

© Коллектив авторов, 2023

УДК 547.327:612.884

Счастливая Н.И.<sup>1</sup>, Жаворонок И.П.<sup>1</sup>, Доронькина А.С.<sup>1</sup>, Кукса М.С.<sup>1</sup>, Филатова Д.В.<sup>1</sup>,  
Чудиловская Е.Н.<sup>1</sup>, Лисовская М.В.<sup>2</sup>, Михальчук А.Л.<sup>2</sup>, Молчанова А.Ю.<sup>1</sup>

## Биологическое действие бутаноилэтаноломида и каприлоилэтаноломида у крыс: антиноцицептивный и побочные эффекты

<sup>1</sup>ГНУ «Институт физиологии» Национальной академии наук Беларуси,  
220072, Минск, Беларусь, ул. Академическая, д. 28;

<sup>2</sup>ГНУ «Институт биоорганической химии» Национальной академии наук Беларуси,  
220084, Минск, Беларусь, ул. акад. В.Ф. Купревича, д. 5

**Введение.** Одним из перспективных направлений разработки новых фармакологических препаратов для купирования боли и воспаления является изучение биологического действия липидных молекул, в том числе и этаноламидов жирных кислот. **Цель исследования** – изучение влияния бутаноилэтаноломида (butanoylethanamide, BEA) и каприлоилэтаноломида (caprinoylethanamide, CEA) на ноцицептивные реакции, биохимические и гистологические изменения у здоровых животных и на уровень болевой чувствительности при моделировании нейропатии и артрита.

**Методика.** Исследование выполнено на крысах-самцах Wistar ( $n=71$ ). Ноцицептивную чувствительность оценивали по изменению показателей порога ноцицептивной реакции (ПНР) и по динамике латентного периода ноцицептивной реакции (ЛПНР). Общий анализ крови выполняли с использованием гематологического ветеринарного анализатора Nihon MEK 6450K (Япония). Биохимические исследования проводили с помощью биохимического анализатора BS-200 (MINDRAY, Китай) с применением коммерческих наборов фирмы Диасенс (Беларусь).

**Результаты.** Внутривенное введение BEA здоровым животным во всех исследуемых дозах не приводило к статистически значимым изменениям ПНР и ЛПНР по сравнению с их начальными значениями ( $p>0,05$ ). CEA в дозе 100 мг/кг вызывал снижение ноцицептивной чувствительности на механическое воздействие ( $p<0,05$ ). Биохимические показатели крови и результаты гистологического исследования свидетельствуют о побочном действии указанных соединений на структуру печени и почек. При моделировании нейропатии и артрита BEA и CEA в дозе 100 мг/кг снижали болевую чувствительность, как к механическому, так и термическому стимулам.

**Заключение.** Однократное внутривенное введение BEA во всех тестируемых дозах не влияет на чувствительность к ноцицептивному стимулам. CEA в дозе 100 мг/кг вызывает слабый антиноцицептивный эффект в ответ на механическое воздействие. Выраженность изменений функциональной активности печени и почек у экспериментальных животных зависит от дозы исследуемых субстанций. При моделировании нейропатии и артрита отмечен анальгетический эффект BEA и CEA в дозе 100 мг/кг.

**Ключевые слова:** бутаноилэтаноломид; каприлоилэтаноломид; порог ноцицептивной реакции; латентный период ноцицептивной реакции; нейропатия; артрит

**Для цитирования:** Счастливая Н.И., Жаворонок И.П., Доронькина А.С., Кукса М.С., Филатова Д.В., Чудиловская Е.Н., Лисовская М.В., Михальчук А.Л., Молчанова А.Ю. Биологическое действие бутаноилэтаноломида и каприлоилэтаноломида у крыс: антиноцицептивный и побочные эффекты. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2023; 67(3): 39–50.

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.39-50

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Молчанова А.Ю., Михальчук А.Л.; сбор и обработка материала – Счастливая Н.И., Жаворонок И.П., Доронькина А.С., Филатова Д.В., Чудиловская Е.Н., Кукса М.С., Лисовская М.В.; подготовка иллюстративного материала – Доронькина А.С., Филатова Д.В.; статистическая обработка материала – Счастливая Н.И., Чудиловская Е.Н.; написание текста – Счастливая Н.И.; редактирование – Молчанова А.Ю., Михальчук А.Л. Утверждение окончательного варианта статьи – все соавторы.

**Для корреспонденции:** Счастливая Надежда Ивановна, e-mail: nadezhda.schastnaya@yandex.by

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке государственной программы научных исследований № 2.3.5.2.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 04.05.2023

Принята к печати 12.07.2023

Опубликована 20.09.2023

Schastnaya N.I.<sup>1</sup>, Zhavoronok I.P.<sup>1</sup>, Doronkina A.S.<sup>1</sup>, Kuksa M.S.<sup>1</sup>, Filatova D.V.<sup>1</sup>,  
Chudilovskaya E.N.<sup>1</sup>, Lisovskaya M.V.<sup>2</sup>, Mikhailchuk A.L.<sup>2</sup>, Molchanova A.Yu.<sup>1</sup>

## Biological effects of butanoyl ethanolamide and capryloyl ethanolamide in rats: antinociceptive and side effects

<sup>1</sup>Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus,  
Academicheskaya St. 28, Minsk, 220072, Belarus;

<sup>2</sup>Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus,  
Akademika Kuprevicha St. 5, Minsk, 220084, Belarus

**Background.** A promising direction in the development of new pharmacological drugs for relief of pain and inflammation is studying the biological effect of lipid molecules, including fatty acid ethanolamides.

**The aim of the study** was to investigate the effects of butanoyl ethanolamide (BEA) and capryloyl ethanolamide (CEA) on nociceptive reactions, biochemical and histological changes in healthy animals, as well as on pain sensitivity in models of neuropathy and arthritis.

**Methods.** The study was performed on Wistar male rats ( $n=71$ ). Nociceptive sensitivity was assessed by changes in the nociceptive response threshold (NRT) and latent period of nociceptive response (LPNR). Blood cell count was performed with a Nihon MEK 6450K (Japan) hematological veterinary analyzer. Biochemical tests were performed using a BS-200 (MINDRAY, China) biochemical analyzer with Diasens (Belarus) commercial kits.

