

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616.8:599.323.4

Карпова М.Н., Кузнецова Л.В., Клишина Н.Ю., Кукушкин М.Л.

Влияние ипидакрина на острую боль и развитие невропатического болевого синдрома у крыс линии Вистар

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»,
125315, г. Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8

Цель исследования - изучение особенностей действия ипидакрина («Ипигрикс» Эйч Би Эм Фарма с.р.о., Словакия) на острую боль и динамику развития невропатического болевого синдрома у крыс линии Вистар.

Методика. Проведено 2 серии опытов. В 1-й серии влияние ипидакрина изучали на моделях острой боли. Пороги болевой чувствительности определяли до внутримышечного введения ипидакрина (0,5 и 1 мг/кг), а также через 30 и 60 мин после введения. Оценку изменения индивидуальной болевой чувствительности у животных проводили с помощью 2 стандартных тестов: «Tail flick» и «Hot plate». Во 2-й серии изучали влияние ипидакрина на развитие невропатического болевого синдрома, который воспроизводили перерезкой опытным и контрольным животным левого седалищного нерва на уровне подколенной ямки. Интенсивность невропатического болевого синдрома у животных оценивали в баллах по выраженности аутономии на оперированной конечности, времени появления аутономий и количеству животных с аутономией. Внутримышечное введение ипидакрина осуществляли ежедневно (1 мг/кг) в течение 20 сут.

Результаты. Введение ипидакрина (0,5 мг/кг) не оказывает антиноцицептивного действия: порог болевой чувствительности не менялся по тестам «Tail flick» и «Hot plate». Введение ипидакрина (1 мг/кг) за 30 мин до тестирования также не влияло на порог болевой чувствительности по тестам «Tail flick» и «Hot plate», а через 60 мин после введения ипидакрина порог болевой чувствительности увеличился на 15,8 % (* $p=0,033$) по тесту «Tail flick» по сравнению с показателем до введения препарата.

Заключение. Ипидакрин значительно задерживал развитие невропатического болевого синдрома НБС, но не оказывал влияния на острую боль в тестах «Tail flick» и «Hot plate».

Ключевые слова: ипидакрин, острая боль, порог болевой чувствительности, невропатический болевой синдром, болевая чувствительность, аутономии, крысы.

Для цитирования: Карпова М.Н., Кузнецова Л.В., Клишина Н.Ю., Кукушкин М.Л. Влияние ипидакрина на острую боль и развитие невропатического болевого синдрома у крыс линии Вистар. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(2): 29-33.

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.02.29-33

Для корреспонденции: Карпова Маргарита Николаевна, доктор биол. наук, гл. науч. сотр. лаб. фундаментальных и прикладных проблем боли ФГБНУ НИИОПП, e-mail: karpovamn@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 21.03.2019

Карпова М.Н., Kuznetsova L.V., Klishina N.Yu., Kukushkin M.L.

Effect of ipidacrine on acute pain and development of neuropathic pain syndrome in wistar rats

Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russia

The aim of the study was to elucidate specific features of the effect of ipidacrine (IPIGRIS, Slovakia) on acute pain and development of neuropathic pain syndrome (NPS) in Wistar rats.

Methods. Two series of experiments were performed. In the first series, effects of ipidacrine were studied on models of acute pain. Thresholds of pain sensitivity (PS) were determined before and 30 and 60 min after ipidacrine injection (0.5 and 1 mg/kg, i.m.). Changes in individual pain sensitivity were assessed with two standard tests, tail flick and hot plate. In the second series of experiments, the effect of ipidacrine on the development of NPS was studied. NPS was induced by transection of the left sciatic nerve at the level of popliteal fossa in experimental and control animals. The NPS intensity was evaluated in scores based on severity of autotomy on the operated extremity, time of autotomy emergence, and number of animals with autotomy. Ipidacrine (1 mg/kg, i.m.) was injected daily for 21 days.

Results. Ipidacrine at a dose of 0.5 mg/kg did not exert an antinociceptive effect – the PS threshold did not change in the tail flick and hot plate tests. Ipidacrine at a dose of 1 mg/kg 30 min before testing did not affect the PS thresholds in the tail flick and hot

plate tests; at 60 min after the ipidacrine injection, the PS thresholds increased by 15.8% (* $p = 0.033$) in the tail flick test compared to the value before the ipidacrine injection.

Conclusion. Ipidacrine significantly delayed the development of NPS but did not affect acute pain in the tail flick and hot plate tests.

Keywords: ipidacrine, acute pain, pain threshold, neuropathic pain syndrome, pain sensitivity, autotomy, rats.

For citation: Karpova M.N., Kuznetsova L.V., Klishina N.Yu., Kukushkin M.L. Effect of ipidacrine on acute pain and development of neuropathic pain syndrome in Wistar rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63 (2): 29-33. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.02. 29-33

For correspondence: *Karpova M.N.*, Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, Laboratory of fundamental and applied problems of pain FSBSI «Institute of General Pathology and Pathophysiology», e-mail: karpovamn@gmail.com

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Information about authors:

Karpova M.N., <http://orcid.org/0000-0002-4338-5567>

Received 21.03.2019

Введение

Боль относится к значимым медико-социальным проблемам, поскольку существенно изменяет поведение человека. Острая и хроническая боль приводит к различным нарушениям основных систем организма, нарушает процессы регуляции разных видов чувствительности и формирует особый тип болевого поведения. Несмотря на значительный прорыв в изучении механизмов боли, распространенность болевых синдромов в общей структуре заболеваемости продолжает расти. Частота встречаемости различных болевых синдромов по данным эпидемиологических исследований среди населения развитых стран составляет от 30 до 80%.

Эффективность лечения при терапии болевого синдрома во многом зависит от выбора терапевтических средств. Пациенты, страдающие хронической болью часто не получают полного обезболивания. Современные методы лечения невропатической боли часто неэффективны и/или вызывают серьезные побочные эффекты. Невропатическая боль является наиболее частой причиной инвалидизации и значительного ухудшения качества жизни больных. Поэтому актуален поиск и изучение механизма действия новых и уже имеющихся лекарственных средств, обладающих поликомпонентным спектром фармакологических эффектов и многофакторным механизмом действия.

Показано, что активация холинергической системы различными холинергическими агонистами и антихолинэстеразными агентами индуцирует антиноцицепцию у лабораторных животных [1–3]. Для лечения пациентов с поражениями периферической нервной системы, сопровождающимися периферическими парезами и болевыми синдромами, применяются ингибиторы ацетилхолинэстеразы [4, 5]. Одним из представителей этого класса препаратов является ипидакрин - обратимый ингибитор ацетилхолинэстеразы, вызывающий увеличе-

ние содержания ацетилхолина в синаптической щели и блокаду калиевых каналов, точкой приложения которого являются в первую очередь эфферентные (двигательные) волокна периферических нервов. Однако преимущественное влияние препарата на ноцицептивный и невропатический компоненты боли остается недостаточно изученными. Вопросы преимущественного его влияния на ноцицептивный и невропатический компоненты боли, терапевтического эффекта, способности потенцировать действие других лекарственных средств, применяемых с целью купирования болевого синдрома до настоящего времени не решены полностью.

Цель исследования – изучение особенностей действия ипидакрина («Ипигрикс» Эйч Би Эм Фарма с.р.о.) на острую боль и динамику развития невропатического болевого синдрома (НБС) у крыс линии Вистар.

Методика

Эксперименты выполнены на взрослых крысах самцах линии Вистар ($n=61$) с исходной массой 160-200 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище. Все процедуры и эксперименты на животных проводили в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016, и Межгосударственными стандартами ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными», соответствующими Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS N 123, Страсбург, 18 марта 1986 г. с приложением от 15.06.2006, требованиями Международной ассоциации по изучению боли и Директивы Совета европейского сообщества (86/609/ЕЕС). Исследования проводили под контролем Этического комитета ФГБНУ «НИИОПП».

Проведено 2 серии опытов. В 1-й серии изучали влияние ипидакрина («Ипигрикс» Эйч Би Эм Фарма с. р. о.) на моделях острой боли. Оценку изменения индивидуальной болевой чувствительности у животных проводили с помощью 2 стандартных тестов: «Tail flick» и «Hot plate». Пороги болевой чувствительности (ПБЧ) определяли до внутримышечного введения ипидакрина (0,5 и 1 мг/кг), а также через 30 и 60 мин после введения. Тест отдергивания хвоста (воздействие фокусированного теплового луча) «Tail flick» позволяет оценить особенности регуляции болевой чувствительности на уровне сегментарных отделов спинного мозга. Измерение ПБЧ проводили при помощи прибора «Ugo Basile» (Италия), позволяющего подавать сфокусированный пучок света на хвост животного и фиксировать время появления болевой реакции (латентный период) по отведению хвоста животного. Оценка болевой чувствительности с помощью теста горячей пластины «Hot plate» используется для определения особенностей регуляции болевой чувствительности на уровне центральных структур мозга. Измерение ПБЧ проводили при помощи прибора «TSE Systems» (Германия), позволяющего регулировать нагрев пластины и фиксировать время появления признаков болевого поведения (облизывание лап или подпрыгивание). Величина ПБЧ измерялась в секундах по времени отведения хвоста в «Tail flick» или по времени появления болевого поведения животного, находящегося на нагретой до 55°C металлической пластине в «Hot plate».

Во 2-й серии ($n=16$) изучали влияние внутримышечного введения ипидакрина на динамику развития НБС у животных. НБС воспроизводили путем перерезки опытным и контрольным животным левого седалищного нерва на уровне подколенной ямки под эфирным наркозом по общепринятой методике [6]. Первая инъекция ипидакрина (1 мг/кг) в правую бедренную мышцу была произведена через 1 ч после операции. Далее препарат вводили ежедневно в течение 20 сут. Контрольным животным в аналогичных условиях в том же объеме вводили физиологический раствор. Тяжесть болевого синдрома на оперированной конечности оценивали в течение 27 сут после операции по специализированной шкале для оценки выраженности аутономии. Оценивалась степень поражения когтей, фаланг стопы оперированной лапы [7], а также время появления аутономии и количество животных с аутономией. Ежедневно перед введением препаратов регистрировали массу тела контрольных и экспериментальных животных.

Статистическую обработку данных осуществляли по алгоритмам программы «Statistica 8.0». Оценку значимости показателей и различий рассматриваемых выборок проводили по U-критерию Манна-Уитни. Ча-

стоту встречаемости признака оценивали с помощью точного метода Фишера. В качестве средневыборочной характеристики использовали медиану (Me), первый и третий квартили (Q1; Q3). Статистически значимыми считали различия между группами при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Данные по изменению порога болевой чувствительности после системного введения ипидакрина представлены в **таблице**. В 1 серии экспериментов у контрольных животных чувствительность к боли до и после введения физиологического раствора была одинаковой.

Как видно из **таблицы**, введение ипидакрина в дозе 0,5 мг/кг не оказывало антиноцицептивного действия: ПБЧ по тестам «Tail flick» и «Hot plate» существенно не менялся. Увеличение дозы до 1 мг/кг не оказывало существенного антиноцицептивного действия по тесту «Hot plate». Однако в тесте «Tail flick» через 60 мин после введения ипидакрина ПБЧ был статистически значимо выше (на 15,8 %) по сравнению с показателями до введения препаратов.

Во 2-й серии изучение динамики развития болевого синдрома показало, что у контрольных животных ($n=8$) с введением физиологического раствора аутономии появились на 3-и сут после операции (**рис. А**). Количество животных с аутономией составило – 50% (у 4 из 8), а выраженность аутономии – 1,5 (1; 2) балла. У животных опытной группы с введением ипидакрина ($n=8$) аутономии появились у 1 из 8 животных (12,5%; $p=0,025$) на 13-е сут после операции, т.е. на 10 сут позднее, чем в контроле (**рис. А**), а выраженность аутономии составила 2 балла.

На 21-е сут после операции (через 1 сут после отмены препаратов) в контрольной группе аутономия отмечалась у 6 из 8 животных (75%), а выраженность аутономии составила 2 (1;3) балла. Количество животных с аутономией в опытной группе осталось прежним и составило 12,5 % (у 1 из 8 крыс; $p=0,025$), а выраженность аутономии – 1 балл. На 27-е сут после операции количество животных с аутономией в группе контроля осталось прежним. У животных опытной группы количество животных с аутономией выросло до 50% (у 5 из 8) с выраженностью аутономии 2 (1;3) балла.

Различия между опытными и контрольными животными проявлялось и в динамике изменения массы тела (**рис. Б**). В группе животных с введением ипидакрина на протяжении 2 нед ежедневного наблюдения прослеживалась тенденция в задержке увеличения массы тела. Статистически значимые межгрупповые различия по этому показателю были выявлены на 3-й нед наблюдения. После отмены введения ипидакрина (с

21 по 27 сут) не наблюдалось статистически значимых различий в приросте массы тела между группами, но тенденция в отставании увеличения массы тела в опытной группе сохранялась.

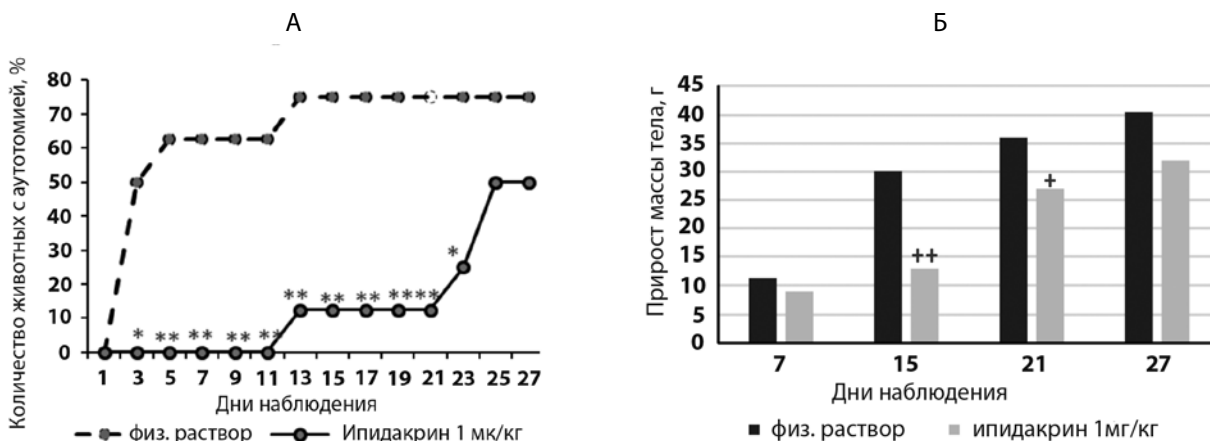
Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что ипидакрин при однократном введении не оказывал влияния на острую боль в тестах «Tail flick» и «Hot plate», но значительно задерживал развитие НБС у животных при длительном ежедневном введением ипидакрина. Эти животные оказались более устойчивыми к развитию НБС: аутономии появились на 10 сут позднее, чем в контроле и только у 1 животного, тогда как в контроле аутономии были обнаружены на 3-и сут наблюдения у половины животных (у 4 из 8). Через 3 сут после окончания введения ипидакрина в опытной группе число животных с аутономиями выросло до 25% (у 2 из 8); и к концу эксперимента через 5 сут после окончания введения препарата достигло 50%, а в контрольной группе число животных с аутономиями не изменилось и составило 75%.

Невропатическая боль – это боль, которая вызывается первичным поражением или повреждением центральной или периферической нервной системы. Невропатическая боль может проявляться как самостоятельный синдром, а также являться сопутствующим фактором целого ряда заболеваний. Ипидакрин является обратимым ингибитором холинэстеразы и оказывает свои эффекты. От обычных ингибиторов холинэстеразы он отличается тем, что одновременно стимулирует непосредственно проведение возбуждения в нервных волокнах и синаптическую передачу в нервно-мышечных окончаниях, что связано с блокадой калиевых каналов возбудимых мембран. Ипидакрин представляет собой эффективный препарат в комплексном лечении заболеваний как центральной, так и периферической нервной системы. Результаты клинических исследований свидетельствуют о том, что назначение ипидакрина в составе комплексной медикаментозной терапии, лечебной гимнастики и физи-

Изменение порогов болевой чувствительности после системного введения ипидакрина (Me; (Q1; Q3))

Группы и число (n) животных	Порог болевой чувствительности до введения препарата		Порог болевой чувствительности после введения препарата			
	Tail flick (с)	Hot plate (с)	30 мин		60 мин	
			Tail flick (с)	Hot plate (с)	Tail flick (с)	Hot plate (с)
1 – контроль, физ. р-р n=12	4,15 (3,5; 4,6)	6,20 (4,0; 10,0)	4,35 (3,4; 5,6)	7,50 (5,3; 10,5)	3,50 (3,0; 4,0)	6,10 (4,0; 9,1)
2 – ипидакрин 0,5 мг/кг n= 11	3,70 (3,3; 4,8)	8,0 (5,8; 9,5)	3,50 (3,4; 5,8)	7,40 (6,0; 11,1)	4,20 (3,7; 4,5)	8,20 (6,0; 10)
3 – ипидакрин 1 мг/кг n=10	3,80 (3,5; 3,9)	9,85 (8; 10,5)	4,0 (3,4; 4,5)	8,10 (7,4; 13,6)	4,40 (3,8; 5,4)**	8,25 (4,6; 11,4)

Примечание. *p=0,033 – по сравнению с соответствующими показателями до введения препаратов; **p=0,024 – по сравнению с группой контрольных животных.



Динамика развития невропатического болевого синдрома у крыс на фоне введения ипидакрина и физиологического раствора. А — оцениваемая по количеству животных с аутономией конечности. Б — Динамика изменения массы тела (в граммах) животных контрольной и опытной групп.

*p=0,05; **p=0,025; + p=0,013; ++p=0,007 - по сравнению с контрольными животными.

отерапевтических процедур не только повышает активность нервно-мышечной передачи, но и оказывает противоболевой эффект и, в некоторых случаях, по эффективности не уступает НПВС [8, 9]. Анальгетический эффект препарата частично можно связать с тем, что он блокирует проницаемость мембраны для натрия [9, 10]. Подтверждением этому служит тот факт, что в основе анальгетического действия некоторых современных противоэпилептических препаратов лежит блокада потенциалзависимых натриевых каналов [10].

Литература

1. Hamurtekin E., Gurun M.S. The antinociceptive effects of centrally administered CDP-choline on acute pain models in rats: the involvement of cholinergic system. *Brain Res.* 2006; 1117: 92–100. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.07.118
2. Rowley T.J., McKinstry A., Greenidge E., Smith W., Flood P., Antinociceptive and anti-inflammatory effects of choline in a mouse model of postoperative pain. *Br J Anaesth.* 2010; 105 (2): 201–7. DOI: 10.1093/bja/aeq113
3. Gurun M.S., Parker R., Eisenach J.C., Vincler M. The effect of peripherally administered CDP-choline in an acute inflammatory pain model: the role of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor. *Anesth Analg.* 2009; 108: 1680–7. DOI: 10.1213/ane.0b013e31819dcd08
4. Строкос И.А., Захарова В.В., Головачева В.А., Брад Т.Я. Активация холинэргической иннервации заболеваний периферической и центральной нервной системы. *Неврологический журнал.* 2013; 6: 91–100.
5. Камчатнов П.Р., Дзугаева Ф.К., Чугунов А.В., Казаков А.Ю. Применение ипидакрина у пациентов с заболеваниями периферической нервной системы. *Неврология и ревматология. Приложение к журналу Consilium Medicum.* 2018; 1: 36–40. DOI: 10.26442/2414357X.2018.2.180097
6. Кукушкин М.Л., Смирнова В.С. Значение функционального состояния седалищного нерва в момент его перерезки для последующего развития болевого синдрома у крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 1993; 1: 7–8.
7. Осипов А.В., Кукушкин М.Л. Влияние стресса на развитие деafferентационного болевого синдрома у крыс после перерезки седалищного нерва. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 1993; 115(5): 471–3.
8. Бойко А.Н., Батышева Т.Т., Зайцев К.А. и др. Применение препарата аксамон в комплексной реабилитации больных с двигательными нарушениями при патологии поясничного отдела позвоночника. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* 2008; 9: 45–7.

Сведения об авторах:

Карпова Маргарита Николаевна, доктор биол. наук, гл. науч. сотр. лаб. фундаментальных и прикладных проблем боли ФГБНУ НИИОПП;

Кузнецова Лада Владимировна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. фундаментальных и прикладных проблем боли ФГБНУ НИИОПП;

Клишина Наталья Юрьевна, науч. сотр. лаб. фундаментальных и прикладных проблем боли ФГБНУ НИИОПП;

Кукушкин Михаил Львович, доктор мед. наук, проф., гл. науч. сотр. лаб. фундаментальных и прикладных проблем боли ФГБНУ НИИОПП.

9. Авакян Г.Н., Авакян Г.Г. Клинико-электронейромиографическое исследование эффективности ипидакрина у пациентов с мононевропатиями. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* 2015; 9: 17–22. DOI: 10.17116/jnevro20151159117-22
10. Smith E. Advances in understanding nociception and neuropathic pain. *J Neurol.* 2018; 265: 231–8. DOI: 10.1007/s00415-017-8641-6.

References

1. Hamurtekin E., Gurun M.S. The antinociceptive effects of centrally administered CDP-choline on acute pain models in rats: the involvement of cholinergic system. *Brain Res.* 2006; 1117: 92–100. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.07.118.
2. Rowley T.J., McKinstry A., Greenidge E., Smith W., Flood P., Antinociceptive and anti-inflammatory effects of choline in a mouse model of postoperative pain. *Br J Anaesth.* 2010; 105 (2): 201–7. DOI: 10.1093/bja/aeq113.
3. Gurun M.S., Parker R., Eisenach J.C., Vincler M. The effect of peripherally administered CDP-choline in an acute inflammatory pain model: the role of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor. *Anesth Analg.* 2009; 108: 1680–7. DOI: 10.1213/ane.0b013e31819dcd08
4. Strokov I.A., Zakharova V.V., Golovacheva V.A., Brad T.Ya. The activation of the cholinergic innervation in the treatment of diseases of the peripheral and central nervous system. *Neurologicheskiy zhurnal.* 2013; 6: 91–100. (in Russian)
5. Kamchatnov P.R., Dzugaeva F.K., Chugunov A.V., Kazakov A.Yu. Use of ipidacrine in patients with peripheral nervous system diseases. *Neurologiya i revmatologiya. Prilozhenie k zhurnalu Consilium Medicum.* 2018; 12(1): 44–8. (in Russian)
6. Kukushkin M.L., Smirnova V.S. The value of the functional state of the sciatic nerve at the time of its transection for the subsequent development of pain in rats. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 1993; 1: 7–8. (in Russian)
7. Osipov A.V., Kukushkin M.L. The effect of stress on the development of deafferentation pain syndrome in rats after transection of the sciatic nerve. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 1993; 115(5): 471–3. (in Russian)
8. Boyko A.N., Batysheva T.T., Zaytsev K.A. et al. The use of axamon in the complex rehabilitation of neurological patients with movement disorders in the pathology of lumbar spine. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova.* 2008; 9: 45–7. (in Russian)
9. Avakyan G.N., Avakyan G.G. A clinical-electroneuromyographic study of the efficacy of ipidacrine in patients with mononeuropathies. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova.* 2015; 9: 17–22. DOI: 10.17116/jnevro20151159117-22. (in Russian)
10. Smith E. Advances in understanding nociception and neuropathic pain. *J Neurol.* 2018; 265: 231–8. DOI: 10.1007/s00415-017-8641-6.