

Ю.П.Лиманський, О.В.Багацька, О.В.Гура, О.М.Несін,  
Б.С. Сушко, З.А.Тамарова

## Вплив корвітину на соматичний біль 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, а также уровень анальгезии, вызванной внутрибрюшинно введенным раствором корвитина (20 мг/кг) у мышей линии C57Bl/6J (C57), CBA/CaLac (CBA) и белых лабораторных мышей. Показано, что введение корвитина вызывало различный уровень анальгезии у исследованных животных: самый высокий (38,5 %,  $P<0,01$ ) был у белых лабораторных мышей по сравнению с мышами линии C57 и CBA, анальгезия у которых составляла 27% ( $P<0,05$ ) и 13 % соответственно.*

### 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 [14]. Такі індивідуальні особливості призводять до виникнення різного рівня анальгезії після введення анальгетиків [6, 11, 15]. Однак можливий внесок генетичних факторів у цей процес залишається неясним. Для таких досліджень використовують тварин одного генотипу, в основному лабораторних гризунів, оскільки серед них існує велика кількість генотипів.

Показано, що миші різних генотипів мали різну чутливість до такого анальгетика, як анальгін [3], а також неоднаковий рівень анальгезії після впливу на точку акупунктури мікрохвиль низької інтенсивності [2].

Метою нашої роботи було дослідження впливу корвітину на соматичний біль у мишей різних генотипів. Препарат корвітин є розчинним у воді комплексом кверцети-

ну (50 %) з полівінілпіролідом (50 %).

Кверцетин (біофлавоноїд – рослинний поліфенол) – ефективний антиоксидант, може викликати суттєвий антиноцицептивний ефект на біль, спричинений термічним і хімічним подразненнями [8, 10], а також на вісцеральний [8] і “діабетичний” нейропатичний біль [5].

### МЕТОДИКА

Досліди проведено на 150 дорослих мишах-самцях магою 22–30 г. Умови утримання для всіх тварин (температурний режим, освітленість, вільний доступ до їжі та води) були ідентичні. В експериментах використано 100 мишей з порушеним генотипом: лінії C57Bl/6J (C57) (n=50), CBA/CaLac (CBA) (n=50) і 50 білих безпородних мишей (без специфічних порушень генотипу).

Три доби тварин тримали в окремих клітках у віварії, а за добу до досліджень переносили їх в експериментальну кімнату для звикання. Експерименти проводили в один і той самий час 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 широко використовується для випробування анальгетичної дії фармакологічних препаратів. Як відомо [7, 9], така реакція має дві фази: рання – реєструється від 0 до 5–10 хв, пізня – продовжується 60 хв і більше (з максимумом через 20–30 хв після ін'єкції формаліну).

Корвітин (виробництва Борщагівського фармацевтичного заводу, м.Київ, Україна) вводили внутрішньоочеревинно по 20 мг/кг за 20 хв до ін'єкції формаліну. Тривалість больової поведінкової реакції – вилізування ін'єкційної кінцівки, а також таких невольових поведінкових проявів, як їда, біг, сон, грумінг реєстрували протягом 60 хв після ін'єкції формаліну.

Популяції дослідних тварин (білі миші, миші генетичних ліній C57 і CBA) було поділено на п'ять груп, в кожну з яких входило по 10 тварин. До I групи входили миші, у яких досліджували поведінкові прояви в нормі (контроль); до II – миші, яким вводили розчин корвітину; до III – миші, яким вводили 0,9%-й розчин NaCl в об'ємі, що відповідає такому введеному корвітину; до IV – миші, яким вводили 0,9%-й розчин NaCl, а через 20 хв робили ін'єкцію формаліну в задню кінцівку; до V – миші, яким вводили розчин корвітину, а через 20 хв робили ін'єкцію формаліну в задню кінцівку.

Больові та невольові поведінкові прояви досліджували за допомогою комп'ютерної програми Lady Pain (розроблена у відділі фізіології стовбура мозку), яка дала змогу підраховувати тривалість різних поведінкових епізодів за кожні послідовні 10 хв, а також за весь період спостереження (60 хв).

Результати обробляли статистично з розрахунком середніх групових значень тривалості кожного поведінкового прояву. Розбіжності середніх значень між певними групами оцінювали за допомогою критерію t Стьюдента і вважали достовірними при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ

Експерименти на мишах генотипу C57. Введення розчину корвітину (II група) не викликало помітних змін тривалості поведінкових проявів у мишей порівняно з нормою (I група) та після введення 0,9%-го розчину NaCl (III група) (таблиця). Це вказує на те, що корвітин не впливає на поведінку тварин у нормі.

