

УДК 577.3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ВО ВЗРОСЛОЙ ОФТАЛЬМОАНЕСТЕЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ, С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА МУЛЬТИСЕНСОРНОЙ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

© 2020 г. Л.М. Балашова*, **, В.А. Намиот***, И.И. Колесниченко****, Н.А. Бакунина*, **, Л.С. Коробова*, **, А.Н. Доронин****, И.А. Балашов*, Д.Р. Черкашин*, С.Н. Удальцов*****

*НП Международный научно-практический Центр пролиферации тканей, 119034, Москва, ул. Пречистенка, 29/14

**Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

***Институт ядерной физики Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1

****Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 31/4

*****ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», 142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 2

E-mail: blm1962@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.01.2020 г.

После доработки 12.07.2020 г.

Принята к публикации 08.07.2020 г.

Для эффективной дозировки офтальмологических препаратов требуется оценка динамики изменения их концентрации в слезной жидкости во времени. В работе приведены примеры определения с помощью мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии местноанельгизирующих препаратов наропина, хирокаина и лидокаина, применяемых при офтальмологических операциях. Изучено поведение данных анестетиков в слезной жидкости пациентов при проведении операции по факоэмульсификации хрусталика, в том числе при наличии у них сопутствующей глаукомы.

Ключевые слова: мультисенсорная инверсионная вольтамперометрия, планарные электроды, наропин, хирокаин, лидокаин, местная анестезия, офтальмология.

DOI: 10.31857/S0006302920060216

Для эффективной дозировки вновь разрабатываемых анельгизирующих офтальмологических препаратов требуется оценка динамики изменения их концентрации в слезной жидкости во времени. В данной работе исследована принципиальная возможность применения метода мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии в целях определения фармакинетики местноанельгизирующих препаратов. В основе работы мультисенсорных приборов всех типов лежит использование набора (матрицы) сенсоров с отличающимися друг от друга характеристиками. Проблемой описанных методов является воспроизводимость характеристик матрицы сенсоров, что в конечном счете отрицательно сказывается на разрешающей способности и достоверности дискриминации N -мерных образов. Также общим недостатком этих типов мультисенсорных устройств является сложность в обеспечении ка-

либровки и воспроизводимости сигналов [1]. Электрохимические методы в решении многих аналитических задач достаточно просты, обладают приемлемым быстродействием и имеют хорошие метрологические показатели. В ИФХЭ РАН (Москва) был разработан электрохимический метод анализа органических веществ – мультисенсорная инверсионная вольтамперометрия [2, 3]. Этим методом определяется изменение электрохимической активности катионов металлов в растворе в результате их взаимодействия с органическими веществами. На получаемой вольтамперограмме при этом фиксируются изменения пиков токов растворения металлов, которые можно зафиксировать для каждого металла тест-системы по отдельности или оценить изменение всей вольтамперограммы интегрально. Измерения проводят на одном индикаторном электроде, что имеет большое преимущество по сравнению с