**Results.** Intragastric administration of BEA to healthy animals in any studied dose caused no statistically significant changes in NRT and LPNR compared to their background values ( $p>0.05$ ). CEA at a dose of 100 mg/kg caused a decrease in nociceptive sensitivity to mechanical action ( $p<0.05$ ). Blood biochemistry values and results of a histological study indicated side effects of these compounds on the structure of the liver and kidneys. In modeling neuropathy and arthritis, BEA and CEA at a dose of 100 mg/kg reduced the pain sensitivity to both mechanical and thermal stimuli.

**Conclusion.** A single intragastric administration of any tested dose of BEA had no effect on the sensitivity to nociceptive stimuli. CEA 100 mg/kg produced a weak antinociceptive effect in response to mechanical stimulation. The severity of changes in the functional activity of the liver and kidneys depended on the drug dose. In models of neuropathy and arthritis, BEA and CEA at a dose of 100 mg/kg produced an analgesic effect.

**Keywords:** butanoyl ethanolamide; capryloyl ethanolamide; nociceptive response threshold; latent period of nociceptive response; neuropathy; arthritis

**For citation:** Shchastnaya N.I., Zhavoronok I.P., Doronkina A.S., Kuksa M.S., Filatova D.V., Chudilovskaya E.N., Lisovskaya M.V., Mikhailchuk A.L., Molchanova A.Yu. Biological effects of butanoyl ethanolamide and capryloyl ethanolamide in rats: antinociceptive and side effects. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2023; 67(3): 39–50. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.39-50

**Author's contribution:** the concept and design of the study – Molchanova A.Yu., Mikhailchuk A.L.; collection and processing of the material – Schastnaya N.I., Zhavoronok I.P., Doronkina A.S., Kuksa M.S., Filatova D.V.; statistical processing of the material – Schastnaya N.I., Chudilovskaya E.N.; writing the text – Schastnaya N.I.; editing – Molchanova A.Yu., Mikhailchuk A.L. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

**For correspondence:** *Nadezhda I. Schastnaya*, e-mail: nadezhda.schastnaya@yandex.by

**Financing.** The work was supported financially by the State Research Program № 2.3.5.2.

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

### Information about the authors:

Schastnaya N.I., <https://orcid.org/0000-0003-1786-5185>

Zhavoronok I.P., <https://orcid.org/0000-0001-9982-0719>

Doronkina A.S., <https://orcid.org/0000-0003-8914-5166>

Received 04.05.2023

Accepted 12.07.2023

Published 20.09.2023

## Введение

Изучение биологической активности липидных молекул, и в частности аутокоидов ряда этаноламидов жирных кислот (fatty acid ethanolamides – FAEAs) являются одним из наиболее перспективных направлений современной фармакологии. Липидные моле-

кулы входят в состав компонентов клеток (мембраны, жировые включения, миелиновая оболочка), активно участвуют в межклеточной и внутриклеточной коммуникации, а также обеспечивают организм человека и животных энергией, необходимой для осуществления

других жизненно важных процессов. Первые сообщения о FAEAs появились в 50-е годы 20 века. Открытие анандамида как естественного эндогенного лиганда к рецепторам, взаимодействующим с каннабиноидами (1992–95 гг.) стимулировало интерес к амидам жирных кислот (fatty acid amides – FAAs). Наиболее изученными ацилэтаноламидами (acylethanolamides – AEAs) или N-ацилэтаноламинами (N-acylethanolamines – N-AEAs) являются насыщенные аналоги анандамида – пальмитоилэтаноламид (palmitoylethanolamide – PEA или N-palmitoylethanolamine – N-PEA) и стеароилэтаноламид (stearoylethanolamide – SEA или N-stearoylethanolamine – N-SEA). Эти AEAs являются наиболее распространенными FAAs в тканях млекопитающих. PEA является аутокоидом (биологическая сигнальная молекула локального действия), присутствует во всех тканях и биологических жидкостях – в мозге, печени, скелетной мускулатуре и обладает противовоспалительным, обезболивающим, антиоксидантным и рядом других свойств. SEA, как и PEA также обнаруживается в большинстве тканей и органов, включая центральную нервную систему, и опосредует широкий спектр биологических эффектов. Результаты экспериментальных исследований показали, что SEA способствует купированию воспалительной боли и снижению отека, оказывает противосудорожный эффект и ускоряет заживление ран [1–3]. Известно, что эти соединения по своим физиологическим свойствам схожи с физиологическими эффектами каннабиноидов. Они обладают каннабимиметической активностью, однако непосредственно не взаимодействуют со специфическими рецепторами, взаимодействующими с каннабиноидами. Основными клеточными мишенями PEA являются ядерные рецепторы, которые активируются пролифераторами пероксисом (PPAR- $\alpha$ ) – группа рецепторов, функционирующих в качестве фактора транскрипции и вовлеченных в регуляцию и контроль метаболизма липидов, а также воспаления и боли. Влияние PEA на дегрануляцию тучных клеток посредством «аутокоидного антагонизма локальному воспалению» (Autacoid Local Inflammation Antagonism – ALIA) рассматривают как один из механизмов противовоспалительного и антиноцицептивного действия этого амида [4, 5].

На сегодняшний день физиологические эффекты FAAs определены более подробно, тогда как коротко- и среднецепочечные мало изучены. Поэтому на первом этапе исследования изучали влияние однократного введения бутаноилэтаноламида (butanoylethanolamide, BEA) и каприлоилэтаноламида (caprinoylethanolamide, SEA) на ноцицептивные реакции, биохимические

и гистологические изменения у здоровых животных. На втором этапе оценивали действие тестируемых веществ на уровень болевой чувствительности крыс при периферической нейропатии и индуцированном мимозаном артрите.

