

УДК 616.832-004-08:615.212/.214-092.9

А.А. Нефедов, В.И. Мамчур

ОЦЕНКА АНТИНОЦИЦЕПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА АНТИДЕПРЕССАНТОВ В ТЕРАПИИ НЕВРОПАТИЧЕСКОЙ БОЛИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТОМ

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

Резюме. В работе представлен сравнительный фармакологический анализ влияния ряда антидепрессантов на проявления невропатического болевого синдрома в условиях экспериментального эквивалента рассеянного склероза. Показана способность amitriptilina и trazodona (triptiko), но не paroksetina или fluoksetina

ослаблять индуцированные экспериментальным аллергическим энцефаломиелитом (ЭАЭ) нейрональную сенситизацию, аллодинию и гипералгезию,

Ключевые слова: ЭАЭ, антидепрессанты, невропатическая боль.

Введение. Одним из малоизученных клинических разделов рассеянного склероза (РС) является проблема болевого синдрома, расцениваемого чаще всего как нетипичные проявления демиелинизирующего процесса при РС [11]. В ранних работах по рассеянному склерозу этой проблеме не уделялось достаточного внимания, хотя у части пациентов описывали боль, как сопутствующий симптом [3, 15]. Однако публикации последних лет показывают, что боль является частым и практически постоянным симптомом заболевания. По данным разных авторов, в настоящее время частота хронических болевых синдромов у пациентов с РС достигает 50-80 % [18, 23, 26]. При этом больные РС при наличии хронической боли более инвалидизированы и социально дезадаптированы, чем пациенты с аналогичным неврологическим дефектом, но без болевого синдрома [4, 8, 26].

Самую многочисленную группу при рассеянном склерозе составляют боли невропатического характера. Их развитие обусловлено очагами демиелинизации в нервной системе, что приводит к изменениям функционирования ионных каналов в поврежденных аксонах, к формированию эктопических очагов генерации нервных импульсов. Невропатические боли при рассеянном склерозе могут проявляться жжением, дизестезиями, покалыванием или ощущением боли в ответ на неболевой стимул [4].

Наиболее часто при рассеянном склерозе встречаются дизестезии. Дизестезические боли обычно наблюдаются у пациентов с преимущественным вовлечением малых С-волокон (вызывающие поражение поверхностной болевой и температурной чувствительности и вегетативную дисфункцию). Несколько реже, при туннельных невропатиях, встречается туннельная боль, обусловленная, по-видимому, дисфункцией Аδ-волокон [6].

Для терапии невропатического болевого синдрома при рассеянном склерозе применяют amitriptilin, lamotridzhin, karbamazepin, gabapentin, topiramat, хотя широкомасштабных доказательных исследований эффективности этих препаратов не проводили [7, 16, 21].

Учитывая изложенное выше, нам представлялось целесообразным проведение сравнительного фармакологического анализа влияния amitriptilina, fluoksetina, paroksetina и trazodona (triptiko) в терапии невропатического болевого синдрома в условиях экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ) – экспериментального эквивалента РС [1].

Цель исследования. Изучение влияния антидепрессантов на проявления невропатического болевого синдрома в условиях экспериментального аллергического энцефаломиелита на фоне базовой терапии солун-медролом.

Материал и методы. До начала выполнения работ комиссией по вопросам биоэтики утвержден протокол предстоящих исследований. Согласно требованиям GLP и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других целей, согласованы все процедуры, связанные с содержанием животных, гуманным обращением с ними и их использованием в эксперименте.

Животных содержали в стандартных условиях со световым режимом день – ночь 12 час/12 час при температуре воздуха 20-22⁰ С со свободным доступом к воде и пище. ЭАЭ индуцировали однократной подкожной инокуляцией энцефалитогенной смеси (ЭГС) в полном адьюванте Фрейнда (ПАФ) из расчета 100 мг гомогената гомологичного спинного мозга; 0,2 мл ПАФ (содержание убитых микобактерий 5 мг/мл) и 0,2 мл физиологического раствора на животное. ЭГС вводили в основание хвоста под легким эфирным наркозом в объеме 0,4 мл [1].

