна терапія. – 2012. – № 1 (Д). – С. 254-257.
2. Кучин Ю. Л. Стрес-індукована гіпералгезія у пацієнтів з множинною травмою / Ю. Л. Кучин // Біль, знеболювання та інтенсивна терапія. – 2013. – № 2 (Д). – С. 262-266.
3. Лесной И. И. Предупреждение развития хронического послеоперационного синдрома у хирургических больных / И. И. Лесной, В. И. Черный, К. Ю. Белка // Український журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можаяєва. – 2012. – Т. 13, № 3. – С. 26-32.
4. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів / О. В. Стефанов. – Київ, 2001. – С. 77-95.
5. Angst M. S. Opioid-induced hyperalgesia / M. S. Angst, J. D. Clark // Anesthesiology. – 2006. – Vol. 104. – P. 570-587.
6. Lavand'homme P. K. Intraoperative epidural analgesia combined with ketamine provides effective preventive analgesia in patients undergoing major digestive surgery / P. Lavand'homme, M. D. Kock, H. Waterloos // Anesthesiology. – 2005. – Vol. 103 (4). – P. 813-820.
7. Wilder-Smith O. H. Postoperative hyperalgesia: its clinical importance and relevance / O. H. Wilder-Smith, L. Arendt-Nielsen // Anesthesiology. – 2006. – Vol. 104 (3). – P. 601-607.

УДК: 615.035.4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ КЕТАМІНУ ДЛЯ ПОПЕРЕДЖЕННЯ РОЗВИТКУ ГІПЕРАЛГЕЗІЇ

Дмитрієв Д. В.

Резюме. В дослідженні використано 50 нелінійних щурів вагою 200-250 г. В якості моделі гіпералгезії використовували карагеніновий набряк (0,1 мл 1% р-н). Карагеніновий набряк відтворювали сублантарним введенням 0,05 мл 1% розчину карагеніну (Sigma, USA) в праву задню кінцівку тварини. Спостереження за розвитком простагландинового набряку у тварин обох статей проводили на 3-й годині (піку розвитку) після введення флогогену. Тварини були поділені на 4 групи. I – карагеніновий набряк без лікування (контроль), тваринам II групи в/оч вводили, відповідно, фентаніл (5 мгк/кг), тваринам III групи вводили кетамін. Використання високих доз фентанілу для знеболення у тварин може призводити до гіпералгезії, яка супроводжується морфологічними змінами в шкірі після введення карагеніну. На 3 годину після введення фентанілу спостерігались наступні морфологічні зміни – зона пошкодження була дуже поширеною, без чітких меж, із розвитком у центрі її некрозу (товщина шару некротизованих тканин складала до 5 мм) з вираженими

перифокальними реактивними змінами у вигляді значного запалення (зона реактивних змін товщиною до 7 мм), мали місце суттєві порушення мікроциркуляції. Використання для знеболення кетаміну у тканинах визначали подібні морфологічні зміни, як й після введення фентанілу, але вони також були менш виразними.

Ключові слова: гіпералгізія, карагенін, набряк, кетамін.

УДК: 615.035.4

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЕТАМИНА ДЛЯ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ РАЗВИТИЯ ГИПЕРАЛГЕЗИИ

Дмитриев Д. В.

Резюме. В исследовании использовано 50 нелинейных крыс весом 200-250 г. В качестве модели гипералгезии использовали карагениновый отёк (0,1 мл 1% р-ра). Карагениновый отёк воспроизводили сублантарным введением 0,05 мл 1% р-ра карагенина (Sigma, USA) в правую заднюю конечность животного. Наблюдения за развитием простогландинового отёка у животных обеих полов проводили на 3-ем часе (пике развития) после введения флогогена. Животные были поделены на 4 группы. I – карагениновый отёк без лечения (контроль), животным II группы в/брюшинно вводили, соответственно, фентанил (5 мкг/кг), животным III группы вводили кетамин. Использование высоких доз фентанила для обезболевания у животных может приводить к гипералгезии, которая сопровождается морфологическими изменениями в коже после введения карагенина. На 3-ем часе после введения фентанила наблюдались следующие морфологические изменения – зона повреждения была очень распространена, без четких границ, с развитием в центре её некроза (толщина слоя некротизированных тканей составляла до 5 мм) с выраженными перифокальными реактивными изменениями в виде значительного воспаления (зона реактивных изменений толщиной до 7 мм), имели место существенные нарушения микроциркуляции. Использование для обезболевания кетамина в тканях определяли подобные морфологические изменения, как и после введения фентанила, но они были менее выраженными.

Ключевые слова: гипералгезия, карагенин, отёк, аналгезия.

UDC: 615.035.4

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF USE OF KETAMINE FOR PREVENTION HYPERALGESIA

Dmytriiev D. V.

Abstract. The aim of the study was to morphologically justify the use of ketamine for the prevention of hyperalgesia.

Methods. The study used 50 nonlinear rats weighing 200-250 grams in a model of hyperalgesia used karagenin edema (0.1 mL of 1% of the district). Karaheninovyy swelling reproduced sublantarnym introduction of 0.05 ml of 1% solution karagenin (Sigma, USA) in the right hind limb of the animal. Monitoring the development of prostaglandins edema in animals of both sexes were carried out at 3 o'clock (the height of) after flohohenu. The animals were divided into 4 groups. And – karagenin edema untreated (control) animals in group II/wat injected respectively fentanyl (5 CIM/kg), Group IV animals – ketamine (10-25 mg/kg). Removed material recorded 10% aqueous solution of neutral formalin for 48 hours, then it running water, subsequently conducted its dewatering system polyhydric alcohols and fill in paraffin by standard procedure. Prepared 7-8 microns thick sections stained with hematoxylin and eosin (basic method of staining of histological preparations) for the evaluation of pathological changes and reactions in the tissues of them aseptic inflammation disorders in response to the edema drug. Also histological preparations made from pieces of tissue, taken at 3-4 hour and 7-14 -day of the experiment than the traditional method of staining with hematoxylin and eosin, silver by Fouta method for determination of the tissues in the resolution of small nerve endings inflammation and pathological their changes. Microscopic histological preparations was performed using a light microscope OLIMPUS BX 41 using increments of 40, 100, 200 and 400 times. At microscopy was performed and assessment of tissue in inflammation, and the presence of pathological reparative changes their character.

Results. The use of high doses of fentanyl for pain relief in animals can lead to hyperalgesia, accompanied by morphological changes in the skin after administration karaheninu. At 3:00 after driving fentanyl observed following morphological changes – the zone of damage was widespread, with no clear boundaries, with the development in the center of necrosis (thickness necrotic tissue was 5 mm) with severe perifocal reactive changes as significant inflammation (zone reactive changes thickness 7 mm), there have been serious violations of microcirculation.

Conclusions. The use of ketamine for pain relief in these tissues were determined morphological changes after administration of fentanyl, but they were less expressive.

Keywords: hyperalgesia, carrageenan, edema, analgesia.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 28.01.2016 року