АНЕСТЕЗИЯ САМОК МЫШЕЙ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ

Н.С. Огнева*, Е.С. Савченко, Л.А. Таболякова

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

Подбор адекватной комбинации препаратов для анестезии самок мышей при хирургической трансплантации эмбрионов является важной частью процесса, т. к. недостаточная глубина наркоза или влияние нежелательных эффектов на организм самки и эмбрион могут привести к неудовлетворительному результату эксперимента. В нашей работе мы используем сочетание двух препаратов для анестезии животного: Золетил 100 и Медитин, а также Антиседан сразу после трансплантации для более быстрого выхода из наркоза.

Ключевые слова: анестезия, хирургическая трансплантация, мыши, золетил 100, медитин, антиседан

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Огнева Н.С., Савченко Е.С., Таболякова Л.А. Анестезия самок мышей при хирургической трансплантации эмбрионов. *Биомедицина*. 2021;17(3E):64–69. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-17-3E-64-69>

Поступила 19.04.2021

Принята после доработки 11.06.2021

Опубликована 20.10.2021

ANESTHESIA OF FEMALE MICE DURING SURGICAL EMBRYO TRANSFER

Nastasya S. Ogneva*, Elena S. Savchenko, Lidiya A. Taboyakova

Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1

The selection of an adequate combination of drugs for anesthesia of female mice during surgical embryo transfer is an important part of the process, since insufficient depth of anesthesia or the influence of undesirable effects on the pregnant female and the embryo can lead to unsatisfactory results of the experiment. In our work, we use a combination of 2 drugs for anesthesia of an animal: Zoletil 100 and Meditin, as well as Antisedan immediately after transplantation for a faster recovery from anesthesia.

Keywords: anesthesia, surgical embryo transfer, mice, zoletil 100, meditin, antisedan

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Ogneva N.S., Savchenko E.S., Taboyakova L.A. Anesthesia of Female Mice During Surgical Embryo Transfer. *Journal Biomed*. 2021;17(3E):64–69. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-17-3E-64-69>

Submitted 19.04.2021

Revised 11.06.2021

Published 20.10.2021

Введение

С незапамятных времён люди пытались найти средства, чтобы облегчить мучительную боль, или гуманный способ провести даже самую элементарную операцию. В разных странах были свои подходы к обезболиванию, например в древнем Египте делали лекарства на основе опиума, в Китае пользовалась популярностью смесь вина и растёртой в порошок конопли, индейцы жевали листья коки и капали насыщенной слюной на рану больному. С развитием естественных наук к концу XVIII века стали появляться такие вещества, как эфир, хлороформ, закись азота. 30 марта 1842 года Кроуфордом Лонгом была произведена первая в мире операция по удалению опухоли затылка с применением эфирного наркоза. А после публичной демонстрации операции под эфиром 16 октября 1846 года врачи со всего мира поняли, что хирургические операции могут быть безболезненными и немучительными для пациента. Именно с этого знаменательного дня, по мнению историков, зародилась наука — анестезиология [6, 7]. В настоящее время под анестезией понимают обратимое угнетение центральной нервной системы, сопровождающееся комплексом клинических признаков, таких как отсутствие сознания, болевой чувствительности, значительное подавление рефлекторных реакций в организме и снижением тонуса скелетных мышц. Достигнуть такого широкого спектра эффектов, как правило, невозможно при использовании одного препарата, поэтому главной задачей анестезиолога является рациональный подбор комбинации препаратов в каждом индивидуальном случае.

Особенной осторожности требует работа с беременными и планирующими беременность. Поскольку влияние лекарств на плод трудно поддаётся изучению в связи с этическими аспектами, важно минимизировать лекарственную нагрузку, чтобы

не нарушить наступление беременности и развитие плода. В биомедицинских исследованиях при проведении хирургической трансплантации эмбрионов в яйцевод самки-реципиентки важно подобрать оптимальную схему наркотизирования, обеспечивающую не только глубокую седацию и обезболивание во время операции, чтобы не подвергать губительному стрессу животное, но и быстрое прекращение действия нежелательных эффектов на организм будущей матери и эмбрион. Исходя из этих принципов в нашей работе мы используем комбинацию наиболее новых и селективных препаратов Золетил 100 («Virbac», Франция) и Медитин («Api-San», Россия) для наркотизирования самки, а также Антиседан («Orion Pharma», Финляндия), сразу после проведения хирургической манипуляции, что способствует снятию нежелательных эффектов на организм мыши и быстрому выходу из наркоза благодаря антагонистическому действию Антиседана на Медитин.