Иммунизированные животные были разделены на пять групп: I – животные с ЭАЭ (контроль), n=12; II – ЭАЭ + солун-медрол (СМ) + amitriptilin (10 мг/кг), n=6; III – ЭАЭ + СМ + paroksetin (8 мг/кг), n=6; IV – ЭАЭ + СМ + fluoksetin (25 мг/кг), n=6; V – ЭАЭ + СМ + triptiko (40 мг/кг), n=6.

Солун-медрол вводили животным II-V групп согласно клиническому алгоритму применения препарата [20] из расчета 3,4 мг/кг в вену капельно в объеме физиологического раствора, состав-

ляющего 1/10 ОЦК [13] в течение недели. Дополнительно, на фоне базовой гормональной терапии, этим грызунам внутривентрикулярно один раз в сутки вводили исследуемые вещества в указанных дозах со второго по 16-й день после индукции ЭАЭ (латентная фаза + клиническая фаза до окончания пика заболевания). Группой контроля выступали животные с индуцированным ЭАЭ (I группа), в течение 16 дней внутривентрикулярно получавшие дистиллированную воду.

Критериями развития невропатического болевого синдрома в условиях ЭАЭ были изменения порогов тактильной и болевой чувствительности в тесте тактильной аллодинии, в формалиновом тесте, а также в тесте «горячая пластина».

Тактильную аллодинию у животных изучали в модификации филаментного теста von Frey путем регистрации давления, при котором животные отдергивали левую заднюю лапу, избегая воздействия нарастающих по степени стимулов. Пробу проводили в середине подошвы левой задней лапы, избегая менее чувствительных подушечек на подошвах. К лапе подносили набор из восьми волосков von Frey с логарифмически увеличивающейся жесткостью (0,41, 0,69, 1,20, 2,04, 3,63, 5,50, 8,51 и 15,14 г). Волосок фон Фрея прикладывали перпендикулярно к среднеподошвенной поверхности в зоне распределения ветвей седалищного нерва [25].

Оценку влияния препаратов на проявления химической гипералгезии проводили с использованием формалинового теста. Животных всех групп приучали к камере наблюдения в течение 1 часа перед получением подкожной инъекции 0,05 мл 0,5 % раствора формалина (Acros organics, США) в тыльную поверхность стопы правой задней конечности. Раствор формалина применяли через 30 минут после окончания курса введения тест-образцов. Наблюдение осуществляли в течение 60 минут после инъекции формалина путем регистрации числа вздрагиваний животного [24].

Изучение действия антидепрессантов на проявления термической гипералгезии проводили с использованием теста «горячая пластина». При использовании данного теста животных поочередно помещали на пластину, нагретую до 57-58⁰С; температуру поверхности пластины регулировали термостатом. По секундомеру засекали время от момента помещения животного на пластину до момента первого облизывания лап (задних), что и составляло латентный период реакции облизывания лапок (ЛП РОЛ). Максимальное время нахождения животного на пластине – 25 секунд [22].

Числовые экспериментальные данные обрабатывали методом вариационной статистики с помощью программы статистического анализа AnalystSoft, StatPlus. Версия 2006 [10]. Математическая обработка полученных данных включала в себя расчет средних арифметических значений (M), их ошибок ($\pm m$). Для количественных показателей проводилась проверка гипотезы нормаль-

ного распределения данных в группах посредством критерия Шапиро-Уилка. Уровень значимости для данного критерия был равным 0,01. В условиях нормального распределения рядов опытные группы сравнивали с контрольной и между собой посредством однофакторного дисперсионного анализа ANOVA и критерия Дункана. В условиях ненормального распределения рядов достоверность различий средних арифметических (\bar{x}) определялась с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Уровень значимости для данного критерия был равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение.