Підшкірна ін'єкція розчину формаліну в задню кінцівку мишей (IV група) створювала осередок болю. Це зумовлювало виникнення больової поведінкової реакції, яка тривала  $1312,8 \text{ с} \pm 104,8 \text{ с}$ .

Введення розчину корвітину до ін'єкції розчину формаліну призводило до достовірного ( $P < 0,05$ ) зменшення тривалості больової реакції на 27 % ( $961,6 \text{ с} \pm 90 \text{ с}$ ) порівняно зі значеннями у тварин, яким замість корвітину було введено розчин NaCl ( $1312,8 \text{ с} \pm 104,8 \text{ с}$ ) (див. таблицю; рис. 1,а). Динаміка тривалості больової реакції у мишей без введення корвітину та після його введення показана на рис. 1,б. Зменшення больової реакції у тварин починалося з перших хвилин спостереження (рання фаза) і тривало до 50-ї хвилини (пізня фаза). Такі зміни больової поведінкової реакції у мишей після введення корвітину можуть бути підставою для твердження, що цей препарат у дозі 20 мг/кг викликав анальгезію у мишей генотипу C57.

Тривалість таких невольових поведінкових проявів, як біг і сон, збільшувалась, а таких, як їда та грумінг – зменшувалися після введення корвітину порівняно зі значеннями у мишей, яким робили ін'єкцію розчину формаліну без введення корвітину. Зміна цих поведінкових проявів була незначною і недостовірною (див. рис. 1,а, таблицю).

Експерименти на мишах генотипу CBA. Введення розчину корвітину або 9%-го розчину NaCl призводило до зменшення часу рухової активності (біг), споживання їжі та скорочення тривалості сну порівняно

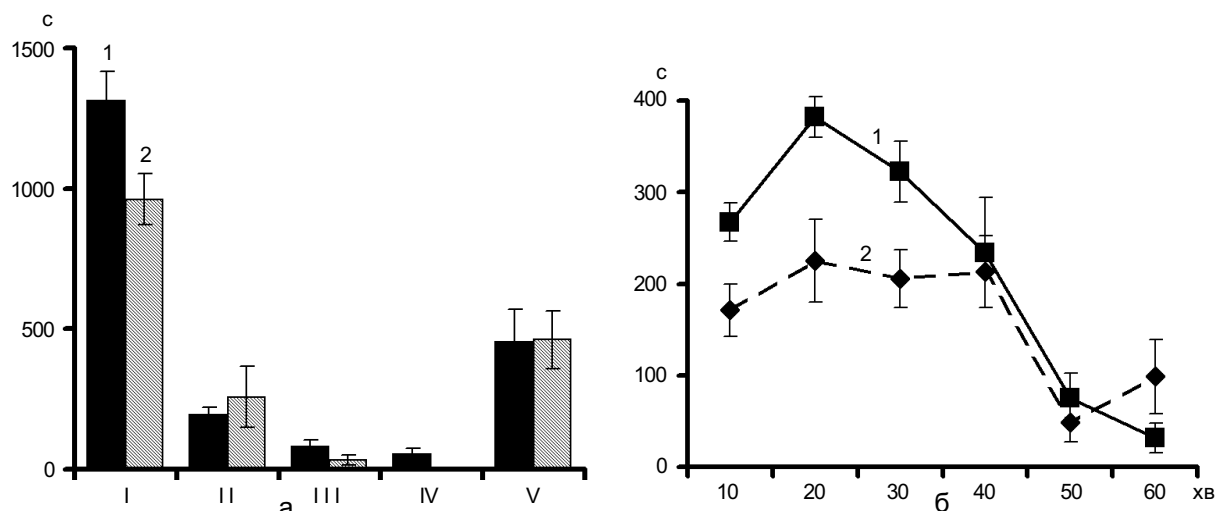


Рис. 1. Зміна тривалості поведінкових проявів у мишей лінії C57BL/6J після введення кортистину при соматичному болю (формаліновий тест): а – тривалість больової реакції (I), бігу (II), грумінгу (III), їжі (IV) і сну (V) у мишей без введення кортистину (1) та після його введення (2); б – динаміка тривалості больової реакції вилузування ін'єксованої кінцівки протягом 60 хв спостереження у мишей без введення кортистину (1) та після його введення (2)

