

Методика экспериментальных исследований новых отечественных периферических миорелаксантов

Республиканская клиническая больница медицинской реабилитации,
Белорусский государственный медицинский университет***

Периферические мышечные релаксанты — фармакологические вещества, избирательно блокирующие передачу импульсов в нервно-мышечных синапсах скелетных мышц [5,6]. Значение периферических миорелаксантов в комплексе современной анестезии и интенсивной терапии трудно переоценить. Впервые с их помощью анестезиологи получили возможность направленной регуляции определенной функции организма, что явилось не только одним из новых тактических приемов, но и позволило также пересмотреть принципиальные взгляды на общую анестезию [5,15,16]. Появилась возможность и целесообразность ведения наркоза на поверхностном уровне, а также условия для применения ИВЛ, что позволило выяснить чрезвычайно важную роль управления газообменом во время операции. Таким образом, были заложены основы прогрессивной концепции многокомпонентности анестезии. Миорелаксанты заняли прочное положение в анестезиологии, и, в настоящее время, вряд ли можно представить современный наркоз без их применения. Расслабление скелетных мышц, достигаемое с помощью миорелаксантов, составляет один из основных компонентов комбинированной анестезии [1]. В настоящее время четко определены основные показания к применению миорелаксантов в клинике. Их применяют при хирургических вмешательствах в комбинации с наркотическими анальгетиками и общими анестетиками, не обеспечивающими достаточного расслабления скелетной мускулатуры; при операциях на органах грудной полости с искусственной вентиляцией легких; для расслабления мускулатуры при проведении интубации трахеи и эндоскопических манипуляций, вправлении вывихов, репозиции отломков костей; при глубоких расстройствах газообмена различной этиологии для исключения спонтанного дыхания и обеспечения условий для проведения искусственной вентиляции легких; при гипотермии для устранения дрожи в период охлаждения и последующей ригидности мышц во время операции; для купирования судорожного синдрома при столбняке, эклампсии, эпилепсии [5,14].

Разнообразие клинических условий, в которых применяются миорелаксанты, обуславливают необходимость иметь в наличии у анестезиологов ряд соответствующих препаратов с разной фармакологической характеристикой. Для здравоохранения Республики Беларусь в настоящее время миорелаксанты являются препаратами, импортируемыми из стран дальнего зарубежья, потребность в них, по данным ПО «ФАРМАЦИЯ», составляет около 2-х миллионов ампул в год (из них 1,5 миллиона недеполяризующих миорелаксантов) [3,8].

Создание отечественных периферических недеполяризующих миорелаксантов среднего и короткого действия приведет к оптимизации оказания медицинской помощи населению и экономии бюджетных средств. Поэтому, создание отечественных недеполяризующих миорелаксантов периферического действия и внедрение их в клиническую практику является актуальным. Миорелаксанты всегда

применяются на фоне действия средств общей анестезии-ингаляционного и неингаляционного наркоза [2,14]. Поэтому, задача изучения миопаралитических свойств создаваемых отечественных миорелаксантов дитолония и диэтония на фоне общей анестезии, а также взаимодействие этих миорелаксантов со средствами, применяемыми для общей анестезии, также является актуальной.

В процессе создания новых, более совершенных миорелаксантов используют разнообразные методы исследования. Миопаралитическую активность миорелаксантов исследуют на различных животных и на их нервно-мышечных препаратах. Эксперименты проводят на животных в условиях наркоза, а также после децеребрации [6,9]. Чувствительность к миорелаксантам у человека наиболее близка к таковой у кошки, а продолжительность действия наиболее близка к таковой у собаки, поэтому, именно эти животные используются на заключительном этапе исследования миорелаксантов перед их клинической апробацией [14]. Более существенная информация о фармакодинамических эффектах миорелаксантов может быть получена на экспериментальных животных в условиях наркоза [14]. В современном мире запрещено проведение опытов в условиях тотальной миорелаксации без адекватной анестезии [9,17]. Изучение фармакологических эффектов миорелаксантов на собаках требует проведения надежной защиты (общей анестезии) от агрессивных факторов внешней и внутренней среды, ИВЛ, контроля за жизненно-важными функциями организма [10,11,13]. Погрешности при проведении ИВЛ — необеспечение проходимости дыхательных путей, неадекватные параметры ИВЛ (дыхательный объем и минутный объем дыхания) — отрицательно сказываются на результатах экспериментов и приводят к гибели животного [4,12]. В доступной литературе этот вопрос освещен недостаточно.

При выполнении работы была усовершенствована методика исследования новых миорелаксирующих веществ, и уточнено содержание анестезиологического пособия, необходимого при различных вмешательствах у лабораторных животных. Под анестезиологическим пособием понимается комплекс мероприятий, направленный на защиту живого организма во время эксперимента от факторов внешней и внутренней среды, приводящих к стрессу, развитию тяжелых патологических реакций, искажению результатов эксперимента, мучению и смерти животного. Этот комплекс мероприятий включает в себя: 1) подготовку животного к эксперименту и наркозу (премедикация); 2) собственно анестезию (вводную и основную); 3) динамическое наблюдение и регистрацию предусматриваемых исследованием специфических параметров; 4) поддержание жизненно-важных функций организма и коррекцию их нарушений во время вмешательства и в раннем постнаркотическом периоде. С целью изучения свойств миорелаксантов при проведении общей анестезии была предложена техника интубации трахеи и методика эндотрахеального наркоза у кроликов (рац. Предложение N 1426), применение медицинской резиновой перчатки для проведения общей ингаляционной анестезии у собак, кошек и кроликов (рац. Предложение N 1427), проведение ИВЛ у животных (рац. Предложение N 1431).