Показано, что подкожная инокуляция энцефалитогенной смеси вызывала развитие нейрональной сенситизации, аллодинии и гипералгезии (рис.).

В частности, у животных экспериментальных групп после индукции ЭАЭ регистрировалось статистически значимое снижение порога тактильной чувствительности в 2,3 раза ($p < 0,001$) по отношению к интактному контролю. При этом инъекция 0,5 % раствора формалина в тыльную поверхность стопы крыс приводила к статистически значимому увеличению общего количества вздрагиваний в 9,5 раза ($p < 0,001$) по отношению к группе интактных животных. К тому же, в тесте «горячая пластина» у крыс с ЭАЭ-индуцированной невропатией латентный период реакции избавления статистически значимо снижался в 1,7 раза ($p < 0,05$) по отношению к группе интактного контроля (рис.).

Результаты оценки изменений аллодинии и гипералгезии после курсового применения антидепрессантов в условиях ЭАЭ-индуцированной невропатии представлены в таблице.

Установлено, что при проведении точечной механической стимуляции задней конечности после курсового введения антидепрессантов статистически значимое повышение порога аллодинии по отношению к показателям активного контроля регистрировалось только у животных II и V экспериментальных групп. В частности, способность уменьшать выраженность тактильной аллодинии убывала в ряду amitriptilin (60 %, $p < 0,05$) > тритико (40 %, $p < 0,05$) >> флуоксетин (18 %, $p > 0,05$) \approx пароксетин (14 %, $p > 0,05$) (табл.).

По мнению Барина Н.А. (2007), механизмы, связанные с нарушением процессов торможения на уровне заднего рога, участвуют в развитии стимулзависимых болей, возникающих в ответ на раздражение сенсibilизированных в результате повреждения периферических ноцицепторов [5]. Вследствие увеличения возбудимости чувствительных нейронов задних рогов спинного мозга, связанных с зоной иннервации поврежденного нерва, происходит сенсibilизация близлежащих интактных нейронов с расширением рецептивной зоны [9]. Сенсibilизация нейронов задних рогов ведет к снижению болевого порога и развитию аллодинии, то есть появлению болевых



Рис. Характеристика проявлений невропатического болевого синдрома в условиях экспериментального эквивалента рассеянного склероза у крыс

Примечание. * – $p < 0,001$; ** – $p < 0,05$ по отношению к показателям контроля; ЭАЭ – экспериментальный аллергический энцефаломиелит

Таблица

Изменения аллодинии и гипералгезии у крыс после курсового применения антидепрессантов в условиях ЭАЭ-индуцированной невропатии

Условия эксперимента	Порог тактильной аллодинии, г	Количество вздрагиваний в формалиновом тесте	Латентный период избавления в тесте «hot plate», с
Активный контроль, ЭАЭ (n=12)	5,7±0,66	69,6±6,53	5,9±0,77
Амитриптилин, 10 мг/кг (n=6)	9,1*±1,30	41,3*±4,72	8,8*±0,83
Пароксетин, 8 мг/кг (n=6)	6,5±0,63	66,0±4,49	7,2±0,75
Флуоксетин, 25 мг/кг (n=6)	6,7±0,86	61,7±4,80	7,7±0,76
Триттико, 40 мг/кг (n=6)	8,0*±0,50	55,2±6,79	8,0±0,82

Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к показателям активного контроля; ЭАЭ – экспериментальный аллергический энцефаломиелит

ощущений на раздражение, которое в норме ими не сопровождается [12].

Показано, что после курсового введения антидепрессантов общее количество вздрагиваний, вызываемых инъекцией 0,5 % раствора формалина в тыльную поверхность стопы экспериментальных крыс, было меньшим, чем в группе контроля. Так, количество ответов ранней и поздней фазы под влиянием амитриптилина статистически значимо уменьшалось на 41 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателями животных контрольной группы. При этом ослабление химической гипералгезии после введения триттико (21%, $p > 0,05$), носило лишь характер тенденции, а применение флуоксетина и пароксетина практически

не влияло на высвобождение медиаторов боли и воспаления (табл.).