### Методика

Исследуемые FAEAs синтезированы в лаборатории химии липидов Института биоорганической химии НАН Беларуси. Эксперименты проведены на крысах-самцах стока Wistar массой 220–230 г ( $n=71$ ). Крысы содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище. Эксперименты проведены с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными в соответствии с национальными и международными стандартами качества планирования и проведения исследований на животных [6, 7]. Протокол экспериментов одобрен на заседании комиссии по биоэтике при Институте физиологии НАН Беларуси (протокол №1 от 22.01.21 г).

Животные были разделены на экспериментальные группы в зависимости от вводимой дозы веществ. BEA вводили внутривенно однократно в дозах 5 мг/кг ( $n=6$ ), 20 мг/кг ( $n=6$ ) и 100 мг/кг ( $n=6$ ). SEA животные получали в дозах 20 мг/кг ( $n=5$ ) и 100 мг/кг ( $n=5$ ).

Ноцицептивную чувствительность регистрировали до и через 60 мин после введения указанных соединений с помощью теста «Randall Selitto» с использованием анальгезиметра (PanLab, Испания), который обеспечивает плавное увеличение нагрузки (в граммах) до появления реакции, оцениваемой по отдергиванию лапки, либо вокализации. Порог ноцицептивной реакции (ПНР) определяли трехкратно с интервалом 5–7 мин [8].

С помощью теста «Hot plate» («горячая пластина») измеряли латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР, с) – время с момента помещения животного на горячую пластину (50 °C) до осуществления ноцицептивной реакции (облизывание задней лапы, вокализация, выпрыгивание из камеры). Измерения проводили трехкратно с интервалом 15–20 мин [9].

На 14-е сут после введения исследуемых субстанций осуществляли забор крови для гематологического и биохимического анализов и проводили патоморфологическое исследование для выявления макроскопически различимых признаков патологии внутренних органов. Для микроскопического анализа забивали печень и почки.

Общий анализ крови выполняли с использованием гематологического ветеринарного анализатора Nihon MEK 6450K (Япония). Определяли количество лейкоцитов (WBC), эритроцитов (RBC), тромбоци-

тов (PLT), уровень гемоглобина (HGB) и гематокрит (HCT). Биохимические исследования проводили на автоматическом биохимическом анализаторе BS-200 (MINDRAY, Китай) с использованием коммерческих наборов фирмы Диасенс (Беларусь). В сыворотке крови определяли: общий белок (TP), мочевины (Ureal), креатинин (Creat), общий билирубин (T.bil), активность аланинаминотрансферазы (АЛТ/ALT), аспартатаминотрансферазы (АСТ/AST) и щелочной фосфатазы (ЩФ/ALP). Контролем служили интактные животные, которым ничего не вводили ( $n=9$ ).

Периферическую нейропатию моделировали путем аксотомии седалищного нерва левой задней конечности крыс под общей анестезией (тиопентал натрия) и местным обезболиванием (1% раствор лидокаина гидрохлорида). С наружной стороны бедра, в области прохождения седалищного нерва, делали разрез кожи (1,5-2 см), выделяли нерв и выполняли иссечение его участка длиной 1 см. Рану ушивали с использованием шовного материала «Сургикрол» (Футберг, Беларусь) [10].

Экспериментальный артрит вызывали введением в полость голенопредплюсневое сустава задней правой лапы 4 мг зимозана А из *Saccharomyces cerevisiae*, растворенного в 50 мкл апиrogenного физиологического раствора [11].

Крысы с экспериментальной нейропатией ( $n=12$ ) и артритом ( $n=16$ ) исследуемые вещества получали на 7-е сут (100 мг/кг) после моделирования патологии.

Анализ полученных данных выполняли с помощью программы *Microsoft Excel* и представляли в виде среднего арифметического значения и его стандартной ошибки ( $M \pm m$ ). Графическую обработку прово-

дили в программе *OriginPro 7.0* (OriginLab Corp., США). Для сравнения двух зависимых выборок использовали тест Вилкоксона, а для двух и более независимых групп – непараметрический критерий Краскела-Уоллеса (Statistica 10.0). Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты

Внутрижелудочное введение ВЕА здоровым животным во всех исследуемых дозах не приводило к статистически значимым изменениям показателей ПНР ( $p > 0,05$ ). Значимых изменений ЛПНР у этих животных также не выявлено ( $p > 0,05$ ) (табл. 1).

СЕА в дозе 100 мг/кг вызывал снижение ноцицептивной чувствительности к механическому стимулу, что выражалось повышением ПНР с  $135,33 \pm 1,58$  до  $144,13 \pm 1,18$  г ( $p = 0,043$ ) для левой конечности, и с  $133,00 \pm 1,68$  до  $141,20 \pm 1,75$  г ( $p = 0,041$ ) – для правой. При этом чувствительность к действию термического стимула не выявлена ни для одной из изученных доз (табл. 2).

Результаты гематологических исследований показали, что однократное введение ВЕА и СЕА в тестируемых дозах здоровым животным не вызывает статистически значимых изменений изучаемых показателей крови по сравнению с группой животных, не получавших эти соединения.

При изучении биохимических показателей крови определено увеличение концентрации общего белка (TP) на 14-е сут после введения крысам ВЕА в дозах 5 мг/кг, 20 мг/кг и 100 мг/кг на 21,5% ( $p = 0,019$ ), 20,5% ( $p = 0,006$ ) и 24,6% ( $p = 0,003$ ) соответственно по сравнению с контрольной группой живот-

Таблица 1/Table 1

Изменение показателей ноцицептивной чувствительности задних конечностей у здоровых животных через 1 ч после введения ВЕА, ( $M \pm m$ )  
 Changes in nociceptive sensitivity of the hind limbs in healthy animals one hour after the introduction of BEA, ( $M \pm m$ )

Группа/ Group	5 мг/кг/5 mg/kg		20 мг/кг/20 mg/kg		100 мг/кг/100 mg/kg	
	До введения/ Before introduction	После введения/ After the introduction	До введения/ Before introduction	После введе- ния/ After the introduction	До введения/ Before introduction	После введения/ After the introduction
ПНР (г)/TNR(g) левая лапа/left paw	132,78±0,75	138,94±1,97	136,67±1,73	143,39±1,43	130,61±1,20	134,94±0,90
ПНР (г)/TNR (g) правая лапа/ right paw	135,11±1,67	141,00±1,40	139,28±2,06	146,11±1,88	137,33±1,46	134,28±1,38
ЛПНР (с)/ LPNR (s)	24,55±1,61	27,54±1,05	25,91±2,98	25,38±2,36	26,77±0,99	27,93±1,81

Примечание. ПНР – порог ноцицептивной реакции; ЛПНР – латентный период ноцицептивной реакции.

