

КОРРЕКЦИЯ ОПЕРАЦИОННОГО СТРЕССА НЕЙРОЛЕПТИКАМИ, ЛЕЙ-ЭНКЕФАЛИНОМ, ГЛИЦИЛПРОЛИНОМ И ЭЛЕКТРОАНЕСТЕЗИЕЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Л. Г. Степанова¹, Т. А. Томова², Е. Ю. Просекина³

Изучено влияния аминазина, ацепромазина, дроперидола, транскраниальной электроанестезии в отношении эвакуаторной функции желудка у поросят и лей-энкеφαлина, глицилпролина в отношении секреторной активности желудка у собак и крыс при операционном стрессе для оптимизации анестезиологического пособия. Все используемые в эксперименте фармакологические и нефармакологические приемы анестезии осуществляли активацией стресс-лимитирующих систем в периоперационном периоде у поросят. Лей-энкефалин, помимо стимулирования стресс-лимитирующих факторов нейрогуморальной системы организма, смещал вектор соотношения агрессивных и защитных факторов слизистой оболочки желудка у собак в сторону усиления последних. Разнонаправленные изменения в секреторной активности желудка крыс в ответ на операционный стресс можно нивелировать, используя в качестве компонента анестезиологического пособия глицилпролин.

Ключевые слова: операционный стресс; ацепромазин; аминазин; транскраниальная электроанестезия; дроперидол; карбахолин; лей-энкефалин; глицилпролин (Gly-Pro); поросята; крысы; собаки; коррекция; анестезиологическое пособие.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что во время хирургического вмешательства продолжающаяся болевая реакция, нарушение нейродинамики, повреждение ткани формируют сложный симптомокомплекс — операционный стресс [8]. В послеоперационном периоде метаболические сдвиги отягощаются нарушениями эвакуаторно-секреторной деятельности желудка и гиперактивностью толстой кишки [15].

Ограничить альтертирующее действие операционного стресса возможно за счет активации стресс-лимитирующих систем организма [2]. Наряду с применяемыми с этой целью средствами анестезии используются альтернативные способы (транскраниальная электроанестезия — ТКЭА и электростимуляция). Механизм ТКЭА связан с активацией под действием электрических стимулов эндогенной опиоидной системы. Еще одним из возможных путей такого воздействия является уменьшение активности медиаторных систем и стресс-реализующих систем в отношении органов-мишеней.

Повышение стресс-лимитирующих возможностей организма во время и после операционного стресса возможно за счет введения пептидов [4]. Перспективными в этой области могут явиться высокостабильные в биологических средах пролинсодержащие пептиды, обладающие уникальным спектром физиологической активности, включая протекторное и лечебное противовоспалительное действие, а также анальгетический эффект. Период их полужизни значительно превышает 1 сут [6, 11, 16].

¹ Томский сельскохозяйственный институт — филиал Новосибирского государственного аграрного университета, Томск, 634015, ул. Мичурина, 88.

² Томский государственный педагогический университет, Томск, 634061, ул. Киевская, 60.

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, 634050, пр. Ленина, 36.

Анализ многочисленных данных литературы позволяет утверждать, что одной блокады ноцицептивной импульсации недостаточно, чтобы предупредить развитие операционного стресса, а также неблагоприятных реакций со стороны органов и систем оперированных больных. Это возможно только при использовании мультимодальной анестезии разнонаправленными фармакологическими средствами, и этим объясняется интерес к веществам, которые корректируют нарушенные функции организма и метаболические расстройства [7]. Неинтервенционные исследования позволяют оценить эффективность того или иного фармакологического средства или их комбинации и выбрать наиболее оптимальные [9].

Целью работы являлась коррекция операционного стресса нейролептиками, лей-энкефапином, глицилпропином и электроанестезией у экспериментальных животных для оптимизации анестезиологического пособия.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполняли в соответствии с приказом 1984 г. № 742 “Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных” и согласно руководству по надлежащей лабораторной практике [10]. В качестве биомоделей в эксперименте использовали поросят, крыс и собак.