К тому же, в условиях курсового введения амитриптилина, флуоксетина, пароксетина и триттико статистически значимое увеличение латентного периода реакции облизывания лапок на 49 % ($p < 0,05$) по отношению к показателям контроля также регистрировалось только после применения амитриптилина (табл.).

Согласно данным Баринова Н.А. (2007), специфические тепловые TRPV-3 и TRPV-4 терморецепторы Аδ-афферентов (проводящих неболевую импульсацию) активируются в норме при более низкой температуре, чем TRPV-1 и TRPV-2 рецепторы С-афферентов (проводящих

болевою імпульсацією), і подавляють проведення ноцицептивної афферентації на центральному рівні. Повредження Ад-афферентів при невротії веде до втрати тормозних впливів на спинальному рівні і зміні теплового порога. Та-ким образом, біль виникає в зв'язі з подразненням TRPV-1 рецепторів при більшій, ніж в нормі, температурі внаслідок порушення центрального торможения [5]. Можливо, тільки курсове введення амітриптиліна сприяло відновленню структурної організації мієлінізованих Ад-афферентів, зв'язаних з ванілоїдними терморепцепторами TRPV-4 і TRPV-3, нормалізує тормозні впливи на спинальному рівні і викликає центральну модифікацію полімодального сенсорного імпульса.

Слідовательно, курсове застосування амітриптиліна і тритіко, але не пароксетина або флуоксетина послаблює індуковані експериментальним алергічним енцефаломієлітом нейрональну сенситизацію, аллодинію і гіпералгізію,

Ізвестно, що одним із напрямків терапії невротических болевих синдромів являється застосування психотропних препаратів, модулюючих опіоїдні і моноамінергіческіе нейромедіаторні системи. Антидепресанти вважаються препаратами першої череди для лічення такої болю. І хоча їх клініческе застосування супроводжується розвитком ряду побічних ефектів, амітриптилін і нортриптилін мають найбільшу доказательну базу при терапії невротических болевих синдромів [17, 19]: доказано дозозависиме болеутоляюче дієвство іменно трицичлеских антидепресантів в відношенні аллодинії, жгучих і стріляючих болей при РС. Селективні інгібітори оборотного захвата серотоніна (флуоксетин, пароксетин), незважаючи на менше виражені побічні ефекти, не знайшли широкого застосування із-за недостаточного антиноцицептивного потенціала, а клініческіе наблідення за такими антидепресантами, як тразодон (третіко), нефазодон і мінтазапін свідчать про їх ефективність в терапії невротического болевого синдрому [2, 8, 16].

Предполагається, що антиноцицептивні властивості антидепресантів більш виражені у препаратів, діючих як на серотонінергіческу, так і норадренергіческу нейромедіаторні системи [14], що підтверджують результати нашого дослідження.

Выводи

1. Після підкожної ін'єкції енцефалітогенної суміші у мишей реєструються прояви невротического болевого синдрому, проявляючогося розвитком нейрональної сенситизації, аллодинії і гіпералгізії.

2. Курсове застосування амітриптиліна і тразодона (третіко), але не пароксетина або флуоксетина в умовах ЕАЕ викликає нормалізацію тактильної і болевой чутливості різної ступені вираженості.

3. Здатність послаблювати прояви невротического болевого синдрому в умовах експериментального еквівалента РС зменшується в ряду амітриптилін > третіко >> флуоксетин ≈ пароксетин.

Перспективи дальнейших исследований.

В рамках науково-дослідницької роботи кафедри фармакології ГУ «Дніпропетровська медична академія МЗ України» «Системна фармакологія неопіоїдних анальгетиків і засобів медикаментозної захисти мозку в умовах патологічних станів» (ГР № 0114U0-00935) буде проведено дослідження ефективності антидепресантів в терапії соматогенних болевих синдромів в умовах експериментального еквівалента РС.