Целью настоящей работы явилось усовершенствование методик изучения действия миорелаксантов в лабораторных условиях. Лабораторные исследования миорелаксирующих свойств соединений бис-четвертичных аммониевых солей амидов дикарбоновых кислот (синтезированные в БГУ профессором Станишевским Л.С.) проводились на базе лаборатории физиологии и экспериментальной патологии ЦНИЛ БГМУ совместно с профессором Захаревским А.С. и к.б.н. Хиониди Э.А. Опыты

проведены на 320 здоровых, прошедших 10-дневный карантин, собаках обоего пола массой тела от 5 до 35 кг. Подготовка животных начиналась с лишения их пищи за 24 часа до эксперимента. Прекращалось кормление собак с целью опорожнения желудка и кишечника, что предотвращало возможные осложнения (рвота, регургитация и аспирация желудочного содержимого в дыхательные пути). За 40 минут до начала вводного наркоза проводилась неспецифическая премедикация, заключающаяся во внутримышечном введении фармакологических препаратов, с целью обезболивания, седации и устранения вагусных эффектов [7].

Животные поступали в операционную в спокойном состоянии, фиксировались на операционном столе в положении лежа на спине. В условиях асептики и антисептики производились следующие манипуляции: пунктировалась и катетеризировалась вена конечности, производился забор крови для биохимических исследований, начиналась инфузия коллоидно-кристаллоидных растворов и глюкозы, накладывались электроды для записи ЭКГ и миограммы. Вводный наркоз осуществлялся неингаляционными и, или, ингаляционными общими анестетиками. При достижении хирургической стадии наркоза части животных внутривенно струйно вводился дитилин, а части – непосредственно исследуемый миорелаксант. На фоне тотальной миорелаксации под контролем прямой ларингоскопии проводилась интубация трахеи термолабильными трубками с раздувной манжеткой. Глубина наркоза определялась клинически (по уровню АД, по частоте пульса, форме и реакции на свет зрачка, выраженности ресничного и роговичного рефлексов). Эндотрахеальные трубки подбирались с учетом массы тела животного: у собак массой тела до 10 кг использовались трубки N-7,5 – 8,5; массой тела 10 – 20 кг – трубки N-9,0 – 10,5; массой тела свыше 20 кг – трубки N-11,0. После интубации трахеи начиналась ИВЛ аппаратом РО-6-05 в режиме нормовентиляции. Дыхательный объем в мл у собак рассчитывался исходя из массы тела животного: массой тела до 8 кг – вес в кг умножался на 20; массой тела от 8 до 14 кг – вес в кг умножался на 15; массой тела от 14 до 25 кг – вес в кг умножался на 12; массой тела свыше 25 кг – вес в кг умножался на 10. Фармакологические свойства миорелаксанта изучались на фоне третьей стадии наркоза, поддерживаемой различными сочетаниями ингаляционных и неингаляционных общих анестетиков. Адекватность ИВЛ контролировалась по цвету видимых слизистых оболочек (язык-розовый), давлению на вдохе (по манометру респиратора в пределах 8 – 12 см. водного столба), экскурсии и аускультации грудной клетки (дыхательные шумы проводились одинаково с обеих сторон), кардиомониторингу (стабильность показателей числа сердечных сокращений и уровня АД, отсутствие признаков гипоксии и ишемии на ЭКГ), показателям кислотно-основного состояния капиллярной крови (стабильность показателей КОС и газового состава крови).

Через 60 мин после начала вводного наркоза подача общих анестетиков прекращалась. На фоне пробуждения при восстановлении самостоятельного адекватного дыхания и защитных гортанно – глоточных рефлексов животные были отключены от респиратора и экстубированы. При восстановлении нервно – мышечной проводимости животные становились на лапы, передвигались самостоятельно и отводились в виварий, где за ними проводилось динамическое наблюдение в течение 4 часов. Каких-либо осложнений у животных при проведении эксперимента по данной методике отмечено не было.

Скорость развития нервно – мышечной блокады, длительность миоплегии, скорость восстановления нервно – мышечной проводимости регистрировались с

помощью электромиографа, а также акцелерографа. Для этой цели проводилось чрезкожное раздражение локтевого нерва животного супрамаксимальными ритмичными прямоугольными стимулами продолжительностью 0,5 – 1,0 мс, которое наносилось как одиночными (10 – 20 стимулов в 1 мин), так и короткими сериями с регистрацией сокращений мышц пальца.