Поросят, 20 голов крупной белой породы (свинки, хрячки) массой 15–18 кг (свиноводческий комплекс ЗАО “Сибирская Аграрная Группа”, Томск) рандомизировали и оперировали по поводу лапаротомии (грыжеисечение), используя: в 1-й группе ацепромазин (внутримышечно 1 мг/кг), во 2-й группе аминазин (внутримышечно 2,5 мг/кг), в 3-й группе ТКЭА (частота тока 500 Гц, длительность 2,0 мс, сила тока 80 мА, форма тока П-образная, электроды наложены небно-затылочной), в 4-й группе ТКЭА в сочетании с дроперидолом (внутримышечно 5 мг/кг). Оценивали адекватность анестезиологического

воздействия аминазина, ацепромазина, ТКЭА и ТКЭА в сочетании с дроперидолом. Качество боли во время операции у всех животных оценивали по реакции на кожный разрез, манипуляции с брюшной стенкой и сразу же после операции.

Эвакуационную функцию желудка исследовали рентгенографически с использованием переносной цифровой ветеринарной рентгеновской системы оцифровки EcoView 1210, EcoRay. В нашем случае согласно методике за 10 мин до анестезии (при введении фармакологических препаратов) или непосредственно перед операцией при ТКЭА внутрь поросётам вводили контрастную массу (сульфат бария) — 200 мл. Рентгенографию проводили через 1 ч после операции.

Острый опыт выполнен на 28 крысах-самцах линии Вистар массой 210 ± 30 г (ФГУ ДП питомник “Рассвет” ФГУП НПО “Вирион”, Томск). После 24 ч голодной диеты крыс оперировали под эфирным наркозом с использованием лигатуры на пилорический отдел желудка. Желудочную секрецию стимулировали неизбирательным холиномиметиком — карбахолином (“Renal”, Венгрия), который вводили внутримышечно в дозе 25 мкг/кг. Через 45 мин после введения карбахолина животных декапитировали, извлекали желудок, содержимое подвергали биохимическому анализу. Пептид глицилпролин (Gly-Pro, “Senn Chemicals”, Schweiz) в дозе 1 мг/кг вводили внутривентриально в объёме 1 мл на 200 г массы крысы. В качестве контроля вводили физиологический раствор в эквивалентных количествах. Крыс рандомизировали по 7 особей в 4 группы. Крысам 1-й и 3-й групп карбахолин с физиологическим раствором вводили через 90 мин после операции, крысам 2-й и 4-й групп карбахолин с Gly-Pro вводили через 90 мин после операции, крыс 3-й и 4-й групп иммобилизовали (модель острого стресса) на спине в течение 18 ч однократно до операции. В общей сложности время от начала экспериментальных манипуляций до регистрации показателей желудка у крыс 1-й и 2-й групп составило 4 ч, у крыс 3-й и 4-й групп — 22 ч. Работа на крысах выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ “Механизмы адаптации кардиомиоцитов в условиях ишемического и реперфузионного повреждения миокарда в эксперименте” № проекта 141.

Хронические опыты проведены на 7 взрослых беспородных бездомных собаках-самцах массой 15–22 кг с фистулой желудка по Басову, оперированных с использованием золетила (золозепам + талатамин) в дозе 1 мл на 5 кг массы. Собак брали в опыт натощак после 24 ч го-

лодной диеты, карбахолин вводили внутримышечно в дозе 6 мкг/кг с физиологическим раствором (контрольная серия); карбахолин вводили внутримышечно в дозе 6 мкг/кг с лей-энкефалином (ЛЭ) внутривенно в дозе 7 мкг/кг (опытная серия). Время наблюдений 2,5 ч.

О секреторной функции желудка крыс и собак судили по объёму отделяемого сока, активности H^+ , протеолитической активности по методу Ансона и Мирского в модификации Уголева А. М., содержанию фукозы, отражающей образование слизи [5]. Все биохимические показатели желудочного секрета получали с использованием спектрофотометра СФ-2000. Достоверность различий оценивали по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни и t критерию Стьюдента, используя STATISTICA 6.0. Результаты представлены в виде $M \pm m$ — среднее \pm стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Аминазин, вызывая угнетение функции гипоталамической области [12], снижал вегетативный компонент и эмоциональную окраску психической реакции [3]. У свиней ярче, чем у других видов животных, проявлялось ослабление болевой и тактильной чувствительности. Ацепромазин оказывал успокаивающее и миорелаксирующее действие посредством снижения раздражения и возбудимости центральной нервной системы. Дроперидол устранял активирующее влияние на кору больших полушарий при возникновении и проведении возбуждения в разных звеньях центральной и периферической нервной системы [13]. При ТКЭА развивается успокаивающий эффект, понижается чувствительность к раздражителям, устраняется чувство боли, в целом эффект напоминает действие снотворных и успокаивающих препаратов. Вся разнообразная по симптоматике картина состояния электроанестезии связана с мозаикой из элементов возбуждения, торможения, динамически развивающихся и взаимодействующих между собой реакций в различных центрах и образованиях коры больших полушарий и подкорково-стволовой области. Развитие в структурах головного мозга парабактериальных процессов под действием тока “аналгетических параметров” приводит к утрате ими функции проводимости, возбудимости и прерыванию афферентной импульсации, что обуславливает снижение тонуса коры больших полушарий, т.е. возникает состояние наркоза или сна.