Note. TNR – threshold of nociceptive reaction; LPNR – latent period of nociceptive response.

ных. Активность щелочной фосфатазы (ALP) по отношению к контролю снизилась в 1,9 раз ( $p=0,039$ ) при введении ВЕА в дозе 5 мг/кг и в 1,8 раз ( $p=0,037$ ) – в дозе 20 мг/кг. СЕА в дозе 100 мг/кг способствовал увеличению общего билирубина (Т.бил) в 1,9 раз ( $p=0,040$ ) и снижению уровня ALP в 2,4 раза ( $p=0,003$ ), активность аланинаминотрансферазы (ALT) при этом уменьшилась на 30,4% ( $p=0,018$ ) по отношению к их показателям в контроле. Остальные биохимические показатели крови при однократном введении исследуемых соединений не показали заметных отклонений по сравнению с контрольной группой животных (табл. 3).

Гиперпротеинемия и статистически значимое снижение активности ALP по сравнению с контролем у животных, получавших ВЕА во всех исследуемых дозах, а также повышение уровня общего билирубина, снижение активности ALT и ALP при однократном применении СЕА в дозе 100 мг/кг могут свидетельствовать о побочном действии исследуемых соединений на функциональную активность печени и почек. Последнее также подтверждено результатами гистологического исследования этих органов.

В печени крыс, получавших ВЕА в дозе 5 мг/кг, отмечено обычное строение без признаков дискомплексации балок, однако в цитоплазме клеток цен-

Таблица 2/Table 2

**Изменение показателей ноцицептивной чувствительности задних конечностей у здоровых животных через 1 ч после введения СЕА, (M ± m)**  
**Change in indicators of nociceptive sensitivity of the hind limbs in healthy animals one hour after injection of СЕА, (M ± m)**

Группа/Group	20 мг/кг/20 mg/kg		100 мг/кг/100 mg/kg	
	До введения/ Before introduction	После введения/ After the introduction	До введения/ Before introduction	После введения/ After the introduction
ПНР (г)/TNR (g) левая лапа/left paw	136,40±1,71	138,13±0,84	135,33±1,58	144,13±1,18*
ПНР (г)/TNR (g) правая лапа/ right paw	136,87±2,66	136,53±1,49	133,00±1,68	141,20±1,75*
ЛПНР (с)/ LPNR (s)	21,70±1,61	23,20±1,11	20,80±1,19	23,27±1,19

**Примечание.** \* –  $p<0,05$  по сравнению с показателями до введения вещества.

**Note.** \* –  $p<0.05$  compared to the values before the administration of the substance.

Таблица 3/Table 3

**Биохимические показатели крови разных групп здоровых животных после однократного введения ВЕА и СЕА, (M ± m)**  
**Biochemical blood parameters of different groups of healthy animals after a single injection of ВЕА and СЕА, (M ± m)**

Группа Group	Общий белок, г/л TP, g/l	Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/l	Креатинин, ммоль/л Creat., mmol/l	Общий билирубин, ммоль/л T.bil, mmol/l	АСТ, Е/л AST, E/l	ЩФ, Е/л ALP, E/l	АЛТ, Е/л ALT, E/l
Контроль/ control (n=9)	51,44±0,83	6,03±0,30	29,33±2,09	2,54±0,07	175,11±6,44	765,22±73,19	81,00±5,35
ВЕА 5 мг/кг, (n=6)	62,50±1,73*↑	6,88±0,28	36,67±0,49	2,22±0,15	162,33±6,48	408,67±39,05*↓	68,00±3,74
ВЕА 20 мг/кг, (n=6)	62,00±1,18*↑	6,14±0,17	34,83±0,70	2,85±0,17	147,17±9,72*	415,67±40,35*↓	63,50±2,53
ВЕА 100 мг/кг, (n=6)	64,17±0,75*↑	6,72±0,18	36,67±1,54	2,52±0,09	162,17±12,99	482,17±36,46	68,50±2,75
СЕА 20 мг/кг, (n=5)	56,00±1,30	5,13±0,17	30,00±1,10	4,66±0,91	182,00±9,78	419,80±22,57	58,80±3,76
СЕА 100 мг/кг, (n=5)	53,00±0,71	5,28±0,36	30,40±1,08	4,98±0,33*↑	175,60±9,36	315,80±20,68*↓	56,40±4,08*↓

