

Плисов И.Л., Баталова О.М.

Новосибирский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Росмедтехнологии», г. Новосибирск

БУПИВАКАИН – НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ЛЕЧЕНИЕ ГЛАЗОДВИГАТЕЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

В настоящее время известно, что после инъекций Бупивакаина в скелетные или глазодвигательные мышцы животных и человека последовательно возникает миотоксический эффект, дегенерация, регенерация и гипертрофия мышечных волокон, без повреждающего действия на другие структуры: базальную мембрану, сателлитные клетки, продуцирующие мышечные волокна, и рядом расположенные нервные окончания и сосуды. Эта индуцированная гипертрофия может быть использована для лечения косоглазия.

Актуальность

Статья Scott A.B. с соавторами [28] и его выступление на 31 Конгрессе Европейской Страбизмологической Ассоциации (20-23 мая 2007, Миконос, Греция) [27] о применении инъекций Бупивакаина в экстраокулярные мышцы при лечении косоглазия вызвали определенный резонанс среди офтальмологов, занимающихся патологией глазодвигательной системы. Автор сделал доклад о первых результатах экспериментального исследования эффективности использования миотоксичности местных анестетиков при коррекции косоглазия. Настоящая работа является обобщением результатов большого количества экспериментальных исследований, проведенных на лабораторных животных.

Цель

Обобщить результаты исследований миотоксического эффекта Бупивакаина и вторичных изменений, возникающих под его воздействием в скелетных и глазодвигательных мышцах лабораторных животных и человека.

1. В связи с чем возникла идея о проведении исследований влияния местных анестетиков на изменение морфологии и физиологии экстраокулярных мышц

После проведения хирургического лечения катаракты у части пациентов возникает транзиторная или персистирующая вертикальная диплопия (в 0,25% случаев), которую офтальмологи связывают с ретробульбарной (в 0,39% случаев) или перибульбарной (в 0,98% случаев) анестезией. Этих осложнений не отмечалось после проведения местной капельной или общей анестезии [10]. Поэтому

возникла гипотеза о том, что диплопия в 50% случаев вызвана повреждающим воздействием на нижнюю прямую мышцу либо непосредственно травмированием иглой при проведении инъекций или миотоксичностью введенного анестетика [13].

2. Патомеханизм миотоксичности

Применение местных анестетиков может привести к повреждению скелетных мышц и даже к мионекрозу [4, 9]. Все клинически используемые местные анестезирующие средства являются миотоксичными с определенной для каждого препарата и зависимой от дозы степенью токсичности, которая усиливается при многократном или длительном применении [15]. Бупивакаин приводит к наиболее серьезным мышечным повреждениям [5, 9].

Из-за своей липофильности Бупивакаин быстро накапливается в цитоплазме, вызывает чрезмерный поток Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума (СР) после его введения, что приводит к увеличению уровня внутриклеточного Ca^{2+} в мышечных волокнах, и одновременно препятствует проникновению Ca^{2+} в СР, возможно эти синергетические эффекты могут быть важным элементом в развитии миотоксичности [7, 19, 30]. Известно, что увеличение внутриклеточного кальция может активизировать клеточные протеазы [17], однако, дегенерация скелетных мышц кальций-активированными протеазами не завершается *in vitro*. Эти протеазы растворяют некоторые клеточные протеазы и вызывают дегенерацию миофиламентов, удаляя Z-линии, но фермент никогда полностью не растворяет структурные протеазы *in vitro*. Поэтому Бупивакаин-индуци-

рованный выход кальция не может полностью объяснить дегенеративные процессы [2, 18]. Бупивакаин вызывает апоптоз в отдельных скелетных мышечных волокнах *in vivo*, этот механизм клеточной гибели также играет роль в высоком уровне миотоксичности препарата [6, 16, 24].

3. Объект исследований

Исследования по влиянию Бупивакаина проводились на различных лабораторных животных: крысах (*Musculus soleus*, *Extensor digitorum longus*) [25], кроликах (глазодвигательные мышцы) [23] и макаках (*Abductor pollicis brevis*).