С целью изучения влияния миорелаксанта на основные биохимические константы венозной крови, у части животных проводился забор венозной крови перед введением миорелаксанта, через 3 часа и через 3-ое суток после опыта. Лабораторно исследовалось всего 18 показателей венозной крови. Белковый обмен изучался с помощью четырех показателей: общий белок, альбумин, глобулин, тимоловая проба. Углеводный обмен исследовался двумя показателями: уровнем содержания глюкозы и фруктозамина. О функционировании ферментативных процессов судили по активности в сыворотке крови таких ферментов, как Аланинаминотрансфераза (АлаТ), Аспартатаминотрансфераза (АсаТ), щелочная фосфатаза, холинэстераза, глутаминдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа, билирубин (общий, связанный и свободный). Липидный обмен изучался по показателям холестерина.

Собакам контрольной группы (без введения миорелаксанта) проводились данные лабораторные исследования венозной крови на фоне аналогичной общей поддерживающей анестезии через 3 часа и 3-ое суток после окончания опыта.

С целью изучения влияния исследуемого миорелаксанта на электрическую активность миокарда проводился анализ электрокардиограмм у собак на фоне его введения. Запись ЭКГ осуществлялась одноканальным аппаратом типа Салют на 2-ом стандартном отведении. ЭКГ снималась до введения миорелаксанта, через 3 мин и 60 мин после введения миорелаксанта. Расшифровывали ЭКГ общепринятым способом, обращая внимание на сердечный ритм, критерии проводимости и возбудимости миокарда.

Таким образом, данная методика может широко применяться при изучении фармакологических свойств новых миорелаксирующих соединений.

Литература

1. Богданов А.А. Тенденция развития новых лекарственных средств в анестезиологии. // h t t p: // www. Rusanesth. com.
2. Изучение нового отечественного миорелаксанта дитолония в эксперименте / А.С. Захаревский, О.Т. Прасмыцкий, Л.А. Мелентович, О.Б. Павлов // Актуальные вопросы искусственной вентиляции легких» Матер. Международная конф. врачей-анестезиологов.-Мн., 1997.-С.16-18.
3. Изучение миорелаксирующей активности в ряду бисчетвертичных аммониевых солей амидов дикарбоновых кислот. / Л.А. Мелентович, А.С. Захаревский, Э.А. Хиониди, А.Н. Буянова, О.Б. Павлов, Н.Д. Таганович / Матер. конф., посвященной 25-летию ЦНИЛ БелГИУВ. Минск, 1997. Кн. 1. С. 195-197.
4. Искусственная вентиляция легких у животных / О.Т. Прасмыцкий, О.Б. Павлов, Э.А. Хиониди / Актуальные вопросы искусственной вентиляции легких. Матер. Международная конф. врачей-анестезиологов. – Мн., 1997. – С. 58-59.
5. Лекманов А.У. Мышечные релаксанты в практике анестезиолога-реаниматолога. – Смоленск: Альфа-Принт, 1995.
6. Новые миорелаксанты. (химия, фармакология, клиника) /Под ред. Д.А. Харкевича.-М.: Медицина.-1983.-272 с.

7. Павлов О.Б. Влияние неспецифической премедикации на фармакологические свойства нового отечественного недеполяризирующего миорелаксанта периферического действия дитолония. Матер. 4-го съезда анестезиологов – реаниматологов РБ. Гродно, 2000. С. 83.
8. Павлов О.Б., Прасмыцкий О.Т., Захаревский А.С. Изучение фармакологических свойств новых отечественных миорелаксирующих препаратов. Матер. пленума анестезиологов-реаниматологов РБ. Мн., 1999. С. 73-74.
9. Павлов О.Б., Прасмыцкий О.Т., Мелентович Л.А., Хиониди Э.А. Проведение анестезиологического пособия у экспериментальных животных. Методические рекомендации МЗ РБ. Мн., 1999.
10. Павлов О.Б. Проведение анестезиологического пособия у собак при исследовании фармакологических свойств новых миорелаксирующих препаратов. Труды молодых ученых МГМИ. Мн., 1998. С. 223-227.
11. Проведение анестезиологического обеспечения экспериментов у крупных лабораторных животных. / О.Б. Павлов, О.Т. Прасмыцкий, Л.А. Мелентович, И.Н. Жук, И.Н. Никифорова / Матер. Белорусско-Британского симпозиума. Мн., 1998. С. 20-21.
12. Проведение эндотрахеального наркоза у экспериментальных животных. / О.Т. Прасмыцкий, О.Б. Павлов, Л.А. Мелентович / Матер. Белорусско-Британского симпозиума. Мн., 1998. С. 21-22.
13. Требования к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ: Метод, рекомендации / ФК МЗ СССР.-М., 1985.-19с.
14. Фармакология миорелаксантов /Под ред. Д.А. Харкевича.-М. Медицина, 1989.-287с.
15. Харкевич Д.А. Фармакология курареподобных средств.-М.: Медицина, 1969.-318с.
16. Харкевич Д.А. Новые курареподобные и ганглиоблокирующие средства. Москва, 1976.
17. Этические вопросы использования животных в учебной работе и научных исследованиях: Материалы Белорусско-Британского симпозиума. – Минск, 1998. – 28 с.