Любое оперативное вмешательство сопровождается болью, которая вызывает стимуляцию симпатической

Таблица 1. Показатели секреторной активности желудка у собак под влиянием лей-энкефалина (7 мкг/кг, внутривенно, однократно) при стимуляции соковыделения карбахолином (6 мкг/кг внутримышечно однократно) ($M \pm m$)

Показатель, единицы измерения	Карбахолин	
	+ физиологический раствор (21)*	+ лей-энкефалин (21)*
Объём сока, мл	$5,1 \pm 0,6$	$9,3 \pm 0,7^{***}$
Содержание H^+ , мкмоль	$148,1 \pm 11,6$	$58,4 \pm 5,5^{***}$
Протеолитическая активность, ЕД	$459,2 \pm 41,5$	$332,6 \pm 37,7^{**}$
Содержание фукозы, мкмоль	$13,70 \pm 1,26$	$19,1 \pm 1,9^{***}$

Примечание: **, *** — различие от контрольной величины статистически значимо ($p < 0,05$, $p < 0,001$). * В скобках — число экспериментов.

нервной системы, что приводит к вазоконстрикции, усиливающей работу миокарда и кровоснабжение скелетных мышц, тогда как кровоснабжение желудочно-кишечного тракта снижается. При этом активация симпатической нервной системы на фоне болевого синдрома повышает тонус гладкой мускулатуры кишечника со снижением перистальтической активности. Такие нейрогуморальные изменения приводят к снижению эвакуаторно функции желудка, спазму сосудов печени и селезенки. При нормальной эвакуаторной функции контрастная масса покидает желудок не позднее 1 ч, при ускорении — в течение 30 мин. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что у поросят, оперированных с использованием ацепромазина и амиазина наблюдалось замедление эвакуации контрастной массы. При этом контрастная масса была неполностью распределена по желудку, не было перехода ее в следующий отдел пищеварительного тракта, визуализировались содержимое желудка, реберная дуга, грудина. У поросят 3 – 4 групп (с использованием ТКЭА и ее сочетания с дроперидолом) отмечалось, что контрастная масса занимает всю полость желудка, четко визуализируя его границы, и у некоторых животных видны были признаки перехода ее в двенадцатиперстную кишку.

Таким образом, транскраниальная электроанестезия с использованием П-образного импульсного тока частотой 500 Гц, длительностью 2,0 мс, силой 80 мА в сочетании с дроперидолом 5 мг/кг внутримышечно однократно способствует стабильной эвакуаторной функции желудка у поросят после лапаротомии.

В опытах на собаках показано, что ЛЭ вызывал увеличение объема отделяемого секрета (табл. 1). Наблюдаемое увеличение объема желудочной секреции в ответ на введение опиата может быть связано с изменением кровотока в слизистой через δ -рецепторы в подслизистом сплетении, а также через активацию синтеза простагландинов [17].

Опиат снижает кислотность желудочного сока (табл. 1), возможно, за счет угнетения выброса АХ и подавления секреции гастрин [18]. Уменьшение кислотности желудочного сока также может быть связано и с усилением секреции бикарбонатов клетками слизистой под действием энкефалинов [20]. Протеолитическая актив-

ность желудочного сока при введении ЛЭ уменьшалась (табл. 1), что может быть связано с параллельным снижением секреции активных H^+ , торможением выхода АХ из пресинаптических терминалей, а также антагонистическими свойствами вещества по отношению к гастрину. Результаты исследований показали, что ЛЭ усиливал слизеобразующую функцию желудка (табл. 1), по-видимому, за счет активации синтеза простагландинов [17]. Усиление образования слизи после введения пептида может способствовать ослаблению действия кислотно-пептического фактора, которое отмечалось в эксперименте.

После операции у крыс 1-й группы наблюдали развитие острофазного ответа гиперэргической направленности, контролируемого гипоталамо-гипофизарной и симпатoadrenalовой системами (табл. 2). Высокая секреторная активность желудка у крыс этой группы по сравнению с секрецией желудка интактных крыс, на наш взгляд, обусловлена активацией симпатического компонента вегетативной нервной системы [1, 14].

