

ФИЗОСТИГМИН КАК АНТИНОЦИЦЕПТИВНОЕ СРЕДСТВО: ВОЗМОЖНЫЙ ПУТЬ ПОВЫШЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ АНЕСТЕЗИОЛОГИЧЕСКОГО ПОСОБИЯ

А. Немировский

Кафедра анестезиологии Калифорнийского университета

Статья поступила 22.06.2016. Принята к печати 30.07.2016

Резюме: Создание новых безопасных анальгетических средств является актуальной задачей, решение которой позволит повысить эффективность анестезиологического пособия. Целью настоящего исследования явилось изучение анальгетического действия физостигмина, вводимого интратекально. Антиноцицептивное действие оценивалось с помощью метода «плантарной» стимуляции. Физостигмин при этом пути введения проявлял анальгетическое действие в раннем послеоперационном периоде. Действие физостигмина может быть обусловлено влиянием на спинальные звенья системы контроля афферентного входа.

Ключевые слова: физостигмин; анальгезия; контроль афферентного входа; холинергическая передача.

Библиографическое описание: Немировский А. Физостигмин как антиноцицептивное средство: возможный путь повышения безопасности анестезиологического пособия. Безопасность и риск фармакотерапии 2016; 3: 22–27.

Важной задачей анестезиологического пособия, во многом определяющей успех оперативного вмешательства, является адекватное обезболивание пациента. Вместе с тем, несмотря на широкий спектр лекарственных препаратов, снижающих болевое восприятие, вызываемые ими побочные эффекты являются стимулом к поиску принципиально новых групп анальгетиков.

Известно, что спинальное введение холиномиметиков и антихолинэстеразных средств вызывает антиноцицептивный эффект [1]. Ингибиторы ацетилхолинэстеразы вызывают обезболивание в экспериментах на крысах, однако в опытах на овцах не удалось получить аналогичное действие [2–4]. Учитывая, что действие антихолинэстеразных средств зависит от концентрации ацетилхолина, можно априорно предположить, что вызываемая ими анальгезия будет различаться в зависимости от степени участия холинергической системы на спинальном уровне. Установлено, что спонтанная спинальная холинергическая активность представлена у крыс, но не у овец. Однако, и у овец неостигмин при интратекальном введении в раннем послеоперационном периоде, вызывал анальгезию [5, 6].

Целью настоящей работы явилось сравнительное исследование антиноцицептивного эффекта антихолинэстеразного препарата физостигмина при интратекальном введении в раннем (остром) и позднем послеоперационном исследовании.

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эксперименты на животных проведены в соответствии с требованиями Этического комитета Калифорнийского университета. Были использованы самцы крыс Sprague Dawley весом 300–350 г. Животные содержались в индивидуальных боксах при температуре воздуха 23 при 12-часовом цикле день-ночь. Вода и пища были свободно доступны ad libitum. Тестирование проводили в течение «светлого» цикла. Для интратекального введения использовали субарахноидальный катетер, вводимый по методике, описанной Т. Yaksh и Т. Rudy [7]. Для внутривенного введения использовался катетер, установленный в яремной вене. Под общим наркозом (кислород, закись азота и галотан) через атланта-окципитальную мембрану вводили катетер, который достигал уровня поясничных

сегментов. Оба катетера выводились на спину животного для предотвращения их повреждения. Через 1 час после операции животные полностью восстанавливались.

Крысы, проявлявшие любые признаки неврологического дефицита или неадекватное поведение, выводились из эксперимента. Сразу после операции животные разделялись на две группы: первая группа исследовалась в течение 1–4 часов после операции, в то время как вторая группа включалась в эксперимент через 3–5 дней после операции.

Ноцицепция оценивалась в тесте «плантарной стимуляции» [8]. Влияние на ноцицепцию определялось по изменению латентного периода на болевую стимуляцию лапы. Для предотвращения повреждения тканей лапы животного было введено время прерывания стимуляции (cut-off time) 15 сек. Исходный латентный период определялся как среднее трех определений с 5-минутным интервалом до введения лекарственных препаратов. После введения препарата латентный период определялся в течение 2 часов после введения с целью определения максимального значения.