Литература

1. Нефьодов О.О. Моделювання та оцінка перебігу експериментального алергічного енцефаломієліту / О.О. Нефьодов, В.Й. Мамчур, Ю.В. Марченко // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2014. – Вип. 4. – Т. 2 (114). – С. 205-208.
2. Нефьодов О.О. Фармакологічний аналіз терапії болю за умов розсіяного склерозу / О.О. Нефьодов : матеріали XV конгресу СФУЛТ, 16-18 жовтня 2014 р., Чернівці-Київ-Чикаго. – С. 365.
3. Агафіна А.С. Болевой синдром в клинике рассеянного склероза: клинические формы, динамика, алтернативные варианты дебюта / А.С. Агафіна, И.А. Соколова: материалы Международной конференции [«Клинические нейронауки: нейрофизиология, неврология, нейрохирургия»]. – Ялта, 2003. – С. 107-108.
4. Агафіна А.С. Болевой синдром при рассеянном склерозе / А.С. Агафіна, В.М. Назаров, И.Д. Столяров // Нейроиммунология. – 2008. – Т. 6, № 3-4. – С. 27-33.
5. Барінов А.Н. Лічення невротических болевих синдромів / А.Н. Барінов // Укр. мед. часопис. – 2007. – № 2 (58). – С. 91-96.
6. Бархатова В.П. Патологія демієлінізуючого процесу // Рассеянный склероз. Избранные вопросы теории и практики / Под ред. И.А. Завалишина, В.И. Головкина. – М.: Детская книга, 2000. – С. 185-204
7. Давыдов О.С. Принципы и алгоритмы лечения нейропатической боли / О.С. Давыдов, А.Б. Данилов // РМЖ. – 2008. – № 16 (спец. вып.). – С. 11-16.
8. Нефедов А.А. Возможности фармакологической коррекции болевых синдромов при рассеянном склерозе / А.А. Нефедов // Бук. мед. вісник. – 2015. – Т. 19, № 1 (73). – С. 232-236.
9. Новиков А.В. Невротическая боль. Патологія механізми і принципи терапії / А.В. Новиков, Н.Н. Яхно // РМЖ. – 2001. – № 7-8. – С. 318-321.
10. Програма статистического аналізу. WEB-resource: [http://www.analystsoft.com/ru/].
11. Пурэв Дуламрагчаа. Клинико-эпидемиологическая, психофизиологическая характеристика и лечение болевых синдромов у пациентов с рассеянным склерозом: дисс. ... канд. мед. наук: 14.00.13 / Пурэв Дуламрагчаа. – М., 2004. – 125 с.
12. Сапон Н.А. Экспериментальное моделирование и оценка интенсивности невротического болевых синдромов / Н.А. Сапон, Г.Е. Читаева // Укр. нейрохірург. ж. – 2006. – № 1. – С. 111-117.
13. Стефанов А.В. Доклініческіе дослідження лікарствених засобів / А.В. Стефанов. – К.: Авіценна, 2002. – 568 с.