У крыс 3-й группы, иммобилизованных перед операцией, в сравнении с крысами 1-й группы наблюдали гипозэргическую направленность адаптивного ответа — уменьшение объема и кислотности желудочного сока (табл. 2). Последнее в значительной мере может способствовать снижению бактерицидной способности секрета желудка и ее гидролитического потенциала и привести к клинически значимым нарушениям постоянства гомеостаза. Следует отметить, что при создании модели операционного стресса с предварительной иммобилизацией в 3-й группе крыс регистрировали активацию парасимпатического компонента вегетативной нервной системы, что было показано ранее в гематологических исследованиях [14]. Введение пептида Gly-Pro крысам 2-й группы (с гиперэргической направленностью адаптивного ответа) приводило к снижению кислотности желудка, уменьшению содержания фукозы в соке (показателя деградации надэпителиальной слизи) и увеличению протеолитической активности желудочного сока (табл. 2). Мы полагаем, что этот эффект, вызванный пептидом после операции, будет способствовать оптимальному соотношению факторов агрессии и механизмов защиты слизистой оболочки желудка и возможности раннего начала энтерального кормления в послеоперационном периоде (что согласуется с европейскими рекомендациями) [19].

Таблица 2. Влияние иммобилизационного стресса и глицилпролина (Gly-Pro, 1 мг/кг внутрибрюшинно) на показатели индуцированной карбахолином (25 мкг/кг внутримышечно за 45 мин) секреторной функции желудка крыс ($M \pm m$)

Показатель, единица измерения	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
	группа сравнения		иммобилизационный стресс	
	физиологический раствор	Gly-Pro	физиологический раствор	Gly-Pro
Объем сока, мл	4,6 ± 0,33	4,0 ± 0,40	2,5 ± 0,27* ¹	4,4 ± 0,50* ³
Концентрация H^+ , мкмоль/мл	62,2 ± 3,91	40,0 ± 5,37* ¹	2,4 ± 2,20* ¹	28,1 ± 11,41* ^{3*1}
Протеолитическая активность, ЕД	90,9 ± 16,40	285,5 ± 15,97* ¹	81,7 ± 13,76	258,7 ± 30,71* ^{3*1}
Содержание фукозы, мкмоль	4,4 ± 0,44	3,2 ± 0,31* ¹	5,1 ± 0,69	4,1 ± 1,09

Примечания:

*¹ — по сравнению с 1-й группой статистически значимо при $p < 0,05$;

*³ — по сравнению с 3-й группой статистически значимо при $p < 0,05$

Введение пептида Gly-Pro крысам 4-й группы (с гипозргической направленностью адаптивного ответа) приводило к увеличению объема секрета желудка и кислотно-пептического фактора, который был значительно снижен под действием иммобилизации и операции (табл. 2). Таким образом, по нашему мнению, Gly-Pro минимизирует развитие метаболических реакций на иммобилизационный и операционный стресс. На наш взгляд такой эффект достигается за счет противоишемического действия Gly-Pro, который, как известно, обладает антикоагулянтной, фибринолитической и антиагрегантной активностью, а также за счет усиления лимфотока брыжейки крыс. С другой стороны, Gly-Pro находится в агонист и/или антагонист-отношениях с вегетативной нервной системой как парасимпатического, так и симпатического компонентов. Поэтому нельзя исключить участие пептида в регуляции метасимпатических влияний на желудок.

ВЫВОДЫ

1. Транскраниальная электроанестезия с использованием П-образного импульсного тока частотой 500 Гц, длительностью 2,0 мс, силой 80 мА в сочетании с дроперидолом 5 мг/кг внутримышечно однократно способствует стабильной эвакуаторной функции желудка у поросят после лапаротомии.

2. Лей-энкефалин в дозе 7 мкг/кг, введенный внутривенно однократно собакам, уменьшал содержание активных ионов водорода ($p < 0,05$) и протеолитическую активность желудочного сока ($p < 0,001$), при этом увеличивал объем желудочного сока и содержание фукозы ($p < 0,05$), тем самым смещая вектор соотношения агрессивных и защитных факторов слизистой оболочки желудка в сторону усиления последних.

3. Разнонаправленные изменения в секреторной активности желудка крыс в ответ на операционный и/или иммобилизационный стресс можно нивелировать, используя как компонент анестезиологического пособия Gly-Pro (1 мг/кг, внутривенно, однократно).

ЛИТЕРАТУРА

1. С. Д. Аминов, К. Т. Мирзаахмедова, *Педиатрия*, № 1 – 2, 118 – 119 (2013).