Все используемые в эксперименте вещества растворялись в 0,9 % растворе натрия хлорида и вводились интратекально в объеме 10 мкл или внутривенно в объеме 1 мл/кг.

В качестве позитивного контроля в конце эксперимента использовалось интратекальное введение 10 мкл 2 % лидокаина. Данные, полученные у животных, которые в течение 3 последующих за введение минут не парализовались, исключались из исследования.

Ноцицептивный ответ каждой крысы трансформировался в показатель максимально возможный эффект (МВЭ)

$$\% \text{ МВЭ} = \frac{[A - B]}{[\text{cut} - \text{offtime} - B]} \cdot 100;$$

где A — латентный период после введения; B — латентный период до введения.

Сравнение результатов между группами животных проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Анализ парных данных проводили используя тест Student-Newman-Keuls, где значение $P < 0,05$ считалось значимым.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ

Физостигмин в дозе 10 или 20 мкг интратекально, введенный через 1–4 часа после

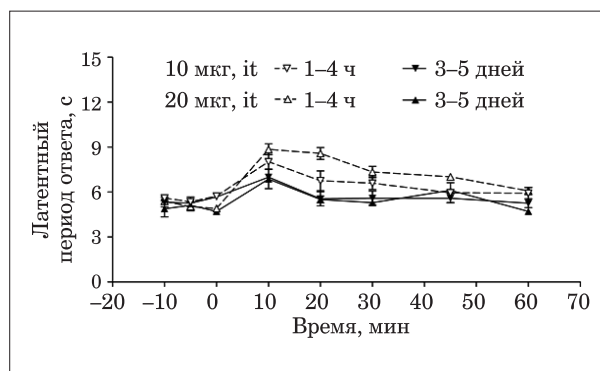


Рис. 1. Влияние физостигмина 10 и 20 мкг it на латентный период ноцицептивного ответа крыс через 1–4 часа или 3–5 дней после операции. Каждая точка представляет усредненный ответ 5–6 животных. «0 мин» — время введения препарата.

операции, независимо от дозы увеличивал латентный период ноцицептивного ответа (Рис. 1). % МВЭ составил $26,7 \pm 4,7\%$ и $43 \pm 3,8\%$ соответственно. Антиноцицептивный ответ достигал максимума через 10 мин после введения и возвращался к исходному уровню через 45 и 60 мин после введения 10 и 20 мкг физостигмина соответственно. Различия для двух доз были статически значимыми. Значимая разница была получена также при сопоставлении AUC обеих доз.

При использовании тех же доз физостигмина на 3-й — 5-й день после операции латентный период ответа, а также длительность антиноцицептивного эффекта значительно сокращались (Рис. 1). % МВЭ составил $17,2 \pm 1,9$ и $21,6 \pm 4,6\%$ для соответственно 10 или 20 мкг.

Внутривенное введение физостигмина через 1–4 часа после операции в дозах 50 и 100 мкг/кг выявило зависимое от дозы влияние на латентный период реакции. % МВЭ составил $13,7 \pm 6,6$ и $42,8 \pm 7,6\%$ для 50 и 100 мкг/кг соответственно. Разница между эффектами, полученными для этих доз, не была статистически значимой. При введении тех же доз через 3–5 дней после операции у животных отмечено менее выраженное влияние на латентный период. Аналогичная незначимая разница наблюдалась при обработке данных AUC. Статистический анализ также показал, что влияние 100 мкг/кг внутривенного введения физостигмина было значительно более выражено в раннем послеоперационном периоде по сравнению с действием, отмеченным через 3–5 дней после операции.