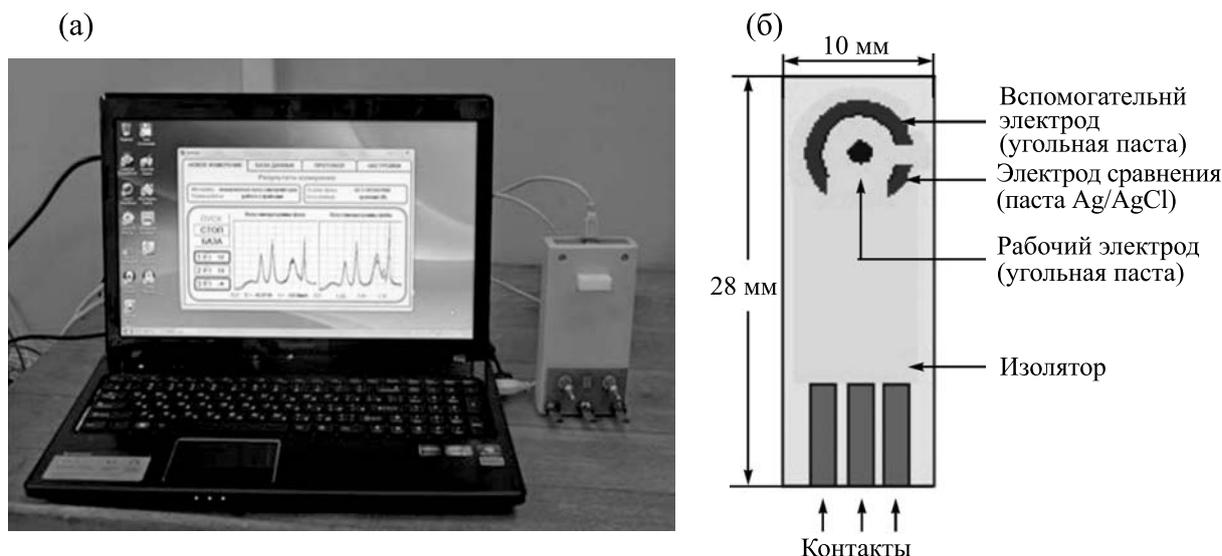


Рис. 1. Общий вид электрохимического мультисенсорного анализатора (а) и схема планарной электродной системы (б).

мультисенсорными методами, в которых используют набор электродов. При решении задачи идентификации конкретного органического вещества данным методом требуется сравнение с предварительно составленной базой данных.

Ранее нами был предложен метод экспресс-диагностики биологических объектов с использованием мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии для ранней диагностики глаукомы по сыворотке крови [4]. В дальнейшем работоспособность и эффективность метода была показана нами, в частности, при определении ряда офтальмологических препаратов – визомитина [5, 6], ланостерола [7], бетоптика и его дженериков [8].

Целью данной работы являлось исследование методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии фармакокинетики поведения в слезной жидкости ряда анестетиков – наропина, хирокаина и лидокаина – у больных при проведении операции по факэмульсификации хрусталика.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 30 больных, страдающих незрелой катарактой и смешанной компенсированной глаукомой I–III стадий в возрасте от 60 до 86 лет, из них 15 мужчин и 15 женщин. Больным была проведена операция по факэмульсификации хрусталика с имплантацией интраокулярной линзы, причем десяти больным с сопутствующей глаукомой – сочетанная операция. Послеоперационный период протекал без осложнений. У пациентов с помощью кружка стерильной фильтровальной бумаги диаметром

8 мм проводили забор слезы до операции, через 5 и 10 мин после проведения анестезии до проведения разреза (с инстилляцией раствора антибиотика – 0.25%-го левомецетина – после последнего забора слезы) с целью возможного выявления растворов анестезиологических препаратов в слезе. Использовали препараты 0.75%-го раствора наропина, 5%-го раствора хирокаина и 2%-го раствора лидокаина, которые вводили за 1 ч до операции. Каждый из препаратов применяли ретробульбарно (по стандартной методике) и инфраорбитально (по стандартной методике), объем вводимого препарата составлял 4 мл. У 18 больных исследования дублировали с целью проверки точности метода. Всего было взято 108 проб.

Следует отметить, что с клинической точки зрения наиболее глубокое обезболивание вызывает наропин. Больные после его применения спокойнее ведут себя на операционном столе. Введение же лидокаина нередко сопровождается аллергической реакцией (вплоть до анафилактического шока).

Исследования осуществляли с помощью электрохимического мультисенсорного анализатора, разработанного в ИФХЭ РАН. Измерения проводили на планарных электродных системах представляющих собой полипропиленовую пластину с нанесенными рабочим и вспомогательным электродами (углеродный материал) и хлорсеребряным электродом сравнения. Общий вид анализатора и схема планарной электродной системы представлена на рис. 1.

В качестве электрохимической «тест-системы» использовали 0.05 М раствор KCl, содержащий катионы ряда металлов, обладающих спо-