Золетил 100 представляет собой смесь двух действующих веществ — золазепам гидрохлорида и тилетамина гидрохлорида — в равной дозировке 250 мг. Тилетамина гидрохлорид является диссоциативным анестетиком. Благодаря антагонизму к NMDA-рецепторам он блокирует передачу глутамата, являющегося возбуждающим нейротрансмиттером. Действие тилетамина основано на функционально-электрофизиологической диссоциации между таламокортикальной и лимбической системами, вследствие которой происходит подавление болевой чувствительности, но сознание и рефлексы сохранены [3, 10]. Золазепам относится к группе бензодиазепинов, обладающих анксиолитической, противосудорожной, мышечно-расслабляющей и амнестической активностью. Механизм действия препарата связан с его взаимодействием с бензодиазепиновыми рецепторами, за счёт которого повышает-

ся аффинитет ГАМК к ГАМК α -рецепторам и усиливается тормозное влияние ГАМК на организм (рис. 1). Миорелаксация достигается благодаря угнетению спинальных полисинаптических рефлексов [1, 8]. Комбинация данных препаратов основана на неспособности тилетамина подавлять рефлекс и угнетать сознание, а золазепам — полностью устранять болевую чувствительность.

Медитин (медетомидин) стимулирует периферические и центральные $\alpha 2$ -адренорецепторы, обладает более селективным действием по сравнению с его предшественником, ксилазином, что позволяет уменьшить лекарственную нагрузку на организм самки. $\alpha 2$ -агонисты имеют широкий спектр терапевтических действий, главными из которых является глубокая седация и анальгезия. Анксиолитический эффект достигается благодаря стимуляции постсинаптических $\alpha 2$ -адренорецепторов

голубого пятна ствола головного мозга и, как следствие, увеличению выброса норадреналина по всей коре головного мозга. Анальгетический эффект достигается активацией пресинаптических норадренергических $\alpha 2$ -рецепторов дорсальных рогов спинного мозга (рис. 2) [2, 4, 5].

Комбинация данных препаратов обеспечивает максимальный уровень седации и обезболивания при минимальных дозировках каждого отдельного лекарственного средства, что сокращает частоту и тяжесть побочных эффектов на организм животного.

Для прекращения действия $\alpha 2$ -агонистов на организм животного в практике используются два различных лекарственных вещества — йохимбин и атипамезол. Йохимбин является алкалоидом коры западноафриканского дерева *Corynanthe*. Как показывают исследования зарубежных коллег, избирательность действия йохимбина ниже, чем у атипамезола и, соответственно, бо-

Рис. 1. Схема воздействия бензодиазепинов на организм. Синей стрелкой показано действие золазепам на бензодиазепиновый рецептор, вследствие активации которого происходит каскад реакций, приводящих к подавлению возбуждения [10].

Fig. 1. Scheme of the effects of benzodiazepines on the body. The blue arrow shows the effect of zolazepam on the benzodiazepine receptor; as a consequence of the activation of which a cascade of reactions occurs, leading to suppression of excitation [10].

Рис. 2. Схема воздействия $\alpha 2$ -агонистов на организм [12].

Fig. 2. Scheme of the effects of $\alpha 2$ -agonists on the body [12].