Для оценки роли холинергических механизмов в спинальной анальгезии при введении ингибиторов холинэстеразы была проведена дополнительная серия экспериментов с внутривенным введением физостигмина и интратекальным введением холиноблокатора атропина. Оба препарата вводились в остром послеоперационном периоде, так как в этот период физостигмин проявлял максимальный антиноцицептивный эффект. Атропин, введенный без физостигмина не вызывал изменений латентного периода ноцицептивных реакций экспериментальных животных. Не было отмечено изменения ноцицептивного порога при введении физостигмина в дозе 100 мкг/кг через 20 мин после введения атропина. Процентное выражение МПЭ комбинации атропина и физостигмина было значительно меньше процентного выражения МПЭ физостигмина без атропина и не отличался от контроля.

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящем исследовании показано, что интратекальное и внутривенное введение ингибитора холинэстеразы физостигмина у оперированных крыс в остром периоде вызывало более выраженный антиноцицептивный эффект, чем при применении той же дозы через 3 дня после операции. Это позволяет предположить, что спинальная холинергическая система активирована в раннем послеоперационном периоде. Способность атропина при интратекальном введении предотвращать эффекты при системном введении физостигмина позволяет предположить, что, холинергические структуры, активируемые в раннем послеоперационном периоде, расположены скорее на спинальном, чем на супраспинальном уровне.

Результаты настоящего исследования соответствуют ранее полученным Bouaziz, et al. данным, показавшим, что антихолинэстеразные средство неостигмин не эффективно у овец через 5 дней после операции, вызывает обезболевание в раннем послеоперационном периоде [5].

Основываясь на наших данных и результатах предыдущих исследований можно предположить, что в раннем послеоперационном периоде развивается состояние активации эндогенной системы, включающей холинергическое звено. Этот феномен наблюдался у различных видов животных не зависимо от

уровня спонтанной холинергической активности. Мы не знаем достоверно, что может быть причиной повышенной активации спинальной холинергической системы.

Согласно гипотезе американских исследователей, послеоперационная боль повышает холинергический тонус и соответственно эффект ингибиторов холинэстеразы [5]. Эта гипотеза была подтверждена другими учеными, показавшим, что электрическая стимуляция ноцицептивных первичных афферентов приводит к увеличению уровня ацетилхолина в спинномозговой жидкости [6]. Несколько доказательств поддерживают эту гипотезу, хотя механизм остается неясным.

Ряд поведенческих, электрофизиологических и биохимических экспериментов показал, что болевые стимулы, нанесенные на одну часть тела были способны угнетать ответ на другой болевой стимул, наносимый удаленный участок [9–17]. Очевидно, что эндогенные антиноцицептивные системы действуют через как проприоспинальные, так и супраспинальные механизмы. Последний обозначается как диффузный ингибирующий болевой контроль (ДИБК) [8]. Медиатором, который выделяется в ответ на активацию нисходящей ДИБК, является серотонин, хотя имеются указания, что может быть вовлечен норадреналин. Возможно, что медиатором в проприоспинальной системе является ацетилхолин. Однако, возможно, что ни норадреналин, ни ДИБК не вовлечены в проприоспинальную холинергическую систему. Другая группа ученых показала, что болевая коло ректальная стимуляция угнетается термически вызванным ноцицептивным рефлексом [4]. Этот эффект устранялся интратекальным предварительным введением меисергида или атропина, но не фентоламина, и взаимодействие с дорзолатеральными канатиками не изменяло влияния холиноблокаторов.

Кроме того, последние исследования дают основания предположить, что острая послеоперационная боль может относиться к разновидности боли, не вызывающей ДИБК.

Другой триггер, который может увеличить активность эндогенной антиноцицептивной системы, является стресс, связанный с операцией. Было показано в ряде исследований, что стрессорные воздействия способны вызвать антиноцицепцию. Этот феномен называется вызванная стрессом анальгезия (ВСА). Антиноцицептивный ответ, вызван-

ный различными воздействиями окружающей среды, отличается от фармакологического. Считается, что некоторые формы ВСА интегрируют супраспинальную часть, которая обеспечивает анальгезию через нисходящие пути, другие используют проприоспинальные пути. Показаны опиоидные и неопиоидные механизмы развития ВСА, имеющие, вероятно, холинергические связи, которые не изучены в достаточной степени. Можно предположить наличие скорее супраспинального, чем спинального уровня анальгезии, однако, это было продемонстрировано только в модели анальгезии, использующей стимуляцию лап.