Scott A.B. доложил об инъекциях Бупивакаина в экстраокулярные мышцы (ЭОМ) 5 пациентам с косоглазием. У всех пациентов был небольшой угол интропии и наступило уменьшение девиации на 1-5°. Случаи незначительного уменьшения угла косоглазия (на 1-2°) автор объясняет у одного пациента тем, что возникшее большое кровотечение могло вытеснить препарат из мышцы, а во втором случае – малым количеством введенного препарата (1 мл) и локализацией инъекции в передней трети мышцы [27, 28].

4. Дозировка препарата

В литературе представлены различные данные о дозировках используемого препарата: экстраокулярные мышцы кролика – 0,4 мг в 0,3 мл [23]. *Musculus soleus*, *Extensor digitorum longus* крыс – 0,2-1 мл 0,5% раствора [18, 25]. *Abductor pollicis brevis* макак – 0,75% раствор [5, 20].

Экспериментальным путем, под контролем электромиографа и подтверждения ее локализации с помощью МРТ-исследования, установлено, что оптимальным местом для введения препарата является дистальная треть экстраокулярной мышцы (инъекция в переднюю треть мышцы дала менее выраженный эффект) [28].

В представленных исследованиях использовались различные объемы препарата (от 1 до 4,5 мл). Наименьший объем лекарственного средства (1 мл) недостаточно для инициации хорошего эффекта, так как препарат не способен к диффузии, а для миотоксического эффекта он должен контактировать с большим количеством мышечных во-

локон. Наибольший объем (4,5 мл) приводит к хорошему результату, но инъекцию было тяжело выполнить технически.

В работах использовались концентрации Бупивакаина от 0,75% до 3%. Инъекция 3%-ного раствора препарата не приводили к выраженному эффекту и в настоящее время используется 1,5%-ный раствор в объеме 3 мл. Однако автор указывает на то, что пока не подобран оптимальное соотношение концентрации и количества Бупивакаина для наилучшего эффекта и технической простоты выполнения инъекции [27, 28].

5. Ультроструктурные изменения.

На 1-й день после выполнения инъекции Бупивакаина одноядерные воспалительные клетки вторгаются в некротизированную саркоплазму и происходят дегенеративные морфологические изменения, такие, как гиперсокращенные волокна, расширенный саркоплазматический ретикулум, дефекты плазматических мембран, митохондриальные изменения и разрывы миофибрилл [25]. Очевидно, нелизосомальная протеаза, активизированная кальцием, начинает миофибрилярную дезорганизацию, удаляя Z-линии [17].

На 2-й день наблюдаются различные по форме пролиферирующие миобласты. Разрушается до 86% волокон [26], однако, нервные окончания, сосуды, базальная мембрана и сателлитные клетки остаются сохраненными, что имеет большое значение для регенерации мышечных волокон [11].

На 3-й день происходит соединение (слияние) миобластов [25].

На 5-й день формируются миотубы с множеством центрально расположенных ядер и аутосомных ядрышек, формирование которых продолжается в течение второй недели. Сателлитные клетки появляются рядом со зрелыми миотубами [25].

Клинически у пациентов эти изменения выражаются в парезе инъецированной мышцы и увеличении угла девиации, начало регресса отмечается на 7-й день [27, 28].

На 21-й день достигается полное восстановление архитектуры волокон [25].

Однако после достижения полной регенерации в мышцах происходят процессы, приводящие к их гипертрофии. Эти изменения продолжаются до 60-го дня после инъекции и ос-

таются стабильными, как минимум, в течение последующих 120 дней. Отмечено увеличение относительной массы миофибрилл в гипертрофированных мышечных волокнах на 63% вследствие увеличения как размера миофибрилл, так и их количества в одном волокне. Однако методика проведения подсчета самих регенерированных мышечных волокон не является прямой и не захватывает всего среза исследуемой мышцы. Вывод о неизменном количестве Бупивакаин-инъектированных мышечных волокон в сравнении с их количеством в контрольной мышце делается на основании их идентичной правильной полигональной форме на срезе. Нет объективной уверенности в том, что признаки гиперплазии не были пропущены в результате особенностей проведения гистологического исследования [26].