Таблица. Факторы оценки выхода мышей из наркоза (период наркотизирования в минутах), $n=10$, $p=0,01$
Table. Factors for assessing the recovery of mice from anesthesia (period of anesthesia in minutes), $n=10$, $p=0.01$

Фактор / Группа животных	Золетил + Медитин	Золетил + Медитин + Антиседан
Учащение дыхания	20±0,54	2±0,30
Положительная реакция на зажатие хвоста пинцетом	30±0,51	2±0,40
Мышечные сокращения	40±0,78	5±0,36
Некоординированные движения	120±3,77	15±0,52

лее низкие показатели в скорости и качестве пробуждения животного из наркоза. Антиседан (атипамезол) разработан как антидот медетомидина, его коэффициент избирательности $\alpha_2:\alpha_1$ составляет 8500:1 соответственно. Благодаря антагонистическому действию на α_2 -рецепторы подавляется выброс норадреналина и, как следствие, прекращаются эффекты, вызванные медетомидином [9, 11].

Целью работы явилась оценка эффективности подобранной нами схемы наркотизирования при хирургической трансплантации эмбрионов.

Материалы и методы

В работе использовались 20 самок-гибридов первого поколения (F1) CBA/lac × C57BL/6Y в возрасте 6 недель, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России и содержащихся в барьерной системе «Rair Iso System» со свободным доступом к воде и пище, при температуре воздуха 21–23°C и световом режиме 12/12 ч.

Для оценки эффективности подобранной нами схемы наркотизирования животные были разделены на две группы по 10 самок в каждой. Первой группе внутривенно вводилась комбинация препаратов Золетил 100 в дозе 12,5 мг/кг и Медитин в дозе 1 мг/кг, второй группе дополнительно, спустя 10 мин, подкожно вводился препарат Антиседан в дозе 2,5 мг/кг.

Глубина наркоза оценивалась визуально по отсутствию движений у мыши и отрицательной реакции на болевой раздражитель

в виде зажатия хвоста пинцетом. После введения всех препаратов оценивался выход из наркоза по четырём показателям в обеих группах по времени.

Результаты исследований

После внутривенного введения комбинации препаратов Золетил 100 и Медитин мыши обеих групп входили в наркоз в течение 3–5 мин, реакции на зажатие хвоста пинцетом не отмечалось ни у одной мыши. Как показывают результаты (табл.), введение Антиседана ускоряет выход мышей из наркоза почти в 10 раз по сравнению с группой, не получающей его после введения Золетила и Медитина, что подтверждает целесообразность выбранной нами схемы наркотизирования.

Заключение

Под анестезией подразумевается целый комплекс клинических проявлений, в связи с чем квалифицированному анестезиологу необходимо подобрать оптимальную комбинацию препаратов и их дозировку для каждого конкретного случая. При хирургической трансплантации эмбрионов в яйцевод самки-реципиента стресс, вызванный недостаточной глубиной анестезии или дискомфортом во время и после операции, может приводить к прерыванию беременности или недостаточному развитию материнского инстинкта после рождения потомства, что приведёт к гибели новорождённых и, как следствие, неудовлетворительному результату исследования.

Нами установлено, что применение двухкомпонентного наркоза Золетил 100 +

Медитин в дозе 12,5 мг/кг и 1 мг/кг, соответственно, обеспечивает глубокую седацию и анальгезию у мышей во время операции, а дополнительное введение Антиседана