Так как хирургическая операция является стрессорным событием, мы можем утверждать, активация эндогенных механизмов способна угнетать ноцицепцию. Эти механизмы могут включать холинергическую систему, которая будет увеличивать уровень ацетилхолина и влияние ингибиторов холинэстеразы. Представленные данные и предыдущие схожие исследования являются попыткой создания принципиально новых анальгетиков, а немедленная послеоперационная боль может быть показанием для использования в будущем ингибиторов холинэстеразы как анальгетических средств [19–22].

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В раннем послеоперационном периоде ноцицептивная стимуляция сама по себе способна запускать антиноцицептивную систему. Ноцицептивные стимулы, исходящие из хирургической раны, могут вызывать ВСА. Оба эти события, использующие одинаковые/различные пути, приводят к активации спинальных холинергических нейронов с последующим увеличением в спинномозговой жидкости уровня ацетилхолина и эффектов ингибиторов холинэстеразы.

Результаты настоящего исследования могут иметь определенное клиническое значение, так как немедленная послеоперационная боль может быть мишенью для ингибиторов холинэстеразы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nemirovsky A, Niv D. Cholinergic Mechanisms and antinociception. In: Aronoff GM, Parris WC, Pawl RP, Raj PP, eds. *Current Review of Pain*. Current Science, Inc; 1996. С. 10–22, 1996.
2. Detweiler DJ, Eisenach JC, Tong C, Jackson C. A cholinergic interaction in alpha sub 2 adrenoceptor-mediated antinociception in sheep. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 265: 536–42.
3. Bouaziz H, Hewitt C, Eisenach JC. Spinal neostigmine potentiation of alpha sub 2-adrenergic agonist analgesia: dexmedetomidine versus clonidine. *Reg Anesth* 1995 in press.
4. Zhuo M, Gebhart GF. Tonic cholinergic inhibition of spinal mechanical transmission. *Pain* 1991; 46: 211–22.
5. Bouaziz H, Tong C, Eisenach JC. Postoperative analgesia from intrathecal neostigmine in sheep. *Anesthesia & Analgesia* 1995; 80: 1140–4.
6. Eisenach JC, Detweiler DJ, Tong C, D'Angelo R, Hood DD. Cerebrospinal fluid norepinephrine and acetylcholine concentrations during acute pain. *Anesthesia & Analgesia* 1996; 82: 621–6.
7. Yaksh T, Rudy TA. Studies on the direct spinal action of narcotics in the production of analgesia in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1977; 202 (2): 411–28.
8. Kraus E, Besson JM, Le Bars D. Behavioral model for diffuse noxious inhibitory controls (DNIC): potentiation by 5-hydroxytryptophan. *Brain Research* 1982; 231 (2): 461–5.
9. Cadden SW, Villanueva L, Chitour D, Le Bars D. Depression of activities of dorsal horn convergent neurons by propriospinal mechanisms triggered by noxious input; comparison with diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). *Brain Research* 1983; 275 (1): 1–11.
10. Bouhassira D, Villanueva L, Bing Z, Le Bars D. Involvement of the subnucleus reticularis dorsalis in diffuse noxious inhibitory controls in rat. *Brain Research* 1992; 595 (2): 353–7.
11. Bouhassira D, Bing Z, Le Bars D. Studies of brain structures involved in diffuse noxious inhibitory controls in the rat: the rostral ventromedial medulla. *Journal of Physiology* 1993; 463: 667–87.
12. Morgan MM, Gogas KR, Basbaum AI. Diffuse noxious inhibitory controls reduce the expression of noxious stimulus-evoked Fos-like immunoreactivity in the superficial and deep laminae of the rat spinal cord. *Pain* 1994; 56 (3): 347–52.
13. Zhuo M, Gebhart GF. Inhibition of a cutaneous nociceptive reflex by a noxious visceral stimulus is mediated by spinal cholinergic and descending serotonergic systems in the rat. *Brain Research* 1992; 585 (1–2): 7–18.
14. Morton CR, Maisch B, Zimmermann M. Diffuse noxious inhibitory controls of lumbar spinal neurons involve a supraspinal loop in the cat. *Brain research* 1987; 410 (2): 347–52.
15. (DNIC) in animals and in man. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 1992; 4: 55–65.
16. Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurons in the rat. *Pain* 1979; 6 (3): 283–304.
17. Chitour D, Dickenson AH, Le Bars D. Pharmacological evidence for the involvement of serotonergic