з тривалістю цих поведінкових проявів у тварин у нормі (див. таблицю). Але суттєвих розбіжностей між тривалістю

поведінкових проявів у тварин після введення розчину кортистину не виявлено. Такі результати показують, що миші лінії

Тривалість (с) поведінкових реакцій у мишей різних генетичних груп (M±m)

Поведінкові показники	I група (норма)	II група (кортистин)	III група (NaCL)	IV група (NaCL, формалін у кінцівку)	V група (кортистин, формалін у кінцівку)
Миші генотипу C57BL/6J					
Вилузування кінцівки	58,3±34,3	94±38,9	78,3±28,9	1312,8±104,8	961,6±90*
Біг	312±68,6	330,7±82,1	334±113,1	193,1±27,8	257,8±107,6
Грумінг	568,9±125,6	687,1±115,6	996,6±138,1	80±22,9	32,3±18,8
Їжа	703,8±135,8	172,7±41,6	99±50,0	54,6±19,3	0,3±0,3
Сон	1011,3±148,9	1048,2±187,3	1211,0 ±117	452,4±116,5	460,8±102,6
Миші генотипу CBA/CaLac					
Вилузування кінцівки	0±0	6,7±4,6	1,7±0,7	718,4±67	627,6±51,2
Біг	994,3±154,9	511,7±159,7	685,9±48,2	168,5±48,2	168,2±36,6
Грумінг	431,6±50,8	570,2±99,2	468,3±59,2	184,0±34,8	196,8±40,8
Їжа	942,5±132,7	143,2±113,7	29,1±29,1	23,2±20,8	11,7±10,9
Сон	552,9±161,8	1511,8±142,1	1013,4±215,6	525,5±119,0	362,1±58,9
Білі беспородні миші					
Вилузування кінцівки	2,6±1,4	15,5±7,4	13,9±8,1	510,8±46,5	314±37,2*
Біг	89,6±26	56±21,2	95,7±40	80,1±18,8	37,7±12
Грумінг	422,2±75,2	440,6±107	372,6±79,5	100,8±21,4	79,3±12
Їжа	326,3±75,4	220±59,1	330,2±108,8	2,8±1,8	0,3±0,3
Сон	869,3±191,2	1169±162,9	991,4±268,3	232±68,1	204,3±33

\* достовірна різниця порівняно з IV групою (P<0,05), \*\* достовірна різниця порівняно з IV групою (P<0,01).

СВА чутливі до ін'єкції, але сам корвітин не викликав змін їх поведінки.

Введення розчину формаліну мишам лінії СВА (IV і V групи) призводило до зменшення рухової активності (грумінг, біг), але збільшувало тривалість вилузування ін'єксованої кінцівки (больова реакція), яка становила 70 % від часу загальної рухової активності (див. таблицю). Тривалість больової реакції у мишей після введення розчину корвітину ( $628 \text{ с} \pm 51 \text{ с}$ ) була на 13 % менша від такої у тварин без введення корвітину ( $718 \text{ с} \pm 67 \text{ с}$ ), але ця різниця статистично недостовірна. Тенденція до зниження тривалості больової реакції на формаліновий тест після введення розчину корвітину спостерігалася у пізню фазу (тонічний біль) (рис. 2,б). Різниця тривалості інших поведінкових проявів у тварин після введенням розчину корвітину та 0,9%-го розчину NaCl були статистично не значущі (див. рис. 2,а). Отримані результати дають підставу стверджувати, що корвітин суттєво не змінює тривалість больової реакції у мишей лінії СВА.

Експерименти на білих безпородних мишах. Порівняння тривалості поведінкових проявів у мишей після введення

розчину корвітину (II група) і 0,9%-го розчину NaCl не виявило достовірної різниці порівняно з тривалістю їх у мишей у нормі (див. таблицю). Це вказує на те, що корвітин не впливає на поведінку тварин у нормі.

Введення розчину формаліну в кінцівку викликало больову реакцію, яка тривала  $510 \text{ с} \pm 46,5 \text{ с}$  (IV група). Введення розчину корвітину за 20 хв до ін'єкції формаліну (V група) достовірно ( $P < 0,01$ ) зменшувало тривалість больової реакції на 38,5 % ( $314 \text{ с} \pm 37,2 \text{ с}$ ) (рис. 3,а). Тривалість інших поведінкових проявів у цих групах суттєво не відрізнялась (див. рис. 3,а, таблицю). Зменшення тривалості больової реакції починалось у ранню фазу і спостерігалось протягом пізньої фази болю, викликаного ін'єкцією формаліну (див. рис. 3,б).

## ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати показали, що корвітин не впливає на поведінкові прояви в нормі у мишей лінії С57, СВА і білих безпородних мишей, але послаблює больову реакцію тварин, викликану ін'єкцією формаліну в стопу кінцівки. Найбільший анальгетичний

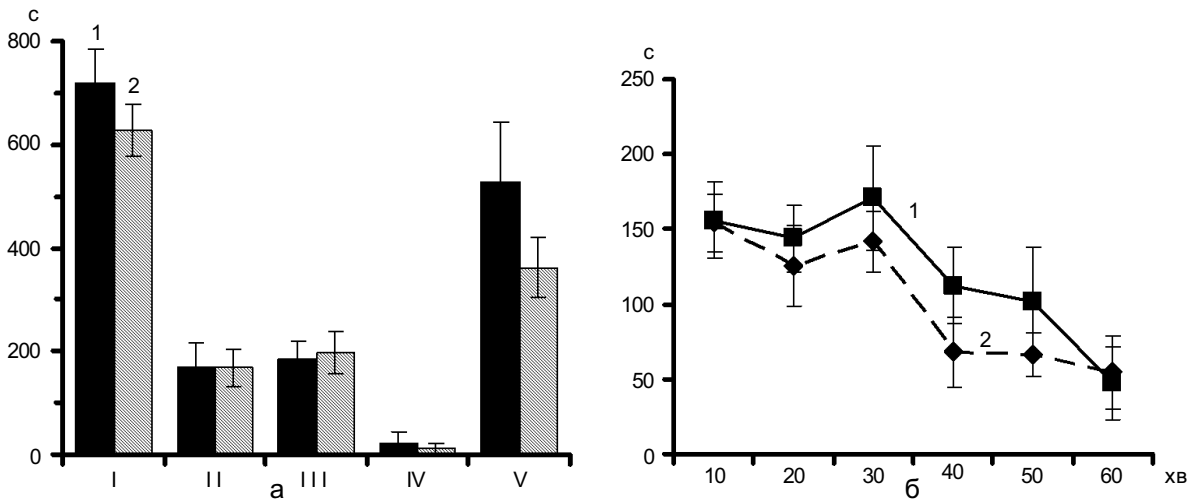


Рис. 2. Зміна тривалості поведінкових проявів у мишей лінії СВА/СaLac після введення корвітину при соматичному болю (формаліновий тест): а – тривалість больової реакції (I), бігу (II), грумінгу (III), їжі (IV) і сну (V) у мишей без введення корвітину (1) та після його введення (2); б – динаміка тривалості больової реакції вилузування ін'єксованої кінцівки протягом 60 хв спостереження у мишей без введення корвітину (1) та після його введення (2)

