

О.В.Багацька, О.В.Гура

Дослідження анальгезії, викликаної впливом на точку акупунктури мікрохвиль низької інтенсивності, у мишей різних генотипів

Исследовали длительность болевой реакции “лизания” конечности после инъекции раствора формалина (5% по 0,025 мл) в дорсальную поверхность стопы задней конечности и уровень анальгезии, вызванной влиянием на точку акупунктуры E-36 микроволн низкой интенсивности на протяжении 10 мин на инъекционной конечности, у мышей генотипов C57Bl/6j (C57), CBA/CaLac (CBA) и беспородных белых лабораторных мышей. Показано, что у мышей линии C57 была самая большая длительность болевой реакции и самый низкий уровень анальгезии (8,3%) по сравнению с такими у мышей линии CBA и белыми беспородными лабораторными мышами. Мыши генотипа CBA имели самую короткую длительность болевой реакции и средний уровень анальгезии (13,8%) по сравнению с мышами генотипа C57 и белыми беспородными лабораторными мышами. Последние характеризовались средней длительностью болевой реакции и наибольшим уровнем анальгезии (24,2%).

ВСТУП

Встановлено, що люди характеризуються великими індивідуальними відмінностями в больових порогах і толерантністю до таких больових стимулів як надавлювання, нагрівання, прикладання електричного струму, до болей шкіри, вісцерального та глибокого м'язового болю [12]. Залежно від таких індивідуальних особливостей виникає різний рівень анальгезії після введення анальгетиків [7, 11, 13]. Дослідження цих явищ на тваринах може бути дуже цінним, якщо для експериментів використовувати тварин одного генотипу. Найбільше підходять для таких досліджень гризуни, особливо лабораторні миші, оскільки серед них існує велика різноманітність генотипів.

Метою нашої роботи було дослідження больових і небольових поведінкових реакцій, а також рівня анальгезії, викликаної дією мікрохвиль низької інтенсивності на точку акупунктури (ТА) у мишей генотипів C57Bl/6j

(C57), CBA/CaLac (CBA) і білих беспородних лабораторних мишей. Відомо що миші лінії C57 схильні до захворювань на лейкоз, ретикульоз, лімфогранульоматоз, а миші лінії CBA – до виникнення злоякісних пухлин молочних залоз, печінки та легень.

МЕТОДИКА

Досліди проведено на дорослих мишах-самцях ліній C57 (22–24 г), CBA (24–26 г) і беспородних білих лабораторних мишах (28–30 г). Враховуючи той факт, що больовий поріг у мишей змінюється протягом доби [9], експерименти проводили в один і той же час з 10-ї до 13-ї години. За три доби до експерименту тварин розміщували по одному в окрему клітку і тримали в приміщенні з температурою 23 °С, а за добу до експерименту переносили їх в експериментальну кімнату для звикання. Хронічний біль викликали ін'єкцією 5%-го розчину формаліну (0,025 мл) підшкірно в дорсальну

поверхню стопи задньої лівої кінцівки. Цей тест широко використовується для випробування анальгетичної дії фармакологічних препаратів. Анальгезію викликали опроміненням протягом 10 хв ТА Е-36 на лівій кінцівці мікрохвилями низької інтенсивності за допомогою апарата “ІВТ-Порог” зі спектром випромінювання 30–300 ГГц з амплітудною модуляцією цього випромінювання низькочастотними сигналами в межах від 0,1 до 100 Гц і щільністю потоку $3 \cdot 10^{-9}$ Вт/см². Тривалість больової поведінкової реакції – вилузування кінцівки, в яку була зроблена ін’єкція, а також невольових реакцій таких, як “їда”, “сон”, “біг”, “вмивання” реєстрували протягом 60 хв після закінчення опромінення ТА Е-36 мікрохвилями. За допомогою комп’ютерної програми визначали середнє значення тривалості зазначених реакцій кожні послідовні 10 хв і за 60 хв спостереження. Визначали середнє арифметичне значення тривалості реакцій і квадратичну помилку середнього.

Усіх досліджених тварин було розділено на три групи, в кожену з яких входило по 10 мишей лінії С57, лінії СВА і безпородних білих лабораторних мишей. До І групи ввійшли миші, у яких досліджували поведінкові реакції в нормі, до ІІ групи – миші, яким після ін’єкції розчину формаліну в кінцівку робили імітацію опромінення ТА Е-36 мікрохвилями впродовж 10 хв, до ІІІ групи – тварини, яким після ін’єкції розчину

формаліну в кінцівку проводили опромінення ТА Е-36 мікрохвилями протягом 10 хв.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Тривалість поведінкових реакцій у нормі була різною у мишей генотипу С57, СВА і безпородних білих лабораторних мишей. Час вилузування здорової лівої кінцівки у білих лабораторних мишей значно менший (14,3 \pm 6,3 с), ніж у мишей генотипу С57 (49,7 \pm 19,2 с) і генотипу СВА (94,9 \pm 48,7 с). Але такі реакції, як “їда”, “сон” і “вмивання” значно триваліші у білих лабораторних мишей, ніж у мишей лінії С57 і лінії СВА. Тривалість реакції “біг” у нормі була меншою у білих лабораторних мишей (табл. 1).

Ін’єкція формаліну в задню кінцівку призводила до виникнення болю в місці ін’єкції і зміни тривалості поведінкових реакцій. Особливо збільшувалася тривалість больової реакції вилузування ін’єкційної кінцівки порівняно з вилузуванням здорової кінцівки в нормі (І група). Так, у мишей лінії С57 час больової реакції “вилузування” кінцівки, в яку була зроблена ін’єкція, становив 1225 с \pm 109,9 с, у мишей лінії СВА – 687 с \pm 109,5 с, у безпородних білих лабораторних мишей – 854 с \pm 91,4 с (див.табл. 1). Динаміка больової реакції протягом 60 хв спостереження була різною для мишей ліній С57 і СВА і безпородних білих лабораторних мишей. На 10-й хвилині

Таблиця 1. Тривалість (с) больових і невольових поведінкових реакцій у мишей лінії С57В1/6J, СВА/СаЛас і білих лабораторних мишей у нормі (І група), після введення розчину формаліну в кінцівку без опромінення (ІІ група)

Реакція	І група			ІІ група		
	С57В1/6J	СВА/Са Лас	Білі лабораторні миші	С57В1/6J	СВА/Са Лас	Білі лабораторні миші
Вилузування	49,7 \pm 19,2	94,9 \pm 48,7	14,3 \pm 6,3	1225 \pm 109,9	687 \pm 109,5	854 \pm 91,4
Їда	331,5 \pm 94,6	382,3 \pm 146,1	571,2 \pm 147	5,8 \pm 4,6	1,8 \pm 1,8	1,0 \pm 0,8
Сон	456,8 \pm 126,3	450,1 \pm 227,5	812,4 \pm 249,6	251,4 \pm 128,8	306,3 \pm 168,2	578,2 \pm 147,7
Біг	458,8 \pm 98,9	628,7 \pm 181,7	360,3 \pm 136,2	380,8 \pm 57,8	267,0 \pm 117,6	166,5 \pm 39,5
Вмивання	603,7 \pm 89,8	590,8 \pm 89,9	737,6 \pm 134,9	38,9 \pm 17,2	36,7 \pm 12,8	41,9 \pm 10,9

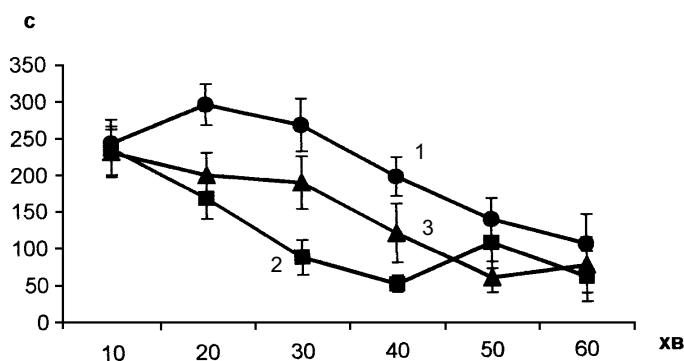


Рис. 1. Динаміка тривалості больової реакції вилизування кінцівки, в яку була зроблена ін'єкція, через кожні наступні 10 хв протягом 60 хв спостереження у мишей ліній C57Bl/6j (1), CBA/CaLac (2) і безпородних білих лабораторних мишей (3) після ін'єкції розчину формаліну в кінцівку

спостереження тривалість реакції була для них однаковою, на 20-й хвилині у мишей лінії C57 вона збільшилась, а потім поступово зменшувалась, а у мишей лінії CBA і безпородних білих лабораторних мишей – знизилася після 10-ї хвилини (рис. 1).

Тривалість невольових поведінкових реакцій таких, як “їда”, “сон”, “біг”, “вмивання” значно зменшилася після ін'єкції розчину формаліну в задню кінцівку як у мишей ліній C57 і CBA, так і у безпородних білих лабораторних мишей. (див.табл. 1). У стані болю миші ліній C57 і CBA вели себе більш неспокійно, ніж безпородні білі лабораторні миші. Це видно з того, що тривалість реакції “біг” у

мишей лінії C57 становила 380,8 с ± 57,8 с, мишей лінії CBA – 267,0 с ± 117,6 с, що значно більше, ніж у безпородних білих лабораторних мишей (166,5 с ± 39,5 с), а тривалість реакції “сон”, навпаки, була значно більшою у безпородних білих лабораторних мишей – 578,2 с ± 147,7 с порівняно з тривалістю її у мишей лінії C57 – 251,4 с ± 128,8 с і мишей лінії CBA – 306,3 с ± 168,2 с (див. табл. 1).

Опромінення мікрохвилями низької інтенсивності ТА Е36 на кінцівці, в яку була зроблена ін'єкція, призводило до зменшення тривалості больової реакції “вилузування”

кінцівки (ІІІ група) порівняно з тривалістю цієї реакції у мишей, яким проводили імітацію опромінення ТА (ІІ група). Зменшення тривалості больової реакції вказує на зменшення болю, тобто анальгезію, яка настає після впливу на ТА Е36 мікрохвилями. Але рівень анальгезії був різний у мишей ліній C57 і CBA та безпородних білих лабораторних мишей. Тривалість больової реакції “вилузування” кінцівки у мишей лінії C57 зменшилася на 8,3%, у мишей лінії CBA – на 13,8%, а у безпородних білих лабораторних мишей – на 24,2% (рис. 2, табл. 2). Тривалість анальгезії теж була різною у мишей ліній C57 і CBA і безпородних білих лабораторних мишей. У

Таблиця 2. Порівняння тривалості поведінкових реакцій у мишей ліній C57Bl/6J, CBA/CaLac і білих лабораторних мишей без опромінення (ІІ група) та після опромінення ТА Е-36 мікрохвилями (ІІІ група)

Реакція	C57Bl/6J		CBA/CaLac		Білі лабораторні миші	
	ІІ група	ІІІ група	ІІ група	ІІІ група	ІІ група	ІІІ група
Вилузування	1225,0±109,9 100%	1123,4±124,7 91,7%	687,0±109,5 100%	592,2±84,4 86,2%	854,0±91,4 100%	647,3±88,1 75,8%
Їда	5,8±4,6 100%	6,0±3,7 103,1%	1,8±1,8 100%	0,0±0,0 0%	1,0±0,8 100%	144,5±61,1 зб. в 144,5 р.
Сон	251,4±128,8 100%	76,8±67,0 30,6%	306,3±168,2 100%	391,2±91,3 127,7%	578,2±147,7 100%	698,9±167,2 120,9%
Біг	380,8±57,8 100%	358,8±48,4 94,2%	267,0±117,6 100%	251,0±42,8 94%	166,5±39,6 100%	222,2±38,2 133,5%
Вмивання	38,9±17,2 100%	39,7±11,5 102%	36,7±12,8 100%	42,9±17,5 116,9%	41,9±10,9 100%	24,6±5,7 58,7%

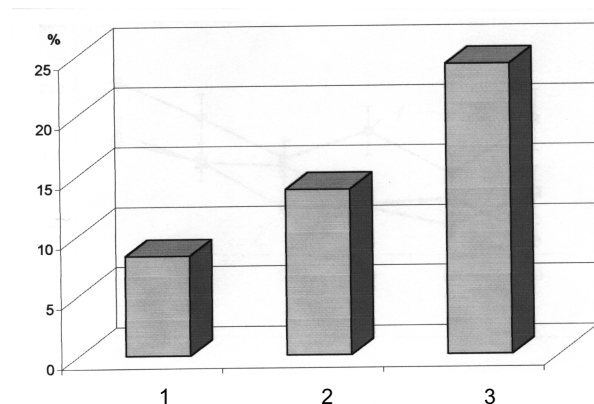


Рис. 2. Анальгезія, викликана опроміненням ТА Е36 мікрохвилями, у мишей ліній C57Bl/6j (1), CBA/CaLac (2) і безпородних білих лабораторних мишей (3)

мишей ліній C57 і CBA анальгезія починала розвиватися в перші 10 хв після опромінення ТА Е36 мікрохвилями і сягала максимуму через 30 хв, далі то збільшуючись, то зменшуючись вона майже зникла на 60-й хвилині спостереження (рис. 3). У безпородних білих лабораторних мишей анальгезія також розвивалась у перші 10 хв після впливу на ТА Е36, але то збільшуючись, то зменшуючись зберігалася до 60-ї хвилини спостереження (див. рис. 3).

Тривалість усіх невеликих поведінкових реакцій після опромінення значно збільшилась у безпородних білих лабораторних мишей (III група) порівняно з тривалістю цих реакцій у стані болю (II група), але вона не сягала тривалості відповідної реакції в нормі (I група) (див.табл. 2). Зміна тривалості невеликих поведінкових реакцій у мишей лінії CBA після опромінення ТА Е36 мікрохвилями (III група) була незначною і не однонаправленою щодо тривалості цих реакцій у стані болю (II група). Так, тривалість реакції “біг” зменшилася на 6%, а реакція “їда” не виникала зовсім, а тривалість реакції “сон” і “вмивання” збільшилися на 27,7 і 16,9% відповідно. Тривалість небо-

льових поведінкових реакцій у мишей лінії C57 таких, як “їда” і “біг” збільшилися на 3,1 і 2% відповідно, а тривалість реакції “сон” і “біг” зменшилися на 69,4 і 5,8% відповідно (див.табл. 2).

Результати наших експериментів показують, що миші генотипів C57 і CBA більш рухливі порівняно з безпородними білими лабораторними мишами. Вони менше часу витрачали на їду, сон і більше бігали ніж безпородні білі лабораторні миші.

Активність тварин залежить від співвідношення вмісту норадреналіну та дофаміну з таким серотоніну в структурах головного мозку [6]. Функціонально дофамінергічна та серотонінергічна системи мозку знаходяться в реципрокних відношеннях [8]. Вміст серотоніну вищий у слабоактивних тварин порівняно з більш рухливими. У останніх більший вміст норадреналіну та дофаміну.

Тривалість больової реакції після ін'єкції розчину формаліну в кінцівку найбільшою була в мишей генотипу C57, а найменшою в мишей генотипу CBA. Біль – складна реакція організму, яка залежить від взаємодії системи, що проводить “больову” імпульсацію та діяльності ендогенної протибольової системи головного мозку. Різниця в тривалості больової реакції в

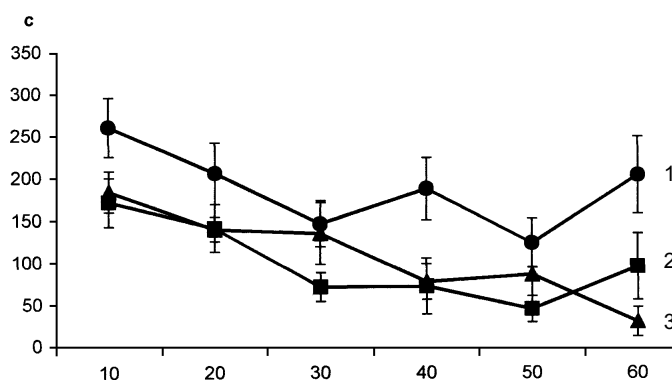


Рис. 3. Динаміка тривалості больової реакції вилизування кінцівки, в яку була зроблена ін'єкція, після опромінення ТА Е-36 мікрохвилями у мишей ліній C57Bl/6j (1), CBA/CaLac (2) і білих лабораторних мишей (3) через кожні наступні 10 хв протягом 60 хв

досліджених нами мишей генотипів C57, CBA і безпородних білих лабораторних мишей вказує на різну активність у них больової й ендогенної протибольової системи мозку.

Рівень анальгезії, викликаної впливом мікрохвиль низької інтенсивності на ТА Е-36, у досліджених нами мишей суттєво відрізнявся. Найменшим він був у мишей лінії C57 (8,3%), трохи більшим у мишей лінії CBA (13,8%), а найвищим у безпородних білих лабораторних мишей (23,2%). Відомо, що основну роль у виникненні анальгезії належить серотонінергічній системі головного мозку [10]. Зменшення вмісту серотоніну в головному мозку за допомогою введення DL-парахлорфеніланіну (блокатора синтезу серотоніну) призводить до зниження анальгезії, викликаної опроміненням мікрохвилями [2, 3], а також стимуляцією центральної сірої речовини середнього мозку [4]. Такий низький рівень анальгезії, викликаної впливом мікрохвиль низької інтенсивності на ТА, можливо, пов'язаний з нижчим вмістом серотоніну в головному мозку мишей генотипу C57 і CBA порівняно з безпородними білими лабораторними мишами [1].

ВИСНОВКИ

Миші лінії C57 мали найбільшу тривалість больової реакції і найменший рівень анальгезії (8,3%) порівняно з мишами лінії CBA і безпородними білими лабораторними мишами. Миші генотипу CBA мали найменшу тривалість больової реакції, але середній рівень анальгезії (13,8%). Білі лабораторні миші мали середню тривалість больової реакції, але найбільший рівень анальгезії (24,2%).

E.V. Bagatskaya, E.V. Gura

INVESTIGATION OF PAIN REACTION AND ANALGESIA EVOKED BY MICROWAVES OF LOW INTENSITY ON THE POINT OF ACUPUNCTURE IN MICE OF TWO GENOTYPES AND WHITE LABORATORY MICE

It was investigated the duration of pain response-licking of a back paw after injection of a solution of formalin (5 %

on 0,025 ml) in a dorsal surface of a back paw and the level of analgesia evoked by microwaves of low intensity on the point of acupuncture E-36 applied during 10 minutes on injected back paw in mice of genotypes C57Bl/6j (C57), CBA/CaLac (CBA) and white laboratory mice. It was shown that the mice C57 had the largest duration of pain response and the lowest level of analgesia (8,3 %) when compared with mice CBA and white laboratory mice. The mice of a genotype CBA had the shortest duration of pain response, but an average level of analgesia (13,8 %) in comparison with mice C57 and white laboratory mice. The white laboratory mice had average duration of pain response but the greatest level of analgesia (24,2 %) in comparison with mice of a genotype C57 and CBA.

*A.A. Bogomolets Institute of Physiology
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Августинович Д.Ф., Липина Г.В., Алексеенко О.В. и др. Особенности функциональной активности серотонинергической системы мозга в проявлении естественной и патологической тревожности у мышей: влияние генотипа// Журн. высш. нервн. деятельности. – 1998. – **48**, №2. – С. 331–341.
2. Гура О.В., Багацька О.В. Участь серотонінергічної системи у больових реакціях, викликаних введенням формаліну у мишей// Фізіол. журн. – 2002. – **48**, №2. – С. 22.
3. Гура Е.В., Багацька Е.В., Лиманский Ю.П. Участие серотонинергической системы в анальгезии, вызванной действием низкоинтенсивных микроволн на противобольную точку акупунктуры// Нейрофизиология. – 2002. – **34**, №4. – С.303–308.
4. Гура Е.В., Яхница В.А., Лиманский Ю.П. Торможение рефлексов открывания рта кошки стимуляцией центрального серого вещества и ядер шва// Там же. – 1984. – **16**, №3. – С.374–384.
5. Семёнова Т.Г., Иванов В.А., Третьяк Т.М. Содержание норадреналина, допамина и серотонина в мозге крыс, различающихся уровнем двигательной активности//Журн. высш. нервн. деятельности. – 1979 – **29**, №3. – С. 640–642.
6. Трекова Н.А., Хлопушина Т.Г., Башарова Л.А. и др. Влияние антител к серотонину на поведение мышей C57Bl/6j в открытом поле и содержание моноаминов в структурах головного мозга// Там же. – 1998. – **48**, №2. – С. 251–259.
7. Chapman C.R., Hill H.F., Saeger Z. et al. Profiles of opioid analgesia in humans after intravenous bolus administration: alfentanil, fentanyl and morphine compared on experimental pain// Pain. – 1990. – **43**, №1. – P. 47–55.
8. Dray A. Serotonin in basal ganglia: function and inter-

- action with other neuronal pathways // J. Physiol. (France). – 1981. – **77**, №1. – P. 393–400.
9. Golombek D.A., Escolar E., Burin L.J. et al. Time-dependent melatonin analgesia in mice: inhibition by opiate or benzodiazepine antagonist// Eur. J. Pharmacol. – 1991. – **194**, № 1. – P. 25–30.
 10. Hain H.S., Belknap J.K., Mogil J.S. Pharmacogenetic evidence for the involvement of 5- hydroxytryptamin (serotonin) – 1B receptors in the mediation of morphine antinociceptive sensitivity// J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1999. – **291**, №2. – P. 444–449.
 11. Levine J.D., Gordon N.C., Smith R. et al. Analgetic responses to morphine and placebo in individuals with postoperative pain// Pain. – 1981. – **10**, №3. – P.379–389.
 12. Mogil J.S. The genetic mediation of individual differences in sensitivity to pain and its inhibition// National Academy of sciences colloquium «The Neurobiology of Pain». – 1999. – **96**, №14. – P. 7741–7751.
 13. Portenoy R.K., Foley K.M., Inturrisi C.E. The nature of opioide responsiveness and its implications for neuropathic pain: new Hypotheses derived from studies of opioid infusions// Pain. – 1990. – 43, №3. – P.273–286.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця, НАН України,
Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 13.11.2003*