- mechanisms in diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). *Brain Research* 1982; 236 (2): 329–37.
18. Men DS, Matsui Y. Activation of descending noradrenergic system by peripheral nerve stimulation. *Brain Research Bulletin* 1994; 34 (3): 177–82.
 19. Peters ML, Schmidt AJ, Van den Hout MA, Koopmans R, Sluijter ME. Chronic back pain, acute postoperative pain and the activation of diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). *Pain* 1992; 50 (2): 177–87.
 20. Lewis JW, Cannon JT, Liebeskind JC. Involvement of central muscarinic cholinergic mechanisms in opioid stress analgesia. *Brain Res* 1983; 270: 289–293.
 21. MacLennan AJ, Drugan RC, Maier SF. Long-term stress-induced analgesia blocked by scopolamine. *Psychopharmacology* 1983; 80: 267–268.
 22. Mayer DJ, Watkins LR. Multiple endogenous opiate and nonopiate analgesia systems. *Adv Pain Res Ther* 1984; 6: 253–276.

ОБ АВТОРАХ

Харборский медицинский центр Калифорнийского университета, США, Калифорния 90509, Торранс, ул. Уэст-Карсон, 1000. Медицинский центр Уэст-Хилла, США, Калифорния 91307, Уэст-Хилл, Медицинский центр, 7300.

Немировский Александр. Кафедра анестезиологии, профессор.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Александр Немировский
aynemir@gmail.com

PHYSOSTIGMINE AS AN ANTINOCICEPTIVE AGENT: A POSSIBLE WAY TO IMPROVE THE SAFETY OF ANESTHESIA

A. Nemirovsky

Anesthesiology Department of University of California, Los-Angeles

Summary. Search for new safe analgesics is an urgent task that will increase the safety and efficiency of anesthesia. The aim of this study was to investigate the analgesic effect of intrathecally administered physostigmine. Antinociceptive effect was evaluated by using the method «plantar» stimulation. Administered intrathecally physostigmine caused analgesic action in the early postoperative period. Efficiency of physostigmine may be due to the influence on cholinergic links of afferent gate control system at spinal level.

Key words: physostigmine; analgesia; afferent gate control; cholinergic transmission

For citation: Nemirovsky A. Physostigmine as an antinociceptive agent: a possible way to improve the safety of anesthesia. *Safety and Risk of Pharmacotherapy* 2016; 3: 22–27.