В своей статье Scott A.B. отметил, что на 33-й день после инъекции при МРТ-исследовании выявлено увеличение площади поперечного среза инъектированной мышцы на 58% [27, 28]. По его данным, эффект является функционально положительным, максимальная продолжительность мышечной гипертрофии в его экспериментальном исследовании на пациентах достигает 342-х дней, а в случаях возникновения косоглазия после катарактальной хирургии, девиация длится годами.

Scott A.B. выделил три механических фактора постмиотоксической гипертрофии: гиперфункция в поле действия мышцы как результат увеличения силы, увеличение эластичного сопротивления как результат добавленных параллельных волокон, укорочение мышцы. Указанное приводит к изменению положения глаз [28].

6. Сателлитные клетки и их роль в функционировании экстраокулярных мышц и постинъекционной гипертрофии

Участие сателлитных клеток (миобластов) в функционировании мышц глаза и сигналы, которые контролируют их активацию, в настоящее время представляют область повышенного научного интереса [28]. Гиперфункция ЭОМ, клинически сопровождающаяся косоглазием, в некоторых случаях может быть объяснена гипертрофией или гиперплазией мышечных волокон [1]. Поперечно-полосатые мышцы у взрослых являются по-

стмитотическими. Однако популяция полипотенциальных одноядерных клеток, расположенных между сарколеммой и базальной мембраной мышечных волокон, отвечают за мышечное восстановление и регенерацию [21]. В спокойном состоянии сателлитные клетки в норме находятся в покое и начинают активизироваться, когда мышца нуждается в регенерации, развитии или тренировке [14]. Тем не менее, в нормально функционирующих ЭОМ взрослых людей имеется маленький процент активированных сателлитных клеток [22], позитивных для миогенных линейно-позитивных маркеров и MyoD, отражающих наличие активированных сателлитных клеток и миобластов, но не покоящихся сателлитных клеток, миотубов или созревающих мышечных волокон [29]. Кроме того, в ЭОМ происходит непрерывный процесс мионуклеарной репликации к неподрезанным мышечным волокнам. Миогенин является другим регуляторным фактором, который регистрируется в случае активации сателлитных клеток в скелетной мускулатуре и экстраокулярных мышцах [12, 22].

Есть целый ряд факторов, которые инициируют ремоделирование мышечных волокон в скелетной мускулатуре взрослых. Среди них гипертрофия, индуцированная удалением синергиста, низкочастотная стимуляция и эксцентричные упражнения. Эти манипуляции приводят к активации сателлитных клеток и пролиферации, которые по очереди ответственны за мышечное восстановление и регенерацию. Облучение элиминирует сателлитные клетки из этих мышц, предотвращая их компенсаторную гипертрофию [20].

Непрерывный миогенез в неповрежденных экстраокулярных мышцах взрослых также допустим и подтвержден в исследованиях, проводимых для изучения функций сателлитных и апоптозных клеток, в том числе человеческих [8].

Функциональное восстановление денервированных в течение длительного периода мышц крыс достоверно повышается после миотоксической дегенерации их волокон инъекцией Бупивакаина. За дегенерацией волокон следует массивная регенерация. Полученные данные могут быть использова-

ны в клиническом лечении денервированных мышц [3].

В опытах на лабораторных животных отмечен локальный миотоксический эффект Бупивакаина только в месте выполнения инъекции в отличие, например, от диффузных изменений после инъекции *ripin mAb 35*. Локальность гипертрофии подтверждается и при МРТ-исследованиях Бупивакаин-инъекцированных ЭОМ человека. [23, 27, 28].