14. Тарасова С.В. Лечение хронической боли флувоксамином, амитриптилином и транскраниальной электро-стимуляцией мозга / С.В. Тарасова, А.В. Амелин, А.А. Скоромец // Ж. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. – 2008. – № 6. – С. 43-46.
15. Торопина Г.Г. Боль при рассеянном склерозе / Г.Г. Торопина, Т.Е. Шмидт // Неврол. ж. – 2003. – № 1. – С. 40-44.
16. A comparative study of efficacy and safety of gabapentin versus amitriptyline as coanalgesics in patients receiving opioid analgesics for neuropathic pain in malignancy / M. Banerjee, S. Pal, B. Bhattacharya [et al.] // Indian J. Pharmacol. – 2013. – № 45 (4). – P. 334-338.
17. A systematic review of antidepressants in neuropathic pain / H.J. McQuay, M. Nye B.A. Tramèr, D. Carroll [et al.] // Pain. – 1996. – Vol. 68, № 2-3. – 217 p.
18. Chatel M. Pain in multiple sclerosis / M. Chatel, M. Lanteri-Minet, C. Lebrun-Frenay // Rev Neurol. – 2001. – Vol. 157, № 8-9 (Pt 2). – P. 1072-1078.
19. Cruccu G. Treatment of painful neuropathy / G. Cruccu // Curr Opin Neurol. – 2007. – Vol. 20, № 5. – P. 531-535.
20. Double-blind trial of dexamethasone versus methylprednisolone in multiple sclerosis acute relapses / L. La Mantia, M. Eoli, C. Milanese [et al.] // Europ. Neuro. – 1994. – № 34. – P. 199-203.
21. EFNS guidelines on pharmacological treatment of neuropathic pain/ N. Attal, G. Cruccu, R. Baron [et al.] // Eur. J. Neurol. – 2010. – № 17 (9). – P. 1113-1188.
22. Hunskaar S.A modified hot-plate test sensitive to mild analgesics / S. Hunskaar, O.G. Berge, K. Hole // Behavioural Brain Research. – 1986. – Vol. 21. – P. 101-108.
23. Maloni H.W. Pain in multiple sclerosis: an overview of its nature and management / H.W. Maloni // J. Neurosci. Nurs. – 2000. – Vol. 32, № 3. – P. 139-144.
24. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response/ M. Shibata, T. Ohkubo, H. Takahashi, R. Inoki // Pain. – 1989. – Vol. 38. – P. 347-352.
25. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw / S.R. Chaplan, F.W. Bach, J.W. Pogrel [et al.] // J. Neurosci Methods. – 1994. – Vol. 53 (1). – P. 55-63.
26. Siniscachi A. Drugs treatment of pain in multiple sclerosis / A. Siniscachi, L. Gallelli, G. De Sarro / Curr. Clin. Pharmacol. – 2007. – № 2 (3). – P. 227-233.

ОЦІНКА АНТИНОЦИЦЕПТИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ АНТИДЕПРЕСАНТІВ У ТЕРАПІЇ НЕВРОПАТИЧНОГО БОЛЮ, ІНДУКОВАНОГО ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АЛЕРГІЧНИМ ЕНЦЕФАЛОМІЄЛИТОМ

О.О. Нефедов, В.І. Мамчур

Резюме. У роботі представлений порівняльний фармакологічний аналіз впливу ряду антидепресантів на прояви невропатичного больового синдрому за умов експериментального еквіваленту розсіяного склерозу. Показана здатність амітриптиліну і тразодону (тріттико), але не пароксетину або флуоксетину послаблювати індуковані експериментальним алергічним енцефаломієлітом (ЕАЕ) нейрональну сенситизацію, алодинію та гіпералгезію.

Ключові слова: ЕАЕ, антидепресанти, невропатичний біль.

EVALUATION OF THE ANTINOCICEPTIVE POTENTIAL OF ANTIDEPRESSANTS IN THE TREATMENT OF NEUROPATHIC PAIN, INDUCED BY EXPERIMENTAL ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS

O.O. Nefedov, V.I. Mamchur

Abstract. The work presents a comparative pharmacological analysis of the influence of some antidepressants on the manifestations of neuropathic pain syndrome in experimental equivalent of multiple sclerosis. It shows the ability of amitriptyline and trazodone (trittico), but not paroxetine or fluoxetine to weaken induced by experimental allergic encephalomyelitis (EAE) neuronal sensitization, allodynia and hyperalgesia.

Key words: EAE, antidepressants, neuropathic pain.

SE «Medical Academy of Health Ministry of Ukraine» (Dnipropetrovsk)

Рецензент – проф. І.І. Заморський

Buk. Med. Herald. – 2016. – Vol. 20, № 1 (77). – P. 94-98

Надійшла до редакції 29.10.2015 року