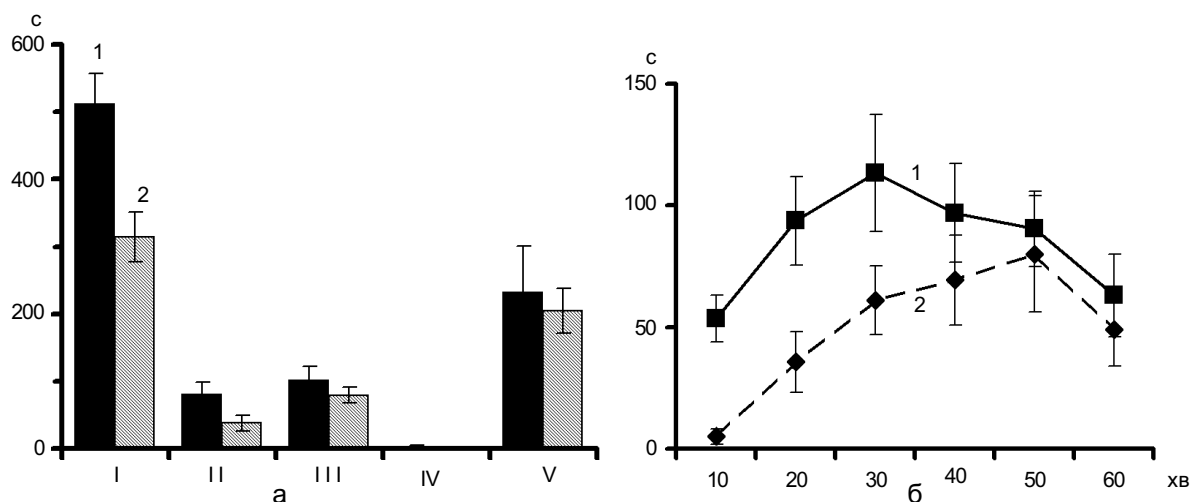


Рис. 3. Зміна тривалості поведінкових проявів у білих мишей після введення корвітину при соматичному болю (формаліновий тест): а – тривалість больової реакції (I), бігу (II), грумінгу (III), їжі (IV) і сну (V) у мишей без введення корвітину (1) та після його введення (2); б – динаміка тривалості больової реакції вилизування ін'єксованої кінцівки протягом 60 хв спостереження у мишей без введення корвітину (1) та після його введення (2)

ефект після введення корвітину спостерігався у білих безпородних мишей (38,5%), середній – у мишей лінії C57 (27%), а найменший – у мишей лінії СВА (13 %) (рис. 4). Більш ранні дослідження показали, що білі безпородні миші мали найбільшу анальгезію, викликану впливом мікрохвиль на точку акупунктури [2], а також виклика-

ну введенням анальгіну [3], порівняно з мишами лінії C57 і СВА. В основі такої різниці, можливо, лежать генетичні особливості, які визначають рівень чутливості до різних больових субмодальностей. Вважається, що миші лінії C57 мають найменшу чутливість до болю [12, 13]. Миші лінії СВА менш рухливі, але мають більшу чутливість

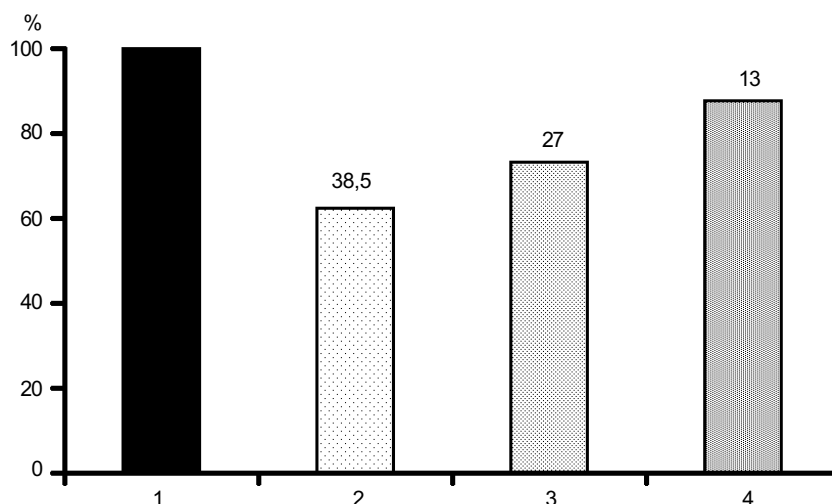


Рис. 4. Тривалість больової реакції у мишей різного генотипу до (1) і після (2–4) ін'єкції корвітину: 2 – білі; 3 – C57Bl/6J; 4 – СВА/СаLac. Цифри над стовпчиками – тривалість больової реакції у відсотках щодо контролю (1). За 100 % взята тривалість больової реакції у мишей відповідного генотипу після ін'єкції 0,9%-го розчину NaCl (внутрішньоочеревинно) і розчину формаліну в дорсальну поверхню стопи задньої кінцівки

до болю після прикладання електричного струму [4]. Відомо, що серотонінергічна система відіграє основну роль в анальгезії, викликаній хімічними препаратами, акупунктурою та впливом мікрохвиль на точку акупунктури. Миші генотипів C57 і CBA відрізняються за активністю синтезу серотоніну, його метаболізму та вмісту в структурах середнього мозку, які дають початок протибольовій серотонінергічній системі. Вміст серотоніну в структурах середнього мозку вищий у мишей лінії C57, ніж у мишей лінії CBA [1]. З цим, можливо, і пов'язаний вищий рівень анальгезії, викликаній введенням корвітину, у мишей лінії C57, ніж у мишей лінії CBA. Така залежність між вищим рівнем анальгезії після введення корвітину у мишей лінії C57 і вищим вмістом серотоніну в структурах середнього мозку може вказувати на те, що корвітин викликає анальгезію не виключенням периферичних больових рецепторів, а включенням центральних протибольових систем мозку.