**Примечание.** \* –  $p<0,05$  по сравнению с контрольной группой. ВЕА – бутаноилэтаноламид; СЕА – каприлоилэтаноламид

**Note.** \* –  $p<0,05$  compared to the control group. ВЕА – butanoylethanolamide, СЕА – caprinoylethanolamide.

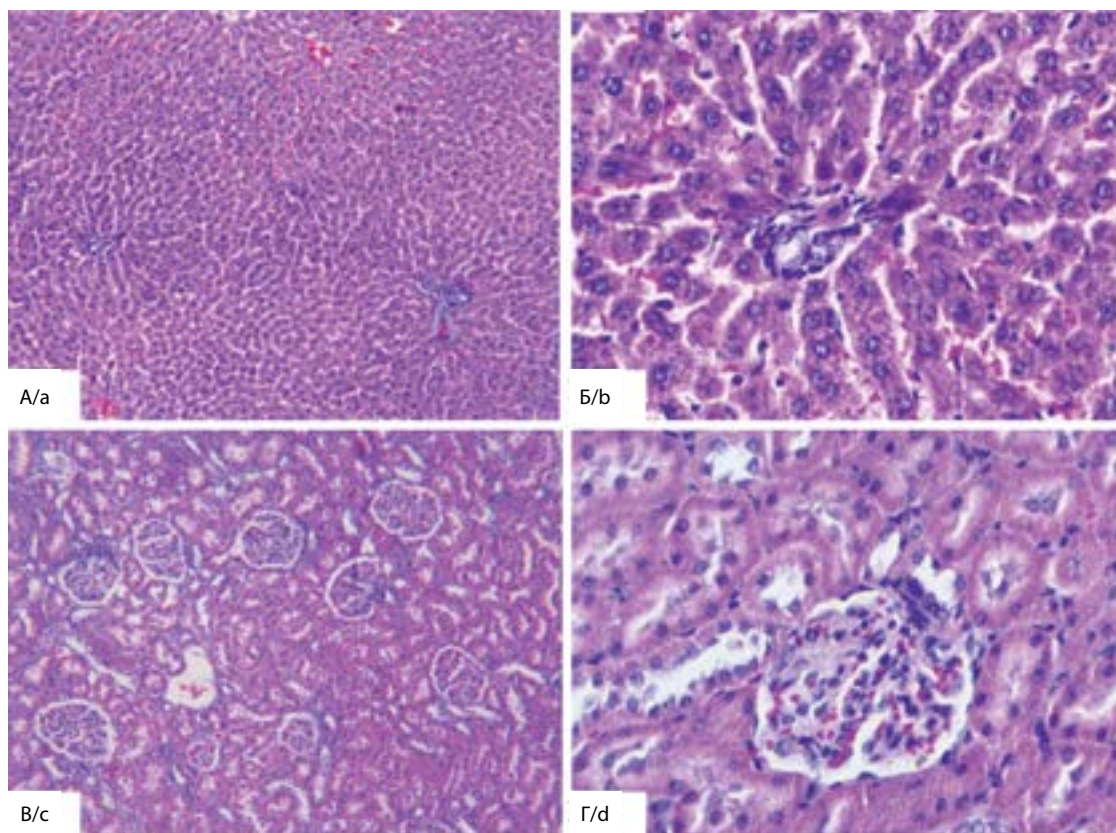
тра долек выявлена незначительная зернистая дистрофия. В отдельных случаях отмечали кровенаполнение синусоидов (рис. 1, А) и незначительное количество инфильтрата вокруг триад (рис. 1, Б). В почках обнаружена диффузная зернистая дистрофия эпителия проксимальных канальцев, при этом воспалительных изменений не выявлено (рис. 1, В, Г).

В анализируемых органах крыс после введения ВЕА в дозе 20 мг/кг выявлена незначительная зернистая дистрофия печени и диффузная белковая дистрофия эпителия проксимальных канальцев почек. На отдельных препаратах определяли уменьшение полости клубочков вплоть до спадения капилляров. После применения ВЕА в дозе 100 мг/кг, также отмечена зернистая дистрофия печени (рис. 2, А, Б). В почках обнаружена диффузная белковая дистрофия эпителия проксимальных канальцев и увеличение клубочков за счет утолщения базальной мембраны капилляров (рис. 2, В, Г)

После внутрижелудочного введения СЕА в дозе 20 мг/кг печень имела обычное строение, в цито-

плазме клеток центра долек определены незначительные изменения в виде зернистой дистрофии и инфильтрата вокруг триад. В почках отмечена диффузная зернистая дистрофия эпителия проксимальных канальцев. При увеличении дозы СЕА до 100 мг/кг в цитоплазме клеток печени отмечали очагово-диффузную мелкокапельную дистрофию гепатоцитов в сочетании с умеренно выраженной гиалиново-капельной дистрофией. Также выявлено незначительное количество инфильтрата вокруг триад и в расширенных синусоидах центральных частей долек (рис. 3, А, Б). В почках крыс этой группы большинство клубочков были средних размеров, полнокровны, некоторые увеличены в размерах за счет утолщения базальных мембран (пролиферация мезангиальных клеток) на светооптическом уровне, в просвете отдельных проксимальных канальцев определяли эозинофильные (розовые) гомогенные массы (рис. 3, В, Г).

Таким образом, однократное внутрижелудочное введение ВЕА независимо от дозы и СЕА



**Рис. 1.** Гистологическая картина печени (А, Б) и почек (В, Г) животных, получавших ВЕА в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 100 (А, В), ув. 400 (Б, Г); ВЕА — butanoylethanamide.

**Fig. 1.** Histological picture of the liver (a, b) and kidneys (c, d) of animals treated with BEA at a dose of 5 mg/kg. Hematoxylin and eosin staining, magn. ×100 (a, c), ×400 (b, d); BEA — butanoylethanamide.

в дозе 20 мг/кг вызывает слабые дистрофические изменения в печени и почках, однако увеличение дозы СЕА до 100 мг/кг приводит к умеренной степени выраженности данных изменений, что может свидетельствовать о дозозависимом побочном влиянии этих субстанций на структуру печени и почек, при этом воспалительных изменений в анализируемых органах не отмечено.