Обсуждение

Проведенный анализ литературных данных не оставляет сомнения в возможности индуцирования вторичной гипертрофии в поперечно-полосатой мускулатуре инъекциями Бупивакаина, однако, отсутствует информация о том, насколько эти изменения приводят к улучшению функции мышц.

Подавляющее большинство представленных в литературе данных получено в исследованиях, проведенных на интактных, нормально функционирующих мышцах, однако, в случае практического применения постмиотоксичной гипертрофии для лечения косоглазия инъекции будут выполняться в экстраокулярные мышцы с вторично гипотрофическими изменениями.

Определенные вопросы о возможности использования препарата в практической деятельности врача-офтальмолога возника-

ют из-за отсутствия информации о возникновении ограничений движений глаз и косоглазия у лабораторных животных в разные постинъекционные периоды после введения препарата в экстраокулярные мышцы, кроме того, отсутствуют данные, способные достоверно подтвердить или исключить кросс-секторальную гиперплазию мышечных волокон или гиперплазию сакромер по типу «конец в конец».

Представляются высоко актуальными и вопросы, поставленные самим Scott A.V. относительно проводимого исследования, такие, как объем инъекции более 2 мл, его концентрация, место введения в ЭОМ (передняя, задняя часть; глазничная, орбитальная порция), необходимость проведения ЭМГ-контроля при выполнении процедуры), стабильность индуцированной гипертрофии, возможность проведения реинъекции, инъекции детям в леватор при птозах верхнего века, эффективность при парезах экстраокулярных мышц и ряд других [28].

Заключение

Таким образом, нам представляется перспективным проведение дальнейших исследований, направленных на изучение как механизмов действия Бупивакаина, так и клинической его эффективности, применительно к лечению глазодвигательной патологии.

Список использованной литературы:

1. Antunes-Foschini R.M., Ramalho F.S., Ramalho L.N. et al. Increased frequency of activated satellite cells in overacting inferior oblique muscles from humans // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2006. – Vol. 47. – P. 3360-3365.
2. Benoit P. W., Yagiela J. A. and Fort N. F. Pharmacologic correlation between local anesthetic-induced myotoxicity and disturbance of cellular calcium distribution // *Toxicol. appl. Pharmac.* – 1980. – Vol. 52. – P. 187-198.
3. Billington L. and Carlson B.M. The recovery of long-term denervated rat muscles after Marcaine treatment and grafting // *J. Neurol. Sci.* – 1996. – Vol. 144. – P. 147-155.
4. Brun A. Effect of procaine, carbocaine and xylocaine on cutaneous muscle in rabbits and mice // *Acta Anaesthesiol. Scand.* – 1959. – Vol. 3. – P. 59-73.
5. Carlson B.M., Shepard B. and Komorowski T.E. A histological study of local anesthetic-induced muscle degeneration and regeneration in the monkey // *J. Orthop. Res.* – 1990. – Vol. 8. – P. 485-494.
6. Christiansen S.P. and McLoon L.K. The effect of resection on satellite cell activity in rabbit extraocular muscle // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2006. – Vol. 47. – P. 603-613.
7. Duchon M.R. Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death // *J. Physiol.* – 2000. – Vol. 529. – P. 57-68.
8. Fischer M.D. et al. Definition of the unique human extraocular muscle allotype by expression profiling // *Physiological Genomics.* – 2005. – Vol. 22. – P. 283-291.
9. Foster A.H. and Carlson B.M. Myotoxicity of local anesthetics and regeneration of the damaged muscle fibers // *Anesth. Analg.* – 1980. – Vol. 59. – P. 727-736.
10. GoAmez-Arnau J.I. et al. Diplopia after cataract surgery // *Br. J. Anaesth.* – 2003. – Vol. 90. – Vol. 2. – P. 189-192.
11. Grounds M.D. Towards understanding skeletal muscle regeneration // *Pathology Research and Practice.* – 1991. – Vol. 187. – P. 1-22.
12. Grounds M.D., Garrett K.L., Lai M.C., Wright W.E. and Beilharz M.W. Identification of skeletal muscle precursor cells in vivo by use of MyoD1 and myogenin probes // *Cell Tissue Res.* – 1992. – Vol. 267. – P. 99-104.
13. Han S.K., Kim J.H. and Hwang J.M. Persistent diplopia after retrobulbar anesthesia // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2004. – Vol. 30. – P. 1248-1253.

14. Hawke T.J. and Garry D.J. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology // *J. Appl. Physiol.* – 2001. – Vol. 91. – P. 534-551.
15. Hogan Q., Dotson R., Erickson S. et al. Local anesthetic myotoxicity: a case and review // *Anesthesiology.* – 1994. – Vol. 80. – P. 942-947.
16. Irwin W., Fontaine E., Agnolucci L. et al. Bupivacaine myotoxicity is mediated by mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277. – P. 2221-2227.
17. Ishiura S. Calcium-dependent proteolysis in living cells // *Life Sci.* – 1981. – Vol. 29. – P.1079-1087.
18. Ishiura S., Nonaka I. and Sgita H. Biochemical aspects of Bupivacaine induced acute muscle degradation // *J. Cell Sci.* – 1986. – Vol. 83. – P. 197-212.
19. Komai H. and Lokuta A.J. Interaction of bupivacaine and tetracaine with the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ release channel of skeletal and cardiac muscles // *Anesthesiology.* – 1999. – Vol. 90. – P. 835-843.
20. Komorowski T.E., Shepard B., Okland S. et al. An electron microscopic study of local anesthetic-induced skeletal muscle fiber degeneration and regeneration in the monkey // *J. Orthop. Res.* – 1990. – Vol. 8. – P. 495-503.
21. Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers // *J. Biophys. Biochem. Cytol.* – 1961. – Vol. 9. – P. 493-495.
22. McLoon L.K. and Wirtschafter J. Activated satellite cells in extraocular muscles of normal adult monkeys and humans // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2003. – Vol. 44. – P. 1927-1932.
23. Park C.Y., Park S.E. and Oh S.Y. Acute effect of bupivacaine and ricin mAb 35 on extraocular muscle in the rabbit // *Current Eye Research.* – 2004. – Vol. 29. – P. 293-301.
24. Petronilli V., Penzo D., Scorrano L. et al. The mitochondrial permeability transition pore, release of cytochrome c and cell death: correlation with the duration of pore openings in situ // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 12030-12034.
25. Politi P.K., Havaki S., Manta P. and Lyritis G. Bupivacaine-induced regeneration of rat soleus muscle: ultrastructural and immunohistochemical aspects // *Ultrastructural Pathology.* – 2006. – Vol. 30. – P. 461-469.
26. Rosenblatt J. D. and Woods R. I. Hypertrophy of rat extensor digitorum longus muscle injected with bupivacaine. A sequential histochemical immunohistochemical, histological and morphometric study // *J. Anal.* – 1992. – Vol. 181. – P. 11-27.
27. Scott A.B. Bigger and better eyes muscles with Bupivacaine injection // Meeting of the European Strabismological Association, 31st: Final programme and abstracts. – Mykonos, Greece, 2007. – P. 86.
28. Scott A.B., Alexander D.E. and Miller J.M. Bupivacaine injection of eye muscles to treat strabismus // *Br. J. Ophthalmol.* – 2007. – Vol. 91. – P. 146-148.
29. Smith C.K. 2nd, Janney M.J. and Allen R.E. Temporal expression of myogenic regulatory genes during activation, proliferation, and differentiation of rat skeletal muscle satellite cells // *J. Cell Physiol.* – 1994. – Vol. 159. – P. 379-385.
30. Takahashi S. Local anesthetic bupivacaine alters function of sarcoplasmic reticulum and sarcolemmal vesicles from rabbit masseter muscle // *Pharmacol. Toxicol.* – 1994. – Vol. 75. – P. 199-228.