2. *Анестезиология и реаниматология*, О. А. Долина (ред.), Москва (2009).
3. Ю. Б. Белоусов, В. С. Моисеев, В. К. Лепехин, *Клиническая фармакология и фармакотерапия*, Универсум, Москва (1993).
4. И. И. Козловский, Л. А. Андреева, М. М. Козловская и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **75**(2), 10 – 13 (2012).
5. Н. А. Кривова, Г. Ц. Дамбаев, В. Е. Хитрихеев, *Надэпителиальный слизистый слой желудочно-кишечного тракта и его функциональное значение*, МГП "РАСКО", Томск (2002).
6. Т. В. Ласукова, Л. Н. Маслов, Ю. Б. Лишманов, Г. Д. Гросс, *Известия РАН, Сер. биол.*, № 1, 92 – 99 (2004).
7. И. П. Назаров, С. В. Сорсунов, *Сибирское мед. обозрение*, **40**(3), 24 – 29 (2006).
8. А. М. Овечкин, *Регионарная анестезия и лечение острой боли*, **2**(2), 49 – 62 (2008).
9. *Основные понятия в оценке медицинских технологий*, А. С. Колбин, С. К. Зырянов, Д. Ю. Белоусов (ред.), Москва (2013).
10. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*, Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачев (ред.), Москва (2010).
11. Г. Е. Самонина, Г. Н. Копылова, Б. А. Умарова и др., *Вопросы биол., мед. и фарм. химии*, № 4, 58 – 64 (2011).
12. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, *Боль и обезболивание*, Москва (1992), сс. 4 – 10.
13. *Руководство по анестезиологии*, Т. М. Дарбинян (ред.), Москва (1973).
14. Т. А. Томова, Е. Ю. Просекина, Т. А. Замощина и др., *Вестник Томского гос. университета. Биология*, **25**(1), 183 – 198 (2014).
15. Ch.-G. Zhou, H.-B. Shi, S. Liu, et al., *World J. Gastroenterol.*, **19**(40), 6869 – 6875 (2013).
16. P. J. Koelink, S. A. Overbeek, S. Braber, et al., *Gut*, **63**(4), 578 – 587, (2014).
17. G. Scoto, C. Parentic, E. Scoto, *Life sci.*, **48**(8), 867 – 871 (1991).
18. W. Shepp, J. Schneider, V. Schusdziarra, et al., *Peptides*, № 7, 885 – 890 (1986).
19. P. Singer, R. Anbar, J. Cohen, et al., *Intensive Care Med.*, **37**(4), 601 – 609 (2011).
20. G. Flemstrom, G. Jedstedt, O. Nylander, *Gastroenterology*, **90**(2), 368 (1986).

Поступила 15.06.14

TREATMENT OF SURGICAL STRESS RESPONSE BY NEUROLEPTICS, LEU-ENKEPHALIN, GLYCYL-PROLINE DIPEPTIDE, AND ELECTROANESTHESIA IN EXPERIMENTAL ANIMALS

L. G. Stepanova¹, T. A. Tomova², and E. Yu. Prosekina³

¹ Tomsk Agricultural Institute, Branch of Novosibirsk State Agrarian University, ul. Michurina 88, Tomsk, 634015 Russia

² Tomsk State Pedagogical University, ul. Kievskaya 60, Tomsk, 634061 Russia

³ Institute of Biology, Tomsk State University, prosp. Lenina 36, Tomsk, 634050 Russia

We have studied the effects of chlorpromazine, acepromazine, droperidol, and transcranial electroanesthesia upon evacuation function of the stomach in piglets and the effects of leu-enkephalin and glycyl-proline upon secretory activity of the stomach in dogs and rats during surgical stress to optimize anesthetic dosage. All pharmaceutical and nonpharmaceutical methods of anesthesia used in the experiments were implemented by activating stress-limiting systems in post-operational period. Leu-enkephalin, apart from stimulating the stress-limiting factors of neurohumoral systems of the organism, shifted the vector ratio of aggressive and protective factors of gastric mucosa toward strengthening of the latter. The opposite trends of changes in the secretory activity of the stomach of rats in response to surgical stress can be leveled using glycyl-proline as a component of anesthesia.

Keywords: surgical stress, acepromazine, chlorpromazine, transcranial galvanonarcosis, droperidol, carbacholine, Leu-enkephalin, glycyl-proline (Gly-Pro), pigs, rats, dogs, correction of anesthesia