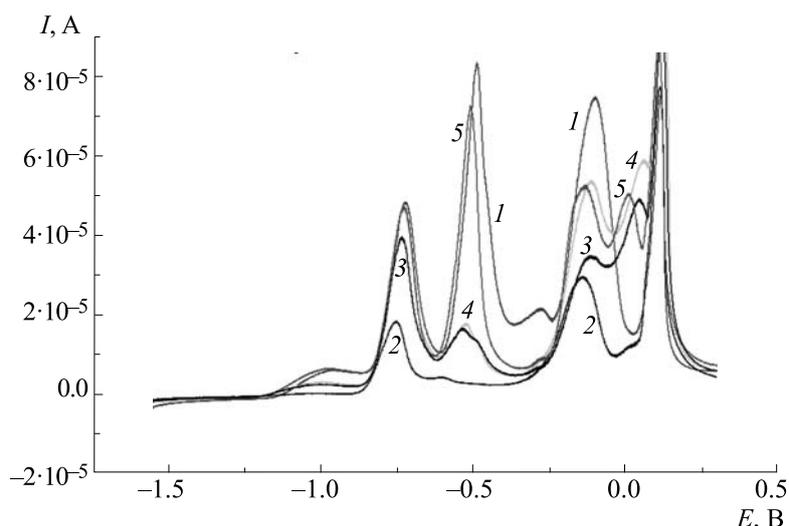


Рис. 2. Инверсионные вольтамперограммы тест-системы при воздействии на нее наропина в различных концентрациях (%): 1 – 0 (фон), 2 – $0.125 \cdot 10^{-3}$; 3 – $0.250 \cdot 10^{-3}$; 4 – $0.375 \cdot 10^{-3}$; 5 – $0.500 \cdot 10^{-3}$ (на электроде).

способностью образовывать комплексные соединения с органическими веществами: Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Co^{3+} , Hg^{2+} [2, 3]. Сформированная таким образом на индикаторном электроде матрица сенсоров в нашем случае обеспечивала работу прибора в формате «Электронный язык» [9].

Вольтамперограммы, получаемые методом инверсионной вольтамперометрии, имеют определенный вид (рис. 2) и хорошо воспроизводимы. Они представляют собой зависимости тока от потенциала рабочего электрода, меняющегося по линейному закону во времени. Регистрируемые пики соответствуют окислению разных металлов, входящих в тест-систему. Введение в тест-систему анализируемых органических веществ приводит к изменению спектра вольтамперограмм. Эти изменения характерны для каждого из органических веществ (или смеси веществ), что позволяет проводить их идентификацию.

Полученная вольтамперограмма разбивается на N участков, количество которых зависит от сложности исследуемой системы. Таким образом формируется N -мерный образ объекта.

При проведении испытаний на планарные электроды наносили 50 мкл тест-системы и снимали фоновую инверсионную вольтамперограмму при потенциале катодного осаждения металлов -1.55 В относительно хлорсеребряного электрода с последующей разверткой потенциала до 0.3 В. Затем на электрод помещали 50 мкл свежего раствора тест-систем и диск из пористого материала (фильтровальной бумаги) с нанесенным на него тем или иным препаратом в различной концентрации и снова снимали инверсионные вольтамперограммы.

Для получения образцов слезной жидкости в конъюнктивный мешок глаза пациента помещали диск диаметром 8 мм из предварительно обработанного пористого материала (фильтровальной бумаги, которую тщательно промывали в спирте и дистиллированной воде и сушили при $80^{\circ}C$ в течение трех часов). Через определенное время (до введения препарата, через 5 или 10 мин после его введения) бумажный диск извлекали из конъюнктивного мешка, помещали на электрод с нанесенной на него тест-системой и снимали инверсионные вольтамперограммы.

Статистическую обработку результатов проводили в пакете программ Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние наропина, хирокаина и лидокаина на тест-систему. Было исследовано воздействие на тест-систему трех анестетических препаратов — наропина, хирокаина и лидокаина. Состав указанных препаратов близок по основному действующему веществу: это местные анестетики, представляющие собой фармакологическую группу амидов. На рис. 1 приведены фоновая вольтамперограмма и вольтамперограммы, полученные для наропина в различных концентрациях. В случае хирокаина и лидокаина вольтамперограммы имеют примерно такой же вид и поэтому не приводятся. Все данные по воздействию на тест-систему наропина, хирокаина и лидокаина обобщены в табл. 1.