REFERENCES

1. Nemirovsky A, Niv D. Cholinergic Mechanisms and antinociception. In: Aronoff GM, Parris WC, Pawl RP, Raj PP, eds. *Current Review of Pain*. Current Science, Inc; 1996. P. 10–22, 1996.
2. Detweiler DJ, Eisenach JC, Tong C, Jackson C. A cholinergic interaction in alpha sub 2 adrenoceptor-mediated antinociception in sheep. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;265:536–42.
3. Bouaziz H, Hewitt C, Eisenach JC. Spinal neostigmine potentiation of alpha sub 2-adrenergic agonist analgesia: dexmedetomidine versus clonidine. *Reg Anesth* 1995 in press.
4. Zhuo M, Gebhart GF. Tonic cholinergic inhibition of spinal mechanical transmission. *Pain* 1991; 46: 211–22.
5. Bouaziz H, Tong C, Eisenach JC. Postoperative analgesia from intrathecal neostigmine in sheep. *Anesthesia & Analgesia* 1995; 80: 1140–4.
6. Eisenach JC, Detweiler DJ, Tong C, D'Angelo R, Hood DD. Cerebrospinal fluid norepinephrine and acetylcholine concentrations during acute pain. *Anesthesia & Analgesia* 1996; 82: 621–6.
7. Yaksh T, Rudy TA. Studies on the direct spinal action of narcotics in the production of analgesia in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1977; 202 (2): 411–28.
8. Kraus E, Besson JM, Le Bars D. Behavioral model for diffuse noxious inhibitory controls (DNIC): potentiation by 5-hydroxytryptophan. *Brain Research* 1982; 231 (2): 461–5.
9. Cadden SW, Villanueva L, Chitour D, Le Bars D. Depression of activities of dorsal horn convergent neurons by propriospinal mechanisms triggered by noxious input; comparison with diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). *Brain Research* 1983; 275 (1): 1–11.
10. Bouhassira D, Villanueva L, Bing Z, Le Bars D. Involvement of the subnucleus reticularis dorsalis in

- diffuse noxious inhibitory controls in rat. *Brain Research* 1992; 595 (2): 353–7.
11. Bouhassira D, Bing Z, Le Bars D. Studies of brain structures involved in diffuse noxious inhibitory controls in the rat: the rostral ventromedial medulla. *Journal of Physiology* 1993; 463: 667–87.
 12. Morgan MM, Gogas KR, Basbaum AI. Diffuse noxious inhibitory controls reduce the expression of noxious stimulus-evoked Fos-like immunoreactivity in the superficial and deep laminae of the rat spinal cord. *Pain* 1994; 56 (3): 347–52.
 13. Zhuo M, Gebhart GF. Inhibition of a cutaneous nociceptive reflex by a noxious visceral stimulus is mediated by spinal cholinergic and descending serotonergic systems in the rat. *Brain Research* 1992; 585 (1–2): 7–18.
 14. Morton CR, Maisch B, Zimmermann M. Diffuse noxious inhibitory controls of lumbar spinal neurons involve a supraspinal loop in the cat. *Brain research* 1987; 410 (2): 347–52.
 15. (DNIC) in animals and in man. *Pathological physiology and experimental therapy* 1992; 4: 55–65.
 16. Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurons in the rat. *Pain* 1979; 6 (3): 283–304.
 17. Chitour D, Dickenson AH, Le Bars D. Pharmacological evidence for the involvement of serotonergic mechanisms in diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). *Brain Research* 1982; 236 (2): 329–37.
 18. Men DS, Matsui Y. Activation of descending noradrenergic system by peripheral nerve stimulation. *Brain Research Bulletin* 1994; 34 (3): 177–82.
 19. Peters ML, Schmidt AJ, Van den Hout MA, Koopmans R, Sluifjter ME. Chronic back pain, acute postoperative pain and the activation of diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). *Pain* 1992; 50 (2): 177–87.
 20. Lewis JW, Cannon JT, Liebeskind JC. Involvement of central muscarinic cholinergic mechanisms in opioid stress analgesia. *Brain Res* 1983; 270: 289–293.
 21. MacLennan AJ, Drugan RC, Maier SF. Long-term stress-induced analgesia blocked by scopolamine. *Psychopharmacology* 1983; 80: 267–268.
 22. Mayer DJ, Watkins LR. Multiple endogenous opiate and nonopiate analgesia systems. *Adv Pain Res Ther* 1984; 6: 253–276.

AUTHORS

Departments of Anesthesiology Harbor UCLA Medical Center, 1000 West Carson Street, Torrance, California, 90509 and West Hills Medical Center, 7300 Medical Center Dr, West Hills, CA, 91307

Nemirovsky A. MD, PhD