в дозе 2,5 мг/кг способствует в разы более быстрому выходу животных из наркоза, что благоприятно отражается на физиологическом состоянии матери и эмбриона.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Каркищенко В.Н., Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б. *Фармакологические основы терапии. Тезаурус: Руководство для врачей и студентов*. Издание третье — новая редакция. М., СПб.: Айсинг, 2018:288. [Karkischenko V.N., Karkischenko N.N., Shustov E.B. *Farmakologicheskie osnovy terapii [Pharmacological basics of therapy]*. Thesaurus. 3rd ed. Moscow, Saint-Petersburg: Ajsing Publ., 2018:288. (In Russian)].
2. Козлов И.А. Агонист $\alpha 2$ -адренорецепторов дексметомидин в практике современной седации. *Общая реаниматология*. 2013;9(2):55–65. [Kozlov I.A. Agonist $\alpha 2$ -adrenoretseptorov deksetomidin v praktike sovremennoy sedatsii [The $\alpha 2$ -adrenoceptor agonist dexmedetomidine in current sedation practice]. *Obshaya reanimatologia [Common reanimatology]*. 2013;9(2):55–65. (In Russian)].
3. Корнюшенков Е.А. Диссоциативные анестетики в клинике мелких домашних животных. *Российский ветеринарный журнал*. Мелкие домашние и дикие животные. 2015;3:38–41. [Kornuyushenkov E.A. Dissotsiatiivnye anestetiki v klinike melkikh domashnikh zhivotnykh [Dissociative anesthetics in the small animal clinic]. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye [Russian veterinary journal. Small domestic and wild animals]*. 2015;3:38–41. (In Russian)].
4. Корнюшенков Е.А. Применение Медитина (медетомидина) в качестве компонента седации. *Российский ветеринарный журнал*. 2017;5:30–33. [Kornuyushenkov E.A. Primenenie Meditina (medetomidina) v kachestve komponenta sedatsii [Application of Meditin (medetomidine) as a component of sedation]. *Russian veterinary journal*. 2017;5:30–33. (In Russian)].
5. Мальцева А.Н. Препараты для анестезии — что важно знать врачу. *VetPharma*. 2017;1(35):40. [Mal'tseva A.N. Preparaty dlya anesteziy — chto vazhno znat' vrachu [Anesthetics: What doctor should know]. *VetPharma*. 2017;1(35):40. (In Russian)].
6. Мороз В.В., Васильев В.Ю., Кузовлев А.Н. Исторические аспекты анестезиологии-реаниматологии. *Общая реаниматология*. 2006;2(2):59–67. [Moroz V.V., Vasilyev V.Yu., Kuzovlev A.N. Istoricheskie aspekty anesteziologii-reanimatologii [Anesthesiology — Reanimatology: Historical Aspects]. *Obshchaya reanimatologiya [General Reanimatology]*. 2006;2(2):59–67. (In Russian)]. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-2-59-67.
7. Попов А.С., Экстрем А.В., Шлахтер С.М., Тириченко Д.С. История анестезиологии и реаниматологии как клиническая и научная дисциплины. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2013;4(40):10–13. [Popov A.S., Extrem A.V., Shlachter S.M., Tirichenko D.S. Istoriya anesteziologii i reanimatologii kak klinicheskaya i nauchnaya distsipliny [Anesthesiology and resuscitation history as clinical and scientific disciplines]. *Volgograd Medical Scientific Journal*. 2013;4(40):10–13. (In Russian)].
8. Харкевич Д.А. *Фармакология*. Учебник. 12-е изд., М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017:760. [Harkevich D.A. *Farmakologiya [Pharmacology]*. Textbook. 12th ed. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2017:760. (In Russian)].
9. Janssen C.F., Maiello P., Wright M.J. Jr, Kracinovsky K.B., Newsome J.T. Comparison of atipamezole with yohimbine for antagonism of xylazine in mice anesthetized with ketamine and xylazine. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2017;56(2):142–147.
10. Lüllmann H., Mohr K., Ziegler A., Bieger D. *Color Atlas of Pharmacology*. 2nd ed., revised and expanded. Stuttgart — New York: Thieme, 2000:386.
11. Mees L., Fidler J., Kreuzer M., Fu J., Pardue M.T., García P.S. Faster emergence behavior from ketamine/xylazine anesthesia with atipamezole versus yohimbine. *PLoS One*. 2018;13(10):e0199087. DOI: 10.1371/journal.pone.0199087.
12. <https://www.creative-biolabs.com/static/img/ADRA2A-Membrane-Protein-Introduction.png>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Огнева Настасья Сергеевна*, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: ognevanastya@mail.ru

Nastasya S. Ogneva*, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: ognevanastya@mail.ru

Савченко Елена Сергеевна, ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»;
e-mail: savelaine@gmail.com

Табоякова Лидия Александровна, ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»;
e-mail: lida-vet@mail.ru

Elena S. Savchenko, Scientific Center
of Biomedical Technologies of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;
e-mail: savelaine@gmail.com

Lidiya A. Taboyakova, Scientific Center
of Biomedical Technologies of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;
e-mail: lida-vet@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author