Можно видеть, что в присутствии всех изученных анестетиков токи ионов металлов, входящих в тест-систему, изменяются в разной степени в зависимости от концентрации анестетика: с ро-

Таблица 1. Влияние изучаемых анестетиков на тест-систему

Анестетик	Концентрация анестетика, %	Пики токов растворения металлов, мкА					
		Zn	Cd	Pb	Cu	Co	Hg
Фон	—	8	64	70,0	50,2	40,0	52,8
Наропин	$0.125 \cdot 10^{-3}$	7	38	44	25	48	27
	$0.250 \cdot 10^{-3}$	8	42	42	28	28	29
	$0.375 \cdot 10^{-3}$	9	29	15	15	16	50
	$0.500 \cdot 10^{-3}$	16	20	16	20	20	90
Хирокаин	$0.125 \cdot 10^{-3}$	6	35	43	24	45	25
	$0.250 \cdot 10^{-3}$	7	40	40	26	26	27
	$0.375 \cdot 10^{-3}$	8	25	14	14	15	50
	$0.500 \cdot 10^{-3}$	15	18	15	19	19	90
Лидокаин	$0.125 \cdot 10^{-3}$	12	54	56	36	36	34
	$0.250 \cdot 10^{-3}$	8	52	43	21	21	16
	$0.375 \cdot 10^{-3}$	9	40	36	16	16	12
	$0.500 \cdot 10^{-3}$	6	20	31	12.5	12	80

стом концентрации ток иона ртути возрастает, а у остальных металлов — уменьшается.

Наиболее заметно изменение тока ионов кадмия — от 50 до 20 мкА в исследованном диапазоне концентраций анестетиков, причем в равной степени для всех изученных анестетиков. Следовательно, в дальнейшем достаточно ограничиться изучением влияния слезной жидкости пациентов только на эти ионы.

Анализ слезной жидкости пациентов после инфраорбитального введения анестетиков. Группа пациентов, поступивших на операцию по поводу катаракты, которым вводили анестетики инфраорбитально, состояла из одиннадцати человек: троим из них вводили наропин, еще троим — хирокаин, пятерым — лидокаин. Далее был произведен отбор образцов слезной жидкости, как описано в разделе «Материалы и методы». Результаты анализа методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии образцов слезной жидкости пациентов этой группы представлены в табл. 2.

Анализ слезной жидкости пациентов после ретробульбарного введения анестетиков. Данная группа пациентов, поступивших на операцию по поводу катаракты, состояла из двенадцати человек: четверым из них вводили наропин, троим — хирокаин, пятерым — лидокаин. Результаты анализа образцов слезной жидкости пациентов данной группы представлены в табл. 3.

Следует отметить, что при введении препаратов ретробульбарно их действие на слезную жидкость и, следовательно, на пики токов сильнее, чем при введении препаратов инфраорбитально ($p < 0.05$).

Анализ слезной жидкости пациентов с сочетанными катарактой и глаукомой. Больные еще одной группы (в количестве десяти человек) кроме катаракты имели сопутствующую глаукому. Им перед операцией вводили противоглаукомный препарат «Азарга» (Azarga®, Novartis Pharma AG, Швейцария) и затем через 30 мин проводили инстилляцию одного из анестетиков. Поэтому на следующем этапе методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии было изучено действие препарата «Азарга» на используемую нами тест-систему и ее возможное влияние при инфраорбитальном или ретробульбарном введении анестетиков.

На рис. 2 приведены фоновая вольтамперограмма и вольтамперограммы, демонстрирующие действие препарата «Азарга» в различной концентрации на используемую нами тест-систему, а в табл. 4 — соответствующие численные данные.

Результаты анализа образцов слезной жидкости пациентов с сочетанными катарактой и глаукомой после инстилляции им препарата «Азарга» и последующего инфраорбитального введения анестетиков (всего 4 пациента) представлены в табл. 5, а после последующего ретробульбарного

Таблица 2. Влияние на слезную жидкость анестетиков после их инфраорбитального введения

Анестетик	Время отбора пробы	Пики токов растворения металлов, мкА					
		Zn	Cd	Pb	Cu	Co	Hg
Фон		8	64	70,0	50,2	40,0	52,8
Лидокаин (5 пациентов)	До введения препарата	2	30	33,0	32,2	32,0	19,8
	Через 5 мин после введения	1,6	19	21,2	20,0	18	13
	Через 10 мин после введения	2	20	20,5	22	22	20
Наропин (3 пациента)	До введения препарата	4	26	31,0	23	21,0	22
	Через 5 мин после введения	3	23	23	26,0	26	20
	Через 10 мин после введения	2	23	33	25	26	23
Хирокаин (3 пациента)	До введения препарата	3	25,4	31,0	22	21,0	22
	Через 5 мин после введения	1,6	22	22	25,0	26	20
	Через 10 мин после введения	2	23	32	25	25	23

Таблица 3. Влияние на слезную жидкость анестетиков после их ретробульбарного введения

Анестетик	Время отбора пробы	Пики токов растворения металлов, мкА					
		Zn	Cd	Pb	Cu	Co	Hg
Фон		8	64	70,0	50,2	40,0	52,8
Лидокаин (5 пациентов)	До введения препарата	3	21,4	31,0	22	21,0	14
	Через 5 мин после введения	1,6	20	20	20	20	10
	Через 10 мин после введения	2	21	21	20	20	11
Наропин (4 пациента)	До введения препарата	3	38	44	34	31,0	32
	Через 5 мин после введения	1,6	20	20	19,0	19	12
	Через 10 мин после введения	2	20	23	20	21	13
Хирокаин (3 пациента)	До введения препарата	3	21,4	25,0	17	17,0	12
	Через 5 мин после введения	1,6	20	21	19	19	10
	Через 10 мин после введения	2	20	23	19	19	12

Таблица 4. Влияние на тест-систему препарата «Азарга» в различной концентрации

Концентрация препарата «Азарга»	Пики токов растворения металлов, мкА					
	Zn	Cd	Pb	Cu	Co	Hg
Фон	8	64	70,0	50,2	40,0	52,8
0.5%	6	34	33	28	21,0	14
0.10%	4	27	28	26,0	16	12
0.15%	3	23	25	21	15	13
0.20%	1,5	20	22	18	11	10

Таблица 5. Влияние анестетиков на слезную жидкость при инфраорбитальном введении через 30 мин после инстилляций препарата «Азарга»

Анестетик	Время отбора пробы	Пики токов растворения металлов, мкА					
		Zn	Cd	Pb	Cu	Co	Hg
Фон		8	64	70,0	50,2	40,0	52,8
Наропин (2 пациента)	До введения препарата	3	17	16,0	16	17	11
	Через 5 мин после введения	6	19	20	20	21	12
	Через 10 мин после введения	2	20	19	19	21	13
Хирокаин (2 пациента)	До введения препарата	3	18	18,0	17	19,0	12
	Через 5 мин после введения	6	19	20	19,0	21	13
	Через 10 мин после введения	3	20	19	19	21	13

Таблица 6. Влияние анестетиков на слезную жидкость при ретробульбарном введении через 30 мин после инстилляций препарата «Азарга»

Анестетик	Время отбора пробы	Пики токов растворения металлов, мкА					
		Zn	Cd	Pb	Cu	Co	Hg
Фон		8	64	70,0	50,2	40,0	52,8
Наропин (3 пациента)	До введения препарата	3	17	16,0	16	17	11
	Через 5 мин после введения	6	19	19	20	19	12
	Через 10 мин после введения	5	20	19	19	21,6	13
Хирокаин (3 пациента)	До введения препарата	3	18	18,0	17	19,0	12
	Через 5 мин после введения	3	19	19	18,0	19	11
	Через 10 мин после введения	3	20	19	19	21	13

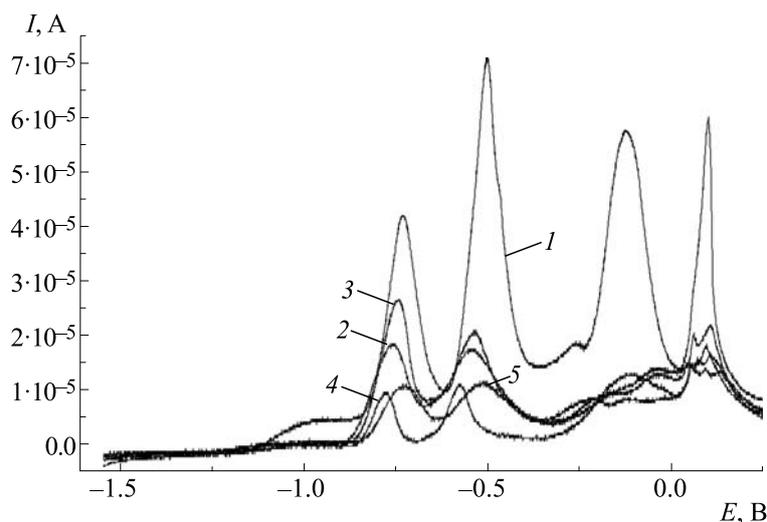


Рис. 3. Влияние на тест-систему препарата «Азарга» в различной концентрации: 1 — тест-система, 2 — 0.05%, 3 — 0.10%, 4 — 0.15%, 5 — 0.20% (на электроде).