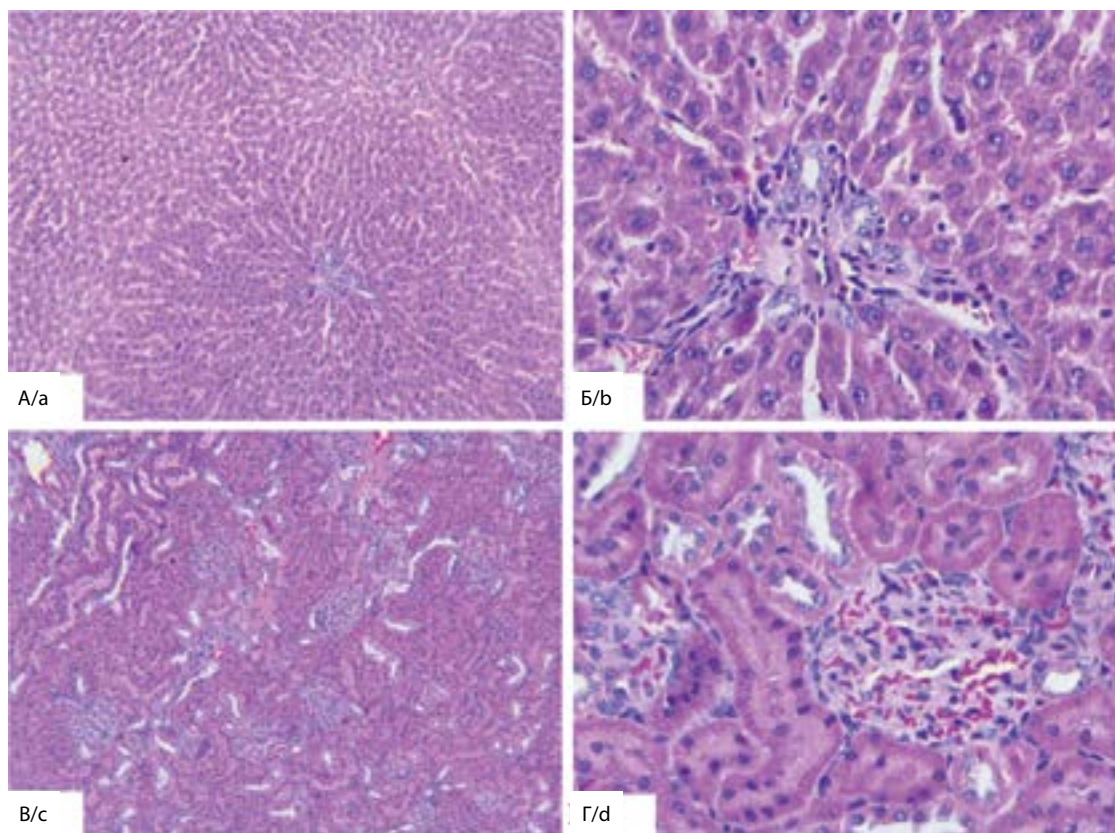
Перезрезка седалищного нерва способствовала развитию выраженной механической гипералгезии, что подтверждалось снижением значений ПНР ипсилатеральной конечности на 45,4% (с  $133,60 \pm 1,41$  г до  $72,93 \pm 3,62$  г;  $p=0,043$ ) к 7-м сут после операции (рис. 4). Показатели ПНР контралатеральной конечности, которая служила контролем, практически не изменились (с  $134,20 \pm 1,67$  г до  $134,07 \pm 1,95$  г;  $p=0,893$ ). Через 60 мин после введения ВЕА в дозе 100 мг/кг значения ПНР ипсилатеральной конечности повысились на 38,9% (до  $101,33 \pm 0,55$  г,  $p=0,0431$ ), а контралатеральной – не изменились.

Достоверных изменений ноцицептивной чувствительности к термическому стимулу не отмечено ( $p>0,05$ ) (рис. 5).

В группе животных с нейропатией, получавших СЕА в дозе 100 мг/кг, через 60 мин после введения ПНР ипсилатеральной конечности повысился на 16,8% (до  $110,38 \pm 1,99$  г,  $p=0,018$ ). Статистически значимых изменений ПНР контралатеральной конечности не выявлено ( $p>0,05$ ) (рис. 4).

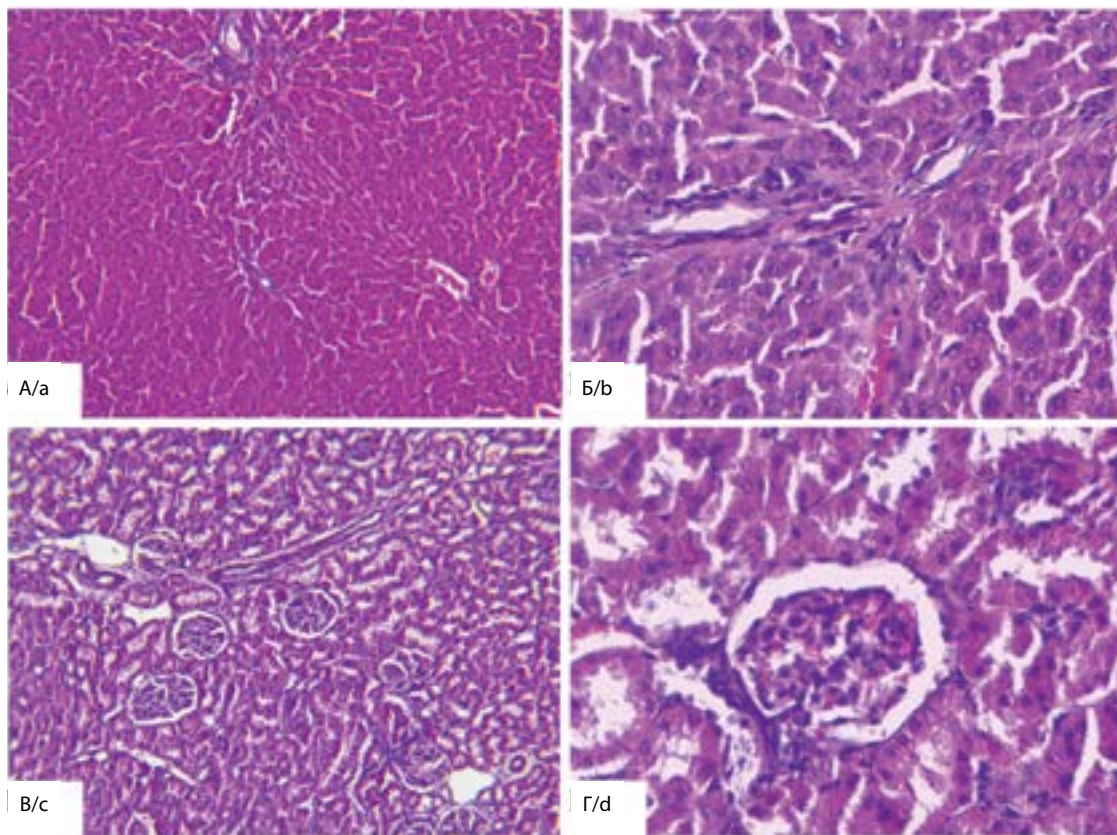
ЛПНР у крыс этой группы на 7-е сутки после операции снизился на 33,1% (с  $25,72 \pm 1,92$  до  $17,20 \pm 0,98$  с,  $p=0,0179$ ), а введение СЕА на этом фоне способствовало увеличению его значений на 27,2% (до  $21,88 \pm 0,97$  г,  $p=0,0425$ ) (рис. 5).

Введение зимозана в полость голеностопного сустава правой лапы вызвало развитие отека, гиперемии сустава и стопы в целом и привело к увеличению чувствительности к механическому и термическому стимулам. Показатели ПНР ипсилатераль-



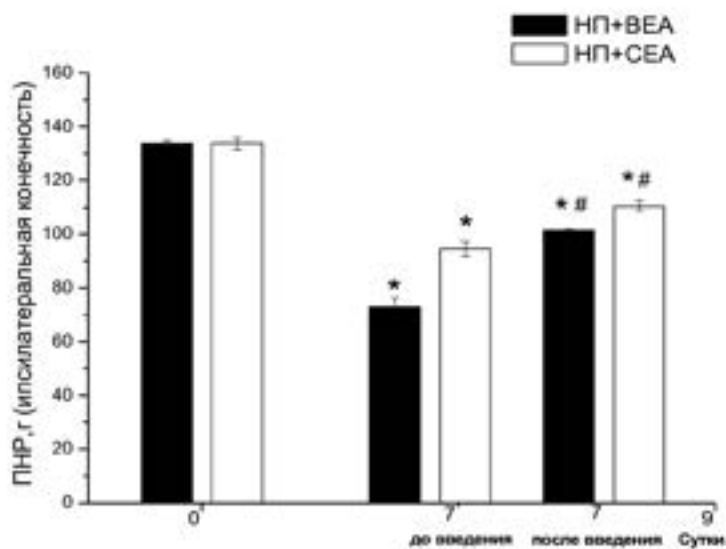
**Рис. 2.** Гистологическая картина печени (А, Б) и почек (В, Г) животных, получавших ВЕА в дозе 100 мг/кг; окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$  (А, В),  $\times 400$  (Б, Г).

**Fig. 2.** Histological picture of the liver (a, b) and kidneys (c, d) of animals treated with BEA at a dose of 100 mg/kg; hematoxylin and eosin staining,  $\times 100$  (a, c),  $\times 400$  (b, d).



**Рис. 3.** Гистологическая картина печени (А, Б) и почек (В, Г) животных, получавших СЕА в дозе 100 мг/кг; окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$  (А, В),  $\times 400$  (Б, Г); СЕА – caprinylethanolamide.

**Fig. 3.** Histologic picture of the liver (a, b) and kidneys (c, d) of animals treated with CEA at a dose of 100 mg/kg; hematoxylin and eosin staining,  $\times 100$  (a, c),  $\times 400$  (b, d); CEA – caprinylethanolamide.



**Рис. 4.** Изменение ноцицептивной чувствительности ипсилатеральной конечности у животных с нейропатией после введения ВЕА и СЕА. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с показателями до моделирования нейропатии (0 сутки); # –  $p < 0,05$  по сравнению с моделью нейропатии (до введения субстанций); ВЕА – butanylethanolamide; СЕА – caprinylethanolamide.

**Fig. 4.** Changes in nociceptive sensitivity of the ipsilateral limb in animals with neuropathy after administration of BEA and CEA. \* –  $p < 0.05$  compared to the values before the modeling of neuropathy (0 day); # –  $p < 0.05$  compared to the model of neuropathy (before substance administration); BEA — butanylethanolamide; CEA — caprinylethanolamide.



ной конечности в этой группе на 7-е сут уменьшились на 32,4% (с 128,25±0,75 г до 86,71±2,58 г,  $p=0,012$ ), а контралатеральной – на 10,8% (с 128,71±1,28 г до 114,83±1,39 г,  $p=0,011$ ). Через 60 мин после введения ВЕА ПНР ипсилатеральной конечности повысился на 17,0% (до 101,41±1,71 г,  $p=0,012$ ). Значения ПНР контралатеральной конечности при этом снизились до 116,33±2,03 г ( $p=0,779$ ) (рис. 6).

Показатели ЛПНР у этих животных на 7-е сут после индукции артрита снизились на 18,2% (с 20,43±0,45 с до 16,71±0,47 с,  $p=0,011$ ), введение ВЕА не вызвало достоверных изменений исследуемого показателя (снижение до 17,66±0,59,  $p=0,67$ ) по сравнению с его значениями до введения вещества (рис. 7).

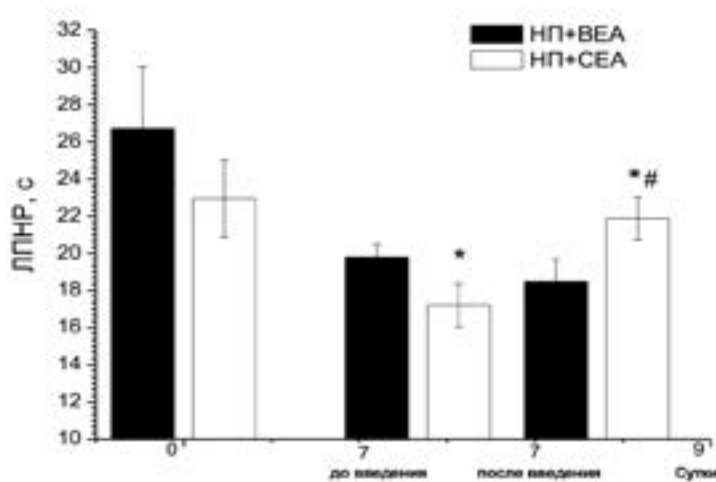
В экспериментальной группе животных, получавших СЕА, ПНР ипсилатеральной конечности

на 7-е сутки после индукции артрита снизился на 44,7% (с 127,75±1,33 г до 70,67±1,47 г,  $p=0,012$ ), а контралатеральной – на 25,0% (с 128,28±1,34 г до 95,54±2,10 г,  $p=0,011$ ). Введения СЕА способствовало повышению ПНР ипсилатеральной конечности на 38,4% (до 97,83±1,55 г,  $p=0,012$ ), а контралатеральной – до 110,13±2,67 г,  $p=0,012$ ) (рис. 8).

ЛПНР в данной группе животных на 7-е сут снизился на 18,8% (с 20,33±1,09 до 16,50±1,23;  $p=0,069$ ) по сравнению с показателями до инъекции зимозана, а через 60 мин после введения СЕА его значения увеличились на 43,9% (до 23,74±1,29,  $p=0,012$ ) (рис. 7).

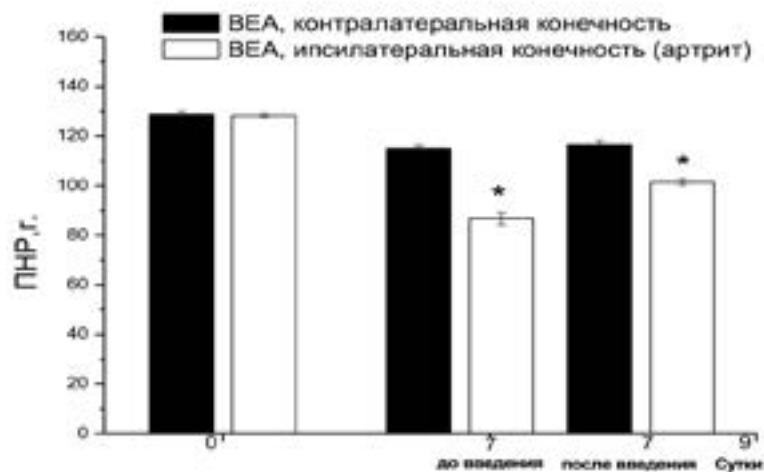
**Обсуждение**

Исследуемые субстанции (ВЕА и СЕА) являются производными РЕА – эндогенного амида жирных кис-



**Рис. 5.** Изменение значений ЛПНР у животных с нейропатией после введения ВЕА и СЕА. \* –  $p<0,05$  по сравнению с показателями до моделирования артрита; # –  $p<0,05$  по сравнению с артритом (до введения субстанций).

**Fig. 5.** Changes in LPNR values in animals with neuropathy after administration of BEA and CEА. \* –  $p<0,05$  compared to the values before the modeling of arthritis; # –  $p<0,05$  compared with arthritis (before substance administration).



**Рис. 6.** Изменение ПНР у животных с артритом после введения ВЕА. \* –  $p<0,05$  по сравнению с показателями до моделирования артрита.

**Fig. 6.** Changes in NRT in animals with arthritis after ВЕА administration. \* –  $p<0,05$  compared to the values before the modeling of arthritis.

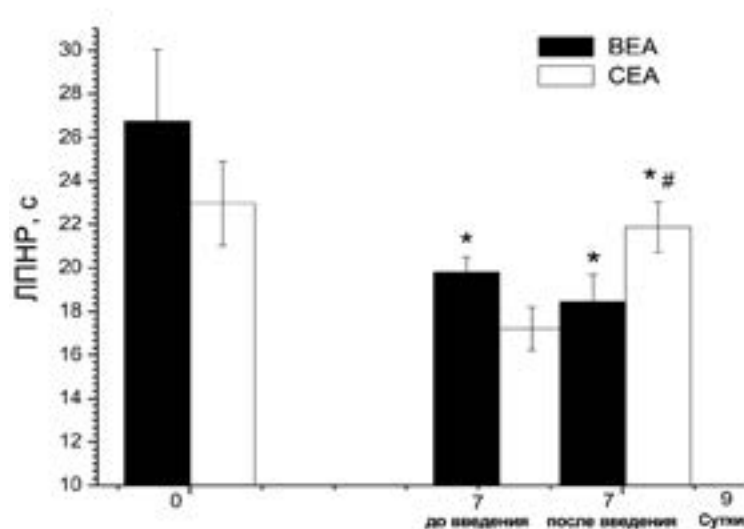
лот, терапевтические эффекты и механизмы действия которого изучены и описаны в научной литературе [1, 2, 4, 5]. Сведения о путях реализации лечебного потенциала изучаемых нами соединений в литературе практически отсутствуют. Поэтому интерпретировать полученные результаты возможно опираясь на доступные в литературе данные и сходство исследуемых субстанций с РЕА.

Установленные противовоспалительный и антиноцицептивный эффекты ВЕА и СЕА, по аналогии с РЕА, могут быть обусловлены несколькими механизмами действия. Исследуемые соединения, вероятно, могут снижать миграцию и дегрануляцию тучных клеток, а также подавлять активность провоспалительных цитокинов, COX-2, TNF- $\alpha$  и iNOS, тем самым

понижая повышенную за счет воспалительных каскадов ноцицептивную чувствительность.

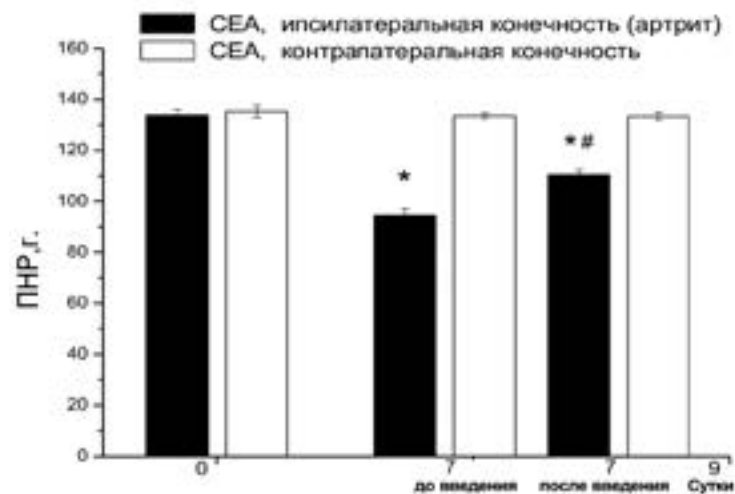
Кроме того, изучаемые нами субстанции, подобно РЕА, способны опосредованно активировать каннабиноидные рецепторы (CB1 и CB2) путем ингибирования деградации (РЕА является субстратным конкурентом АЕА для гидролазы амидов жирных кислот) анандамида – эндогