

О.В. Гура, О.В. Багацька, Ю.П. Лиманський

Анальгезія, викликана сумісною дією корвітину та опромінення точки акупунктури мікрохвилями, при соматичному болю у мишей різних генотипів

Вивчали рівень анальгезії після опромінення точки акупунктури E-36 мікрохвилями низької інтенсивності (30–300 ГГц, щільність потоку потужності $3 \cdot 10^{-9}$ Вт/см²) на тлі введеного корвітину (20 мг/кг) у мишей двох генотипів C57Bl/6j та CBA/CaLac з соматичним болем, який був викликаний формаліновим тестом. Показано, що дія цих двох факторів викликає значну анальгезію, котра, однак, відрізняється за рівнем: 43 % у мишей генотипу C57Bl/6j та 33 % – CBA/CaLac. Інтенсивність анальгезії при сумісній дії мікрохвиль і корвітину перевищує таку, яка виникає при окремому застосуванні цих факторів.

Ключові слова: точка акупунктури, мікрохвиля, корвітин.

ВСТУП

Розробка засобів лікування болю – одна з найактуальніших проблем медицини та фізіології. Пригнічення гострого та хронічного болю, як правило, досягається використанням опіоїдних анальгетиків або нестероїдних протизапальних препаратів, які можуть викликати небажані побічні ефекти. Дані, отримані в дослідженнях на лабораторних тваринах [2, 3, 5, 10, 14], а також лікування пацієнтів з хронічними больовими синдромами [25, 26] показали, що одним з прийомів, який забезпечує послаблення, а в деяких випадках і повне пригнічення відчуття болю, є дія на точку акупунктури (ТА) мікрохвиль низької (нетеплової) інтенсивності.

У досліджах на лабораторних тваринах з'ясовано, що комбіноване використання анальгетичних препаратів і впливу мікрохвиль низької інтенсивності на ТА дає можливість зменшити дози анальгетиків для досягнення значного рівня знеболення. Використання як анальгіну, так і трамадолу в половинній дозі комбіновано з впливом на ТА мікрохвиль призводило до такого само-

го рівня знеболювання, як і застосування цих препаратів у повній дозі [8, 12, 13]. Попередніми дослідженнями показано, що кверцетин (біофлавоноїд – рослинний поліфенол) ефективний антиоксидант [11], викликає суттєвий антиноцицептивний ефект на біль, спричинений термічним і хімічним подразненням [20, 22], а також на вісцеральний [20] і невропатичний біль у мишей з експериментально викликаним діабетом [15].

Результати наших досліджень довели, що як вплив на ТА мікрохвиль низької інтенсивності, так і введення корвітину (розчинний у воді комплекс кверцетину – 50 % з полівінілпіролідом – 50 %) викликають неоднаковий рівень анальгезії у мишей різних генотипів [2, 10, 16] при соматичному болю, викликаному формаліновим тестом.

Мета цієї роботи – вивчити рівень анальгезії при сумісній дії корвітину та мікрохвиль низької інтенсивності на ТА E-36 у мишей різних генотипів в умовах соматичного болю.

МЕТОДИКА

Досліди проведено на 100 дорослих мишах-

самця масою 20–24 г ліній С57В1/6j (n=50) і СВА/СаLас (n=50). Три доби тварин тримали в окремих клітках у віварії, а за добу до експерименту переносили в лабораторну кімнату для звикання. Експерименти проводили з 10-ї до 13-ї години. Біль викликали ін'єкцією 25 мкл 5%-го розчину формаліну (в 0,9%-му розчині NaCl) підшкірно в дорсальну поверхню стопи задньої кінцівки. Формаліновий тест супроводжується двома фазами болю: рання триває від 0 до 10 хв, пізня – до 60 хв і більше [19, 21]. Корвітин (виробництво Борщагівського фармацевтичного заводу, Київ, Україна) вводили внутрішньоочеревинно по 20 мг/кг за 10 хв до ін'єкції формаліну. Зразу після введення формаліну тваринам опромінювали протягом 10 хв ТА Е-36 на лівій задній кінцівці за допомогою апарата «ІХТ-Поріг» («Біополіс», Київ, Україна) зі спектром випромінювання 30–300 ГГц з амплітудною модуляцією низько-частотними сигналами в межах 0,1–100 Гц і щільністю потоку потужності $3 \cdot 10^{-9}$ Вт/см². Тривалість больової поведінкової реакції – вилизування кінцівки, в яку було введено формалін, а також таких невольових поведінкових проявів, як приймання їжі, сон, біг, грумінг реєстрували протягом 60 хв після впливу на ТА мікрохвилями.

Дослідні тварини були розділені на п'ять груп (по 10 мишей у кожній). В I групу ввійшли тварини, яким у кінцівку вводили 25 мкл фізіологічного розчину, II – миші, яким вводили розчин формаліну в кінцівку і протягом 10 хв проводили всі маніпуляції, що супроводжували опромінення, але з виключеним апаратом (контрольна група), III – миші, яким вводили корвітин, потім розчин формаліну та імітували опромінення ТА протягом 10 хв, IV – миші, яким після введення розчину формаліну опромінювали ТА, V – миші, яким вводили корвітин, через 10 хв – розчин формаліну і відразу опромінювали ТА. За допомогою комп'ютерної програми Lady Pain, розробленої в відділі

фізіології стовбура мозку Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця, визначали середнє значення тривалості зазначених реакцій кожні послідовні 10 хв і за 60 хв спостереження. Результати обробляли статистично з розрахунком середніх значень тривалості кожного поведінкового прояву в кожній групі (M) та стандартної помилки середнього (m). Розбіжності середніх значень між порівнюваними групами оцінювали за допомогою критерію t Стьюдента та вважали достовірним при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У тварин II групи підшкірна ін'єкція розчину формаліну в задню кінцівку створювала осередок болю. Це зумовлювало виникнення больової реакції, яка продовжувалася у мишей лінії С57В1/6j і СВА/СаLас – $1225 \pm 109,9$ і $687 \text{ с} \pm 109,5 \text{ с}$ відповідно, що достовірно ($P < 0,05$) більше від тривалості цієї реакції у мишей I групи, яким вводили фізіологічний розчин. Водночас тривалість таких невольових поведінкових проявів, як біг, грумінг, їда і сон достовірно ($P < 0,05$) зменшилась (таблиця). Введення корвітину зменшувало час больової реакції, викликані введенням розчину формаліну у мишей III групи порівняно з II групою (контроль). Так, у мишей лінії С57В1/6j і СВА/СаLас (III група) цей показник був меншим, ніж у контролі на 26,6 і 17,9 % відповідно (див. таблицю). Тривалість таких невольових поведінкових проявів, як біг і сон у мишей лінії С57В1/6j зменшилась, а грумінг – збільшилась, їжа – не змінилась порівняно зі значеннями у тварин II групи. У мишей лінії СВА/СаLас після введення корвітину достовірно збільшилась тривалість таких поведінкових проявів, як біг і їжа ($P < 0,05$), а грумінгу та сну зменшилась (див. таблицю).

Оптомінення мікрохвилями низької інтенсивності ТА Е-36 (IV група) зменшу-

Тривалість (с) поведінкових реакцій у мишей лінії C57Bl/6j та CBA/CaLac (M±m; n=10)

Реакція	Фізіологічний розчин		Формалін, імітація опромінення		Корвітин, формалін, імітація опромінення		Формалін, опромінення точки акупунктури E-36		Корвітин, формалін, опромінення точки акупунктури E-36	
	I група		II група		III група		IV група		V група	
	C57	CBA/CaLac	C57	CBA/CaLac	C57	CBA/CaLac	C57	CBA/CaLac	C57	CBA/CaLac
Біль	49,7±19,2	94,9±48,7	122,5±109,9*	68,7±109,9*	900,3±150,3	564,5±57,3	1123,4±124,7	592±84,4	699,4±93,9***	440,4±68,9***
Біг	468,8±98,9	628,7±181,7	380,8±57,8	267±117,6	295,1±75,6	434,2±81,6	358,8±48,4	251±42,8	299±95,2	420,8±67,3
Грумінг	603,7±89,8	590,8±89,9	38,9±17,2	36,7±12,8	69,8±25,2	16,5±7,8	39,7±11,5	42,9±17,5	78,5±25,4	17,5±9,9
Їда	331,5±94,6	382,3±146,1	5,8±4,6	1,8±1,8	5,7±5,5	25,7±16,4**	6±3,7	0	17,2±10,5	0
Сон	458,8±98,9	450,1±227,5	251,4±128,8	306,3±168,2	235,1±119,8	204,6±92	76,8±67	391,2±91,3	668,3±200,4***	421,2±282,9***

*P<0,05 порівняно з I групою; **P<0,05 порівняно з II групою; ***P<0,05 порівняно з III групою.

вало тривалість больової реакції вилузування кінцівки у мишей ліній C57Bl/6j і CBA/CaLac відносно контролю. У мишей лінії C57Bl/6j цей показник становив 1123,4 с ± 124,7 с, що на 8,3 % менше, а у мишей лінії CBA/CaLac – 592 с ± 84,4 с, що на 13,9% менше, ніж у мишей I групи. Небольові поведінкові прояви після опромінення ТА E-36 змінювалися неоднаково у мишей обох генотипів. Так, тривалість таких проявів, як біг зменшилась, а грумінг – збільшилась у мишей обох генотипів, час їжі збільшився у мишей лінії C57Bl/6j, а у мишей лінії CBA/CaLac зменшився, тривалість сну зменшилась у мишей лінії C57Bl/6j, але збільшилась у мишей лінії CBA/CaLac порівняно з контролем.

Опромінення ТА E-36 на тлі введеного корвітину (V група) достовірно зменшувало тривалість больової реакції у мишей ліній C57Bl/6j та CBA/CaLac. Остання у мишей лінії C57Bl/6j становила 699,4 с ± 93 с, що на 43 % (P< 0,05), а у мишей лінії CBA/CaLac 440,4 с ± 68,9 с, що на 33 % (P< 0,05; див. таблицю) менше, ніж у мишей II групи. Серед невольових поведінкових проявів достовірно збільшилась тривалість сну в обох генотипах мишей відносно значень у тварин II групи. У мишей лінії C57Bl/6j збільшився час реакції грумінг і їжа, зменшився – біг, у тварин лінії CBA/CaLac збільшилась тривалість бігу, зменшилась – грумінгу, а реакція «їжа» не виникала (див. таблицю).

Попередні наші дослідження показали, що корвітин у дозі 20 мг/кг не змінює поведінкові прояви у мишей генотипів C57Bl/6j і CBA/CaLac [10] порівняно з нормою. Анальгетичний ефект корвітину на соматичний біль, викликаний формаліновим тестом, був більш вираженим у мишей генотипу C57Bl/6j, ніж CBA/CaLac [10]. Вплив на ТА мікрохвиль низької інтенсивності викликав більший анальгетичний ефект на соматичний біль у мишей CBA/CaLac, ніж у мишей генотипу C57Bl/6j [2]. Але знеболювальна дія мікрохвиль

у тварин обох генотипів була невелика: 13,9 % у мишей лінії CBA/CaLac і 8,3 % – C57Bl/6j.

Отримані нами результати дії мікрохвиль на ТА Е-36 на тлі введеного корвітину при соматичному болю показали значний анальгетичний ефект у тварин обох генотипів (43 % у мишей лінії C57Bl/6j і 33 % – CBA/CaLac). Це вказує на підсилення анальгетичної дії при сумісному застосуванні корвітину та мікрохвиль низької інтенсивності. Але різний рівень анальгезії при сумісному використанні цих двох факторів у мишей ліній C57Bl/6j і CBA/CaLac залишається. Таку різницю можна пояснити частково генетичними особливостями, які визначають рівень чутливості організму до болю [23]. Миші лінії C57Bl/6j менш чутливі, а CBA/CaLac – більш чутливі до болю, викликаного електричним струмом [23, 24]. Але до болю, викликаного таким хімічним подразником як формалін, більш чутливими були миші лінії C57 [2, 9].

Анальгезія, викликана впливом на ТА мікрохвилями низької інтенсивності здійснюється за участю серотонінергічної і опіоїдної системи мозку [5–7, 17, 18]. Механізм анальгетичної дії корвітину не досліджений. Відомо, що існує значна різниця між показниками функціонування серотонінергічної системи мозку у мишей генотипів C57Bl/6j і CBA/CaLac. Вміст серотоніну в середньому мозку та гіпоталамусі нижчий у мишей лінії CBA/CaLac, ніж лінії C57Bl/6j, хоч активність триптофангідроксилази (ферменту, який бере участь у синтезі серотоніну) в структурах мозку вища у мишей лінії CBA/CaLac [1]. Для з'ясування різниці в анальгетичних ефектах, викликаних сумісною дією корвітину та мікрохвиль у мишей різних генотипів потрібні подальші експериментальні дослідження.

ВИСНОВКИ

1. Показано, що при сумісній дії корвітину та мікрохвиль низької інтенсивності на ТА

Е-36 досягається значний анальгетичний ефект у мишей генотипів C57Bl/6j (43 %) та CBA/CaLac (33 %) при соматичному болю, викликаному формаліновим тестом.

2. Рівень анальгезії при сумісному використанні корвітину і мікрохвиль на ТА Е-36 перевищує такий, що спостерігається при застосуванні цих двох факторів окремо.

Е.В. Гура, Е.В. Багацька, Ю.П. Лиманський

АНАЛЬГЕЗИЯ, ВЫЗВАННАЯ КОМПЛЕКСНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ОБЛУЧЕНИЯ ТОЧКИ АКУПУНКТУРЫ МИКРОВОЛНАМИ, ПРИ СОМАТИЧЕСКОЙ БОЛИ У МЫШЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ

Исследовали уровень анальгезии при облучении точки акупунктуры Е-36 микроволнами низкой интенсивности (30–300 ГГц, плотность потока мощности $3 \cdot 10^{-9}$ Вт/см²) на фоне введенного корвитина (20 мг/кг) у мышей двух генотипов C57Bl/6J Bl/6j и CBA/CaLac с соматической болью, вызванной формалиновым тестом. Показано, что действие этих двух факторов вызывает значительную анальгезию, которая, однако, отличается по уровню: 43 % у мышей генотипа C57Bl/6J Bl/6j и 33 % у мышей генотипа CBA/CaLac. Интенсивность анальгезии при действии микроволн и корвитина превышает уровень анальгезии, который возникает при отдельном использовании этих факторов.

Ключевые слова: точка акупунктуры, микроволны, корвитин.

E.V.Gura, E.V.Bagatskaya, Yu.P.Limansky

ANALGESIA EVOKED BY COMBINED EFFECT OF CORVITIN AND LOW-INTENSITY MICROWAVES AT MICE WITH DIFFERENT GENETIC STRAINS WITH SOMATIC PAIN

The level of analgesia has been investigated in mice of two genotypes C57Bl/6J Bl/6j and CBA/CaLac with the somatic pain caused by the formalin test after irradiation of acupuncture point E-36 by microwaves of low intensity (30-300 GHz, density of a stream of capacity of $3 \cdot 10^{-9}$ Вт/см²) on a background entered corvitin (20 mg / kg). It is shown, that the action of these two factors causes significant analgesia with different levels: 43 % in C57Bl/6J Bl/6j mice and 33 % in CBA/CaLac mice. The intensity of analgesia after action of microwaves and corvitin exceeds the level attained during separate use of these factors.

Key word: acupuncture point, microwaves, corvitin.

O.O.Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Августиневич Д.Ф., Липина Г.В., Алексеенко О.В., Амстиславская Т.Г., Кудрявцева Н.Н. Особенности функциональной активности серотонинергической системы мозга в проявлении естественной и патологической тревожности у мышей: влияние генотипа// Журн. высш. нерв. деятельности. – 1998. – **48**, №2. – С.331–341.
2. Багацька О.В., Гура О.В. Дослідження анальгезії, викликані впливом на точку акупунктури мікрохвиль низької інтенсивності, у мишей різних генотипів// Фізіол. журн. – 2004. – **50**. – №2. – С.80–85.
3. Багацкая Е.В., Гура Е.В. Анальгезия, вызванная микроволновым облучением точки акупунктуры при висцеральной боли у мышей: роль серотонинергической системы головного мозга// Нейрофизиология/ Neurophysiology. – 2005. – **37**, №3. – С. 250–257.
4. Багацкая Е.В., Гура Е.В., Лиманский Ю.П. Анальгезия, вызванная микроволновым облучением точки акупунктуры при висцеральной боли у мышей: роль опиоидной системы головного мозга// Там же. – 2008. – **40**, №5/6. – С. 426–437.
5. Гура Е.В., Багацкая Е.В., Лиманский Ю.П. Участие серотонинергической системы в анальгезии, вызванной действием низкоинтенсивных микроволн на противоболевую точку акупунктуры// Там же. – 2002. – **34**, №4. – С.303–308.
6. Гура Е.В., Багацкая Е.В., Лиманский Ю.П. Участие серотонинергической системы в обеспечении анальгезии, вызванной микроволновым облучением акупунктурной точки// Арх. клин. и эксперим. медицины. – 2001. – **10**, №2. – С.145.
7. Гура О.В., Багацька О.В. Участь серотонінергічної системи мозку у больових реакціях, викликаних введенням формаліну у мишей// Фізіол. журн. – 2002. – **48**, №2. – С.22.
8. Гончар О.М., Гура О.В. Фармакологічне та індуковане мікрохвильовим опроміненням пригнічення соматичного болю в умовах формалінового тесту у мишей// Нейрофизиология/ Neurophysiology. – 2006. – **38**, №1. – С. 46–51.
9. Лиманський Ю.П., Багацька О.В., Гура О.В., Несін О.М., Сушко Б.С., Тамарова З.А. Вплив корвітину на соматичний біль у мишей різних генотипів// Фізіол. журн. – 2008. – **54**, №4. – С.37–43.
10. Лиманський Ю.П., Тамарова З.А., Бідков Є.Г., Колбун М.Д. Пригнічення ноцицептивних реакцій у мишей під впливом низкоінтенсивного мікрохвильового опромінення точок акупунктури// Нейрофизиология/ Neurophysiology. – 1998. – **31**. – №4. – С. 318.
11. Мойбенко А.А., Досенко В.Е., Пархоменко А.Н. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца. – К.: Наук. думка, 2008. – 520 с.
12. Несин Е.Н., Гура Е.В. Анальгезия, индуцированная комбинированным применением трамадола и микроволнового облучения при соматической боли у мышей// Нейрофизиология/ Neurophysiology. – 2006. – **38**, №4. – С.314–320.
13. Несін О.М., Гура О.В., Колбун М.Д. Комбіноване застосування фармакологічних анальгетиків та мікрохвильового опромінення точки акупунктури для пригнічення висцерального болю у мишей: роль опіоїдної та серотонінергічної систем мозку// Там само. – 2007. – **39**, №6. – С. 470–478.
14. Чуян Е.Н., Джелдубаева Э.Р. Механизмы антиноцицептивного действия низкоинтенсивного миллиметрового излучения. – Симферополь: ДИАЙПИ, 2006. – 440 с.
15. Anjaeyulu M., Chopra K. Quercetin, a biophlavanoid, attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain// Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiat. – 2003 – **27**. – P.1001–1005.
16. Bagatskaya E.V. Involvement of the serotonergic cerebral system in microwave-induced analgesia in mice of different genotypes// Нейрофизиология / Neurophysiology. – 2006. – **38**, №5/6. – P.424–426.
17. Bagatskaya E.V., Gura E.V., Limansky Yu.P. Connection between analgesia caused by microwave irradiation of acupuncture point and brain serotonergic system. – In: Abstract of Communications 10th World Congress of Pain – San Diego, August 17–19. – 2002. – P.263.
18. Bagatskaya E.V., Gura E.V., Limansky Yu.P., Kolbun N.D. Participation of serotonergic system in analgesia evoked by action of the low-intensive microwaves on acupuncture point. – In: Abstract of European Conference of Pain. Poland. – Warshawa, 2001. – P.151.
19. Dubuisson D., Dennis S.G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cat/ / Pain. – 1977. – **4** – P.161–174.
20. Gadotti V.M., Schmelting L.O., Machado C, Liz F.H., Filho V.C., Meyere-Silva C., Santos A.R. Antinociceptive action of the extract and the flavonoid quercetin isolated from Bauhinia microstachya leavels // J. Pharm. Pharmacol. – 2005. – **57** – P.1345–1351.
21. Haskaar S., Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain // Pain. – 1987. – **30**. – P.103–104.
22. Kaur R., Singh D., Chopra K. Partisipation of alpha 2 receptors in the antinociceptive activity of quercetin / / J. Med. Food. – 2005. – **8**. – P.529–532.
23. Mogil J.S., Rest B., Sadowski D., Belknap J.K. Differential genetic mediation of sensitivity to morphine in genetic models of opiate antinociception: influence of nociceptive assay // J. Pharmacol. Exp. Therap. – 1996. – **27**. – P.532–544.
24. Mogil J.S., Richards S.P., OToole L.A., Helms M.L., Mitchell S.R., Belknap J.K. Genetic sensitivity to hot-plate nociception in DBA/2J and C57BL/6J BL/6J inbred mouse strains: Possible sex-specific mediation by

- delta2-opioid receptors // Pain. – 1997. – **70**. – P.267–277.
25. Usichenko T.I., Ivashkivsky O.I., Gzhko V.V. Treatment of rheumatoid arthritis with electromagnetic millimeter waves applied to acupuncture points – a randomized double blind clinical study// Acupunct. Electrother. Res. – 2003. – **28**, № 1–2. – P.11–18.
26. Usichenko T.I., Herget H.F. Treatment of chronic pain with millimetre wave therapy (MWT) in patients with diffuse connective tissue diseases: a pilot case series study// Eur. J. Pain. – 2003. – **7**, № 3. – P.289–294.

Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ
E-mail: egura@biph.kiev.ua

Матеріал надійшов до редакції 22.01.2010