

УДК 616.833-009.7-085.2-021.6: 577.115.3

ДОЗОЗАВИСИМЫЙ АНТИБОЛЕВОЙ ЭФФЕКТ ДОКОЗАГЕКСАЕНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ

И.В. Манжуло^{1,3}, И.В. Дюйзен^{1,3}, О.С. Огурицова^{1,3}, Н.Е. Ламаиш^{1,2}, Н.А. Латышев¹, С.В. Касьянов¹, А.А. Тыртышная²

¹ Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН (690059, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17), ² Дальневосточный федеральный университет (690950, г. Владивосток, ул. Суханова, 8), ³ Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

Ключевые слова: *нейропатический болевой синдром, полиненасыщенные жирные кислоты, крысы.*

В эксперименте на белых крысах показано, что перевязка седалищного нерва сопровождается развитием нейропатического болевого синдрома – у животных снижается порог температурной болевой чувствительности, формируется неравномерное распределение веса на задние конечности, а также возникают дистрофические изменения в тканях стопы. Использование докозагексаеновой кислоты у животных с повреждением седалищного нерва дозо-зависимо снижает активность и сроки реализации нейрогенного болевого синдрома, приводит к более ранней стабилизации распределения веса и препятствует развитию дистрофических изменений в тканях стопы.

Проблема терапии нейропатической боли на сегодняшний день является объектом пристального изучения во всем мире. Последние исследования в этой области предлагают несколько методик, направленных на борьбу с нейрогенными болевыми синдромами [5]. Одно из направлений лечения нейропатической боли основано на роли полиненасыщенных жирных кислот в нервной ткани. Показано, что жирные кислоты этой группы способны оказывать прямое стабилизирующее воздействие на мембрану клеток, делая ее более устойчивой к повреждающим воздействиям, с одной стороны, и более податливой для проведения нервного импульса – с другой [7].

Кроме того, действие полиненасыщенных жирных кислот в нервной ткани опосредуется влиянием на синтез, метаболизм, везикулярный транспорт и рецепторные эффекты нейротрансмиттеров, нейромодуляторов и сигнальных молекул. Полиненасыщенные жирные кислоты могут непосредственно или косвенно модулировать неврологическую активность на различных уровнях [6]. Значительный интерес представляет докозагексаеновая кислота (ДГК), выраженные нейротропные эффекты которой были зарегистрированы на некоторых моделях острой боли [2, 13]. В настоящем исследовании мы определяли особенности реализации антиболевого эффекта ДГК у крыс с моделью хронической нейропатической боли.

Материал и методы. Работа выполнена на самцах крыс средним весом 250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Исследование проводили в соответствии с правилами проведения работ и использования экспериментальных животных (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.). Крыс содержали в виварии в соответствии с «Санитарными

правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник» от 06.04.1993 г. Животные получали стандартную диету (корм для лабораторных мышей и крыс, ЗАО «БиоПрор») следующего состава: протеин (21,5%), клетчатка (4%), метионин + цистеин (0,8%), Са (1%), Р (0,4%), NaCl (0,35%), калорийность не менее 13,2 МДж/кг.

Для моделирования нейропатического болевого синдрома на седалищный нерв под эфирным наркозом накладывали три лигатуры [4]. Животные были разделены на пять групп (по 8 крыс в каждой):

- ♦ группа «контроль»,
- ♦ группа «боль» – с моделью нейропатической боли,
- ♦ группа «ДГК45» – животные с травмой, получавшие ДГК в дозе 45 мг/кг,
- ♦ группа «ДГК4,5» – животные с травмой, получавшие ДГК в дозе 4,5 мг/кг,
- ♦ группа «диклофенак» – животные с травмой, получавшие препарат сравнения диклофенак (Indus Pharma Pvt. Ltd., India), 4 мг/кг.

Все препараты вводили внутримышечно в течение 2 недель после операции.

Развитие болевого синдрома у животных с поврежденным периферическим нервом сопровождается появлением ряда патологических симптомов, поддающихся количественной оценке и свидетельствующих об интенсивности боли [1]. Мониторинг патологических изменений осуществляли с использованием специализированного оборудования. Распределение нагрузки на задние конечности исследовали с помощью тестера инвалидности (Columbus Instruments, USA). Данный тест позволяет оценить выраженность болевого синдрома в поврежденной лапе по характеру распределения веса на задние конечности при неподвижном положении животного в камере наблюдения [14]. Данные о распределении веса на правую и левую конечности (в граммах) выражали в процентах от общего веса животного. У интактных животных этот показатель находится в пределах 50 : 50, а развивающийся при повреждении периферического нерва болевой синдром сопровождается уменьшением нагрузки на поврежденную конечность. Hot-cold-plate-анализатор (Columbus Instruments, USA) использовали в настоящем исследовании для оценки холодовой аллодинии, неизменно сопровождающей развитие нейрогенного болевого синдрома [4]. Тест проводили в камере с акриловыми стенами высотой 30 см на охлажденной

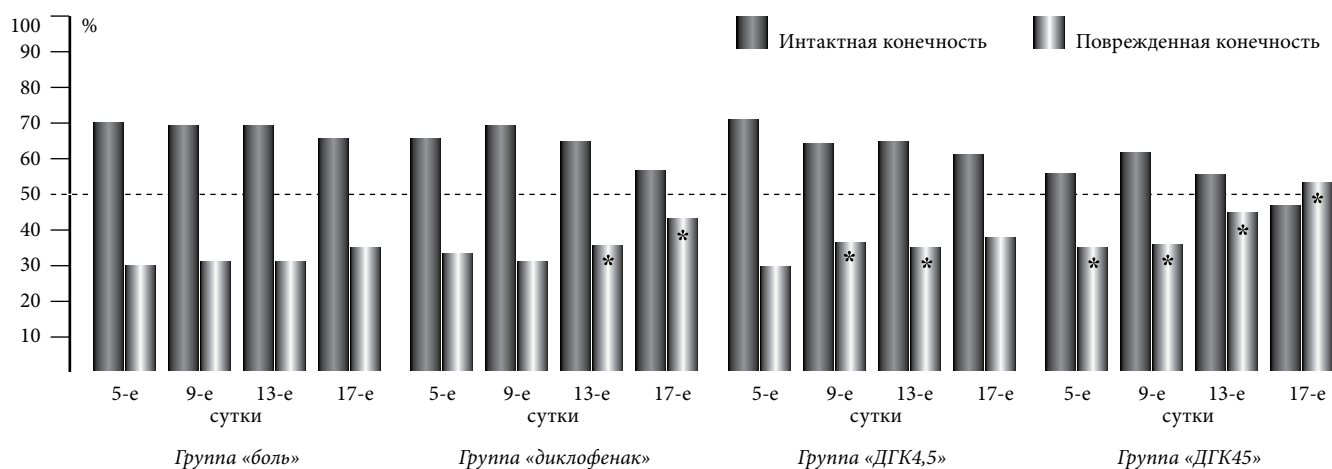


Рис. 1. Динамика распределения веса на задние конечности у животных с моделью нейропатической боли при использовании ДГК и диклофенака (пунктир – контроль), %. * Достоверные различия с группой «боль» в сходных точках наблюдения.

до 0°C металлической пластине размером 30×30 см. Интактные животные в течение длительного времени способны выдерживать данную температуру, опираясь всеми конечностями на охлажденный пол. При повреждении нерва время контакта конечности с холодной пластиной значительно сокращается. Для количественной оценки данного параметра регистрировалось время удержания конечности на весу в течение 1 минуты пребывания животного в тест-камере. Все функциональные тесты проводились на 5, 9, 13 и 17-е сутки после операции; каждое животное тестировалось трижды с интервалом в 5 мин между измерениями. Полученные данные обрабатывали с использованием методов параметрической статистики.

Результаты исследования. В тесте распределения нагрузки на задние конечности у животных с нейропатическим болевым синдромом возникает асимметрия в удержании веса тела с более активным использованием интактной конечности [14]. Данный показатель в разные послеоперационные сроки имел достоверные отличия у животных всех экспериментальных групп. Животные в группе «боль» через 5 суток после повреждения нерва $69,9 \pm 1,8\%$ собственного веса удерживали интактной конечностью. В этот же период животные группы «ДГК45» распределяют вес практически симметрично ($55,4 \pm 2,0\%$: $44,6 \pm 2,0\%$), в группе «ДГК4,5» – $70,7 \pm 1,6\%$: $29,3 \pm 1,6\%$, а в группе «диклофенак» – $66,4 \pm 2,4\%$: $33,6 \pm 2,4\%$ с предпочтительным использованием неповрежденной лапы. В дальнейшем у животных всех групп формировалась тенденция к снижению доминирования упора на здоровую конечность, к концу эксперимента распределение веса у животных группы «боль» составляло $65,3 \pm 2,4\%$: $34,7 \pm 2,4\%$, в группе «ДГК45» животные полностью восстанавливали баланс распределения веса, тогда как распределение веса в группе «ДГК4,5» и «диклофенак» составляло $61,4 \pm 2,0\%$: $38,6 \pm 2,0\%$ и $56,6 \pm 2,4\%$: $43,4 \pm 2,4\%$ соответственно (рис. 1).

Развитие холодовой аллодинии характеризует наличие и степень развития нейрогенного болевого

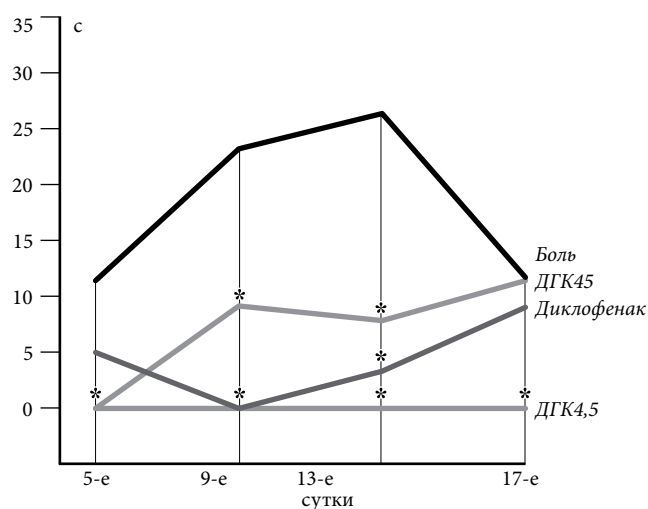


Рис. 2. Выраженность холодовой аллодинии (время отсутствия контакта с охлажденной пластиной) у животных с моделью нейропатической боли при использовании ДГК и диклофенака. * Достоверные различия с группой «боль» в сходных точках наблюдения.

синдрома и основывается на феномене снижения порога возбуждения рецепторов на воздействие неболевых термических стимулов [4]. Результаты теста в группе «боль» демонстрировали появление данного синдрома уже на 5-е сутки после операции ($8,5 \pm 0,4$ с) и его резкое нарастание к 9–13-м суткам (около 25 с). Лишь к концу наблюдения отмечалась тенденция к снижению этого показателя (рис. 2). У животных группы «ДГК45» начальные признаки развития холодовой аллодинии регистрировались позже – на 9-е сутки, имели меньшую выраженность ($9,0 \pm 1,3$ с) и сохранялись на данном уровне вплоть до конца наблюдения, тогда как у животных группы «ДГК4,5» аллодиния отсутствовала. В группе «диклофенак» признаки аллодинии возникали уже на 5-е сутки, исчезали к 9-м суткам и нарастали к 13–17-му дню наблюдения.

Необходимо отметить также, что у 60% крыс из группы «боль» за период наблюдения были выявлены признаки обширных трофических повреждений

стопы и явление аутономии одного или нескольких пальцев денервированной конечности. У животных групп «ДГК45», «ДГК4,5» и «диклофенак» описанных патологических изменений не наблюдалось. Зарегистрированные на 6–10-е сутки незначительные изъязвления кожи поврежденной лапы, спонтанно рубцевались и эпителизировались.

Обсуждение полученных данных. Таким образом, системное введение ДГК животным с повреждением периферического нерва дозозависимо снижает активность и сроки реализации нейрогенного болевого синдрома, приводит к более ранней стабилизации распределения веса и препятствует развитию трофических изменений в тканях стопы.

В настоящее время зарегистрированные в эксперименте и клинике нейропротективный и антиболевого эффекты ДГК связываются с реализацией противовоспалительного и антиоксидантного эффектов препарата [2, 5]. Кроме того, ДГК является основным компонентом фосфолипидов мембран нейронов, где выполняет структурную и функциональную роль [8]. Встраиваясь в мембраны нейронов и глиальных клеток, препарат модулирует их метаболические, электрические и рецепторные свойства [3]. Эндогенные метаболиты ДГК (нейропротектин D1 и резолвины) уменьшают выраженность некроза и апоптоза тканевых элементов центральной и периферической нервной системы [11, 12, 15]. На сегодняшний день известно, что комплексы жирных кислот отдельных регионов мозга в разной степени страдают от недостатка ДГК в процессе развития [11]. Последние данные указывают на то, что в дополнении к описанным эффектам ДГК оказывает протекторное воздействие на нервную ткань при хронических дегенеративных процессах [6]. Результаты ряда исследований демонстрируют, что использование ДГК после травмы спинного мозга значительно повышает выживаемость нейронов и улучшает локомоторные и двигательные функции [9]. В спектре эффектов ДГК выявлены также специфические нейротрансмиттерные взаимодействия, обеспечивающие подавление болевого сигнала – уменьшение продукции вещества Р ноцицептивными нейронами (собственное неопубликованное наблюдение) и активация эндогенных опиоидных и неопиоидных механизмов анальгезии [10, 13]. Детальное изучение особенностей и механизмов антиболевого действия эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот необходимо для разработки новых фармакологических стратегий регуляции болевого синдрома.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 14.132.21.1344 и ДВО РАН, гранты 12-III-A-06-090; 12-I-P7-02; 13-III-B-06-020; 13-III-B-06-035.

Литература

1. Балашова Т.В., Андреева Н.А., Мнацаканян Л.А. и др. Современные представления о патогенезе боли // Тихоокеанский медицинский журнал. 2012. №3. С. 13–16.
2. Bazan N.G. Omega-3 fatty acids, pro-inflammatory signaling

and neuroprotection // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2007. Vol. 10. P. 136–141.

3. Belayev L., Marcheselli V.L., Khoutorova L. et al. Docosahexaenoic acid complexed to albumin elicits high-grade ischemic neuroprotection // *Stroke*. 2005. Vol. 36. P. 118–123.
4. Bennett G.J. An animal model of neuropathic pain: a review // *Muscle Nerve*. 1993. Vol. 16. P. 1040–1048.
5. Cunnane S.C., Plourde M., Pifferi F. et al. Fish, docosahexaenoic acid and Alzheimer's disease // *Prog. in Lipid Res*. 2009. Vol. 48. P. 239–256.
6. Dyal S.C., Michael-Titus A.T. Neurological benefits of omega-3 fatty acids // *Neuromol. Med*. 2008. Vol. 10. P. 219–235.
7. Farooqui A.A., Horrocks L.A., Farooqui T. Modulation of inflammation in brain: a matter of fat // *J. Neurochem*. 2007. Vol. 101. P. 577–599.
8. Gamoh S., Hashimoto M., Sugioka K. et al. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves reference memory-related learning ability in young rats // *Neuroscience*. 1999. Vol. 93. P. 237–241.
9. King V.R., Huang W. Omega-3 fatty acids improve recovery, whereas omega-6 fatty acids worsen outcome, after spinal cord injury in the adult rat // *The J. of Neurosci*. 2006. Vol. 26, No. 17. P. 4672–4680.
10. Mathieu G., Denis S., Langelier B. et al. DHA enhances the noradrenaline release by SH-SY5Y cells // *Neurochem. Int*. 2010. Vol. 56. P. 94–100.
11. Mukherjee P.K., Chawla A., Loayza M.S. et al. Docosanoids are multifunctional regulators of neural cell integrity and fate: significance in aging and disease // *Prostagland. Leuk. Essent Fat. Ac*. 2007. Vol. 77. P. 233–238.
12. Nakamoto K., Nishinaka T. et al. Antinociceptive effects of docosahexaenoic acid against various pain stimuli in mice // *Biol. Pharm. Bull*. 2010. Vol. 33, No. 6. P. 1070–1072.
13. Nakamoto K., Nishinaka T. et al. Possible involvement of μ -endorphin in docosahexaenoic acid-induced antinociception // *Europ. J. Pharmacol*. 2011. Vol. 666. P. 100–104.
14. Nakazato-Imasato E., Kurebayashi Y. Pharmacological characteristics of the hind paw weight bearing difference induced by chronic constriction injury of the sciatic nerve in rats // *Life Sci*. 2009. Vol. 84. P. 622–626.
15. Serhan C.N., Gotlinger K., Hong S. et al. Anti-inflammatory actions of neuroprotectin D1/proctectin D1 and its natural stereoisomers: assignments of dihydroxycontaining docosatrienes // *J. Immunol*. 2006. Vol. 176. P. 1848–1859.

Поступила в редакцию 24.01.2013.

A DOSE-DEPENDENT ANALGESIC EFFECT OF DOCOSAHEXAENOIC ACID IN CASE OF EXPERIMENTAL PERIPHERAL NEUROPATHY

I.V. Manzhoul^{1,3}, I.V. Dyuizen^{1,3}, O.S. Ogourtsova^{1,3}, N.E. Lamash^{1,2}, N.A. Latyishev¹, S.V. Kasyanov¹, A.A. Tyurtyishnaya²

¹ A. V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (17 Palchevskogo St. Vladivostok 690059 Russian Federation), ² Far Eastern Federal University (8 Sukhanova St. Vladivostok 690950 Russian Federation), ³ Pacific State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russian Federation)

Summary – The experiment on white rats confirms that the sciatic nerve ligation causes neuropathic pain syndrome characterised by a decrease in the temperature pain threshold, uneven weight distribution on hind-limbs, and dystrophic changes in foot tissues. Depending on dose used to treat animals with sciatic nerve injury, the docosahexaenoic acid reduces the intensity and period of neuropathic pain syndrome and allows earlier stabilisation of weight distribution, thus hindering the dystrophic changes in foot tissues.

Key words: neuropathic pain syndrome, polyunsaturated fatty acids, rats.

Pacific Medical Journal, 2013, No. 2, p. 31–33.