введения анестетиков (всего 6 пациентов) — в табл. 6.

Полученные данные показывают, что инстилляцией препарата «Азарга» снижает действие слезной жидкости на тест-систему, а последующее введение препаратов-анестетиков практически не оказывает дополнительного влияния.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что методом мультисенсорной инверсионной вольтамперометрии возможно определение анестезиологических препаратов в слезной жидкости.

2. Показано, что при введении препаратов ретробульбарно их действие на слезную жидкость сильнее, чем при введении препаратов инфраорбитально.

3. Инстилляцией препарата «Азарга» снижает действие слезной жидкости на тест-систему, но практически не влияет на вводимые препараты-анестетики.

4. Отмечается, что различные анестезиологические препараты (наропин, хирокаин и лидокаин) мало отличаются по своему действию на пики токов ионов кадмия ($p > 0,05$)

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры с участием пациентов соответствовали этическим стандартам Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям. От участников исследования было получено информированное добровольное согласие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. П. Нестеров, *Глаукома* (Медицинское информационное агенство, М., 2014).
2. В. Н. Андреев, В. М. Ганшин, А. Н. Доронин и В. П. Луковцев, Патент РФ № 2375705, опублик. 10.12.2009.
3. В. П. Луковцев, А. Н. Доронин, В. А. Семенова и В. М. Ганшин, *Электрохимия* **45** (7), 869 (2009).
4. И. И. Колесниченко, А. Л. Ключев, В. М. Ганшин и др., *Физикохимия поверхности и защита материалов* **50** (4), 440 (2014).
5. И. И. Колесниченко, Е. П. Кантаржи и А. Н. Доронин, в сб. *Труды 6-й Всероссийской науч.-практич. конф. «Измерения в современном мире — 2017»* (СПб-ПУ, СПб., 2017), сс. 33–37.
6. Л. М. Балашова, И. И. Колесниченко и Е. П. Кантаржи, *Клин. геронтология* **23** (9–10), 6 (2017).
7. Л. М. Балашова, В. А. Намиот, И. И. Колесниченко и др., *Биофизика* **63** (4), 825 (2018).
8. Л. М. Балашова, И. И. Колесниченко, В. А. Намиот и др., *Биофизика* **64** (6), 1088 (2019).
9. I. I. Kolesnichenko, L. M. Balachova, and E. P. Kantarzhi, *Am. J. Anal. Chem.* **7** (7), 588 (2016).

Determination of Anesthetics Used for Adult Ophthalmology in Tear Fluids by Multisensory Stripping Voltammetry Method

L.M. Balashova*, **, V.A. Namiot***, I.I. Kolesnichenko****, N.A. Bakunina*, **, L.S. Korobova*, **, A.N. Doronin****, I.A. Balashov*, D.R. Cherkashin*, and S.N. Udaltsov*****

*International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, ul. Prechistenka 29/14, Moscow, 119034 Russia

** Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, ul. Ostrovitianova 1, Moscow, 117997 Russia

***Institute of Nuclear Physics, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1, Moscow, 119991 Russia

**** Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskiy prosp. 31/14, Moscow, 119071 Russia

*****Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences", Institutskaya ul. 2, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

An assessment of the dynamics of the change of anesthetic concentration in relation to time in the tear fluid is needed to understand the efficient doses for ophthalmologic surgery during anesthesia. The paper describes the examples of determination of local anesthetics – naropine, chirocaine and lidocaine used for ophthalmologic surgery by means of multisensor stripping voltammetry. The behavior of these anesthetics in the tear fluids of patients with concomitant glaucoma during phacoemulsification surgery was studied.

Keywords: multisensory stripping voltammetry, planar electrodes, naropin, chirocaine, lidocaine, local anesthesia, ophthalmology