## ВИСНОВКИ

1. Показано, що внутрішньоочеревинно введений розчин корвітину (20 мкг/кг) викликає зменшення тривалості больової реакції на формаліновий тест.

2. Найбільший рівень анальгезії мали білі безпородні миші (38,5 %), середній рівень (27%) лінії C57 і найменший (13 %) миші лінії CBA.

**Y.P. Limansky, E.V. Bagatskaja, E.V. Gura,  
E.N. Nesin, B.S. Sushko, Z.A. Tamarova**

## INFLUENCE OF QUERCETIN ON SOMATIC PAIN IN DIFFERENT GENETIC STRAINS OF MICE

The influence of the intraperitoneal injection of quercetin solution (10 mg / kg) on painful reaction to the formalin test in male mice C57Bl/6J (C57), CBA/Calac (CBA) and in outbred albino mice was investigated. It was shown, that quercetin caused a various level of analgesia in the investigated animals. The highest level of analgesia (38,5 %) was observed in outbred

white mice, the average - in mice C57 (27 %) and the lowest - in mice CBA (13 %).

*Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Августиневич Д.Р., Липина Г.В., Алексеенко и др. Особенности функциональной активности серотонинергической системы мозга в проявлении естественной и патологической тревожности у мышей: влияние генотипа // Журн.высш.нerv.деятельности. – 1998. – 48. – С.331–341.
2. Багацька О.В., Гура О.В. Дослідження анальгезії, викликаній впливом на точку акупунктури мікрохвиль низької інтенсивності, у мишей різних генотипів // Фізіол. журн. – 2004. – 50. – С.80–85.
3. Лиманський Ю.П., Тамарова З.А., Лиманська Л.І. та ін. Чутливість до тонічного болю і анальгін у двох ліній мишей з порушеним генотипом // Там само. – 2004. – 50. – С.57–63.
4. Сушко Б.С. Особливості больової реакції та чутливості тварин різних генетичних груп // Там само. – 2004. – 50. – С.75–79.
5. Anjaeyulu M., Chopra K. Quercetin, a biophlavonoid, attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiat. – 2003. – 27. – P.1001–1005.
6. Chapman C.R., Hill M.F., Saeger Z. et al. Profiles of opioid analgesia in humans after intravenous bolus administration: alfentanil, fentanyl and morphine compared on experimental pain // Pain. – 1981. – 10. – P.273–286.
7. Dubuisson D., Dennis S.G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, mep- eridine and brain stem stimulation in rats and cats // Pain. – 1977. – 4. – P.161–174.
8. Gadotti V.M., Schmelting L.O., Machado C. et al. Antinociceptive action of the extract and the flavonoid quercetin isolated from Bauhinia microstachya leaves / / J. Pharm. Pharmacol. – 2005. – 57. – P.1345–1351.
9. Hanskaar S., Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain // Pain. – 1987. – 30. – P.103–104.
10. Kaur R., Singh D., Chopra K. Participation of alpha 2 receptors in the antinociceptive activity of quercetin // J. Med. Food. – 2005. – 8. – P.529–532.
11. Levin J.D., Gordon N.C., Smith R. et al. Analgetic responses to morphine and placebo in individuals with postoperative pain // Pain. – 1981. – 10. – P.379–389.
12. 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. Ther. – 1996. – 27. – P.532–544.
13. Mogil J.S., Richards S.P., O'Toole L.A. et al. Genetic

- sensitivity to hot-plate nociception in DBA/2J and C57BL/6J inbred mouse strains: Possible sex-specific mediation by delta2-opioid receptors // Pain. – 1997. – 70. – P.267–277.
14. Mogil J.S., Wilson S.G., Bon K. et al. Heritability of nociception I: responses of 11 inbred mouse strains on 12 measures of nociception // Pain. – 1999. – 80. – P.67–82.
15. Portenoy R.K., Foley K.M., Inturrisi C.E. The nature of opioide responsiveness and its implications for neuropathic pain: new hypotheses derives from studies of opioide infusions // Pain. – 1990. – 43. – P.273–286.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ*  
*Egura@biph.kiev.ua*

*Матеріал надійшов до редакції 10.01.2008*