

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ, ОБЛАДАЮЩИХ КАННАБИМИМЕТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ, НА ЛАТЕНТНЫЙ ПЕРИОД НОЦИЦЕПТИВНОГО РЕФЛЕКСА У КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ И НЕЙРОПАТИЧЕСКОЙ БОЛИ

Молчанова А.Ю.¹, Жаворонок И.П.¹, Таргонская Е.И.¹, Антипова О.А.¹, Павлють Т.О.¹, Мелик-Касумов Т.Б.,¹ Абломейко А.С.¹, Тимахович Т. Г.¹, Шарко О.Л.², Кисель М.А.²

¹ Институт физиологии НАН Беларуси, ул. Академическая, 28, Минск, 220072

² Институт биоорганической химии НАН Беларуси, ул. Купревича, д. 5, корпус 2, 220141

Несмотря на достигнутые успехи в понимании патофизиологических механизмов боли и появление на рынке все более эффективных средств обезболивания, еще очень насущна необходимость разработки противоболевой фармакотерапии, которая была бы действенна, но при этом не токсична, и позволяла бы избегать побочных эффектов со стороны центральной нервной системы (ЦНС) и других систем организма. Одними из перспективных субстратов для разработки такого рода препаратов считаются активные ингредиенты марихуаны (*Cannabis sativa*) – фитоканнабиноиды, а также их эндогенные и синтетические аналоги, способные эффективно ослаблять боль, влияя на разные стадии механизма ноцицепции. Уже сегодня в зарубежной клинической практике используется препарат Sativex® на основе тетрагидроканнабинола (ТГК) и каннабидиола для уменьшения спастичности и ослабления болевых ощущений при рассеянном склерозе, онкологических заболеваниях, невропатиях различного происхождения. Однако, несмотря на высокую эффективность, применение данного препарата имеет строгие ограничения из-за потенциальных эффектов на ЦНС, обусловленных способностью ТГК взаимодействовать с центральными СВ1-рецепторами. В этой связи целью данного исследования явилось изучение влияния амидов жирных кислот (АЖК), обладающих каннабимиметическими свойствами, но в то же время не взаимодействующих с СВ1-рецепторами, на ноцицептивные реакции у крыс при моделировании острой и нейропатической боли.

Материалы и методы исследования. Этаноламидами жирных кислот синтезировали ацилированием этаноламина смешанными ангидридами жирных кислот и бутилугольной кислоты по методике, описанной ранее [1]. Олеоламид получали аммонолизом соответствующего смешанного ангидрида.

Исследования проведены на 237 белых крысах-самцах. Эксперименты были разделены на два этапа. На первом этапе был проведен скрининг действия амидов жирных кислот, обладающих каннабимиметическими свойствами, при моделировании острой боли. Для экспериментов отобрали животных со средним уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью, определяемых в тесте «Открытое поле». Согласно имеющимся литературным данным, животные с такими характеристиками преобладают в популяции, и именно у них развивается наиболее типичная реакция на любое воздействие. До проведения эксперимента крыс адаптировали к условиям эксперимента с целью минимизации стрессовых воздействий. Острую боль вызывали с помощью термического раздражения конечности при помещении животного на металлическую пластину, нагретую до 50°C (методика «Горячая пластинка») [2]. Регистрировали латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР) – время до облизывания задней конечности, вокализации либо попытки выпрыгнуть. Животному предъявляли по три попытки (через три – пять минут друг за другом), затем вычисляли среднее арифметическое из трех измерений ЛПНР. Тестируемые пальмитоилэтаноламид, стеароилэтаноламид, миристоилэтаноламид, лауроилэтаноламид, олеоилэтаноламид и олеоламид растворяли в комплексном растворителе (далее – растворитель), состоящем из этанола, Гвина 80 и апирогенного физиологического раствора в соотношении 1:1:8. Введение исследуемых препаратов осуществляли внутрибрюшинно в дозе 750 мкг/кг/мл. Контролем служили интактные животные, кроме того отдельной группе животных вводили растворитель из расчета 1 мл/кг.

На следующем этапе оценивали влияние АЖК, выбранных на основании результатов теста «Горячая пластинка», на ЛПНР при экспериментальной нейропатической боли. Последнюю моделировали посредством свободного хронического лигирования *Nervus ischiadicus* (*n. ischiadicus*, *седалищный нерв*) (СХЛСН) согласно методике Bennett G.J. et al. [3]. Для оценки ЛПНР использовали тесты «Горячая пластинка» и «Рандалла-Селитто» [4]. При предъявлении термического раздражителя ЛПНР измеряли в секундах, при применении механического раздражителя – в граммах. ЛПНР регистрировали до и на 1-е, 4-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки после процедуры лигирования. Тестируемые АЖК вводили внутрибрюшинно в дозе 750 мкг/кг на 7-е и 14-е сутки после процедуры лигирования. Регистрацию ЛПНР в этих экспериментах проводили до и после инъекции каннабимиметиков. Контролем служили интактные и ложно-оперированные животные. Все полученные данные статистически обработаны с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Результаты экспериментальных исследований показали, что применение только растворителя (10% этанола, 10% твина 80 и 80% АФР, внутрибрюшинное введение, *n* = 17) снижало ЛПНР у крыс на 34,8% по сравнению с интактными, которым ничего не вводили (*n* = 16). Введение животным растворенных в указанной смеси лауроилэтанотиоамида (*n* = 17), миристоилэтанотиоамида (*n* = 17) и олеоилэтанотиоамида (*n* = 17) также сопровождалось понижением ЛПНР соответственно на 22,1%, 10,5% и 8,0% по сравнению с интактными. Следует отметить, что снижение ЛПНР в этих экспериментах менее выражено по сравнению с действием только растворителя.

Внутрибрюшинное введение (в указанном ранее растворителе) экспериментальным животным стеарилоилэтанотиоамида (*n* = 17), пальмитоилэтанотиоамида (*n* = 17) и олеотиоамида (*n* = 17) наоборот приводило к повышению ЛПНР. Наиболее выраженным эффектом обладал стеарилоилэтанотиоамид – 27,5% по сравнению с интактными крысами и на 62,3% по сравнению с группой животных, которым вводили растворитель. Сравнимый с стеарилоилэтанотиоамидом антиноцицептивный эффект наблюдался и при введении пальмитоилэтанотиоамида – ЛПНР у крыс увеличивался на 24% по сравнению с интактными и на 58,8% по сравнению с введением только растворителя.

Олеотиоамид вызывал более слабый антиноцицептивный эффект – ЛПНР повышался на 12,5% в сравнении с интактными и 47,3% - с действием только растворителя. Амиды жирных кислот являются гидрофобными и сложнорастворимыми препаратами. Используемые для их растворения смеси могут оказывать агрессивное действие. Примененный в наших исследованиях растворитель сам по себе оказывал выраженный гипералгический эффект, тогда как исследуемые АЖК либо ослабляли ноцицептивный эффект растворителя, либо его отменяли и даже повышали ЛПНР, что свидетельствует об антиноцицептивном действии. На основании полученных данных для дальнейших исследований выбраны два препарата, оказавших наибольший антиноцицептивный эффект: стеарилоилэтанотиоамид (СЕА) и пальмитоилэтанотиоамид (РЕА).

В наших экспериментах СХЛСН приводило к развитию выраженной механической и термической гипералгезии на 7-14-е сутки после операции (*n* = 70). К 21-м суткам латентный период ноцицептивных реакций в тестах Рандалла-Селитто и «Горячая пластинка» возвращается к контрольным (до лигирования) значениям. Ложная операция (*n* = 16) не вызывала достоверных альтераций ЛПНР ни в одном из применяемых тестов. Однократное болюсное внутрибрюшинное введение РЕА части крыс с СХЛСН (*n* = 20) в дозе 750 мг/кг предварительно (за 1 час) до стимуляции на 7 и 14 сутки существенно ослабляло вызванную СХЛСН механическую гипералгезию. После инъекции РЕА на седьмые сутки у животных значение ЛПНР в тесте Рандалла-Селитто выросло на 23,3% по сравнению с тем, что было до введения РЕА. Инъекция РЕА на 14-е сутки привела к увеличению ЛПНР на 20,3%. Результаты, полученные при использовании теста «Горячая пластинка» на 7-е и 14 сутки после СХЛСН также свидетельствуют о том, что РЕА в

указанной дозе ослабляет термическую гипералгезию, однако изменения не носят достоверный характер.

Применение в аналогичных условиях эксперимента СЕА (n = 20) вызывало более выраженное по сравнению с РЕА повышение ЛПНР в тесте Рандалла-Селитто. Болюсная инъекция 750 мкг/кг СЕА на 7-е сутки после процедуры лигирования увеличивала ЛПНР на 32,2%, а на 14 сутки – на 25,8%. При предъявлении крысам термического стимула на 7 и 14 сутки после СХЛСН СЕА (подобно РЕА) вызывал недостоверное повышение ЛПНР.

Полученные данные свидетельствуют о выраженном антиноцицептивном действии СЕА и РЕА при моделировании, как острой, так и нейропатической боли. Антиноцицептивный эффект СЕА более выражен по сравнению с таковым РЕА при моделировании как острой боли, так и мононейропатии. Представляется целесообразным рассмотреть СЕА в качестве потенциальной основы для разработки обезболивающего препарата.

Литература

1. Арсенов Д.В., Бабицкая С.В., Кисель М.А., Стрельченко О.А. Синтез мицеллообразующих фосфоэтаноламидов ненасыщенных жирных кислот. Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2001. Т. 45. № 2. С. 63-66.
2. Stanford S.C. The open field test: reinventing the wheel. *Journal of Psychopharmacology*. 2007. Vol. 21. № 2: P. 134 - 144.
3. Bennett G.J., Xie Y.K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*. 1988. Vol. 33. № 1. P. 87-107.
4. Le Bars D., Gozariu M., Cadden S.W. Animal models of nociception. *Pharmacological Reviews*. 2001. Vol. 53. N 4. P. 597 - 652.

EFFECT OF FATTY ACID DERIVATIVES WITH CANNABIMIMETIC ACTIVITY ON TO THE LATENCY OF NOCICEPTIVE REFLEXES IN RATS WHILE MODELING ACUTE AND NEUROPATHIC PAIN

Molchanova A. Yu.¹, Zhavoronok I.P.¹, Melik-Kasumov T.B.¹, Targonskaya E.I.¹, Antsipava O.A.¹, Pavlyut T.O.¹, Ablamejka A. S.¹, Tsimahovich T.G.¹, Sharko O.L.², Kisel M.A.²

¹ *Institute of Physiology of NASB, Akademicheskaya str, 28. Minsk. 220072*

² *Institute of Bioorganic Chemistry of NASB, Kuprevicha str. 5/2. Minsk. 220141*

The aim of this study was to investigate the influence of fatty acid amides expressing cannabimimetic properties but not interacting with CB1 receptors onto nociceptive responses in rats with modeled acute and neuropathic pain. It was found that both palmitoylethanolamide and stearoylethanolamide produce statistically significant antinociceptive effect at models of acute or neuropathic pain in rats. At the same time the antinociceptive action of stearoylethanolamide is more pronounced as compared with that of palmitoylethanolamide. It seems appropriate to consider stearoylethanolamide as a potential basis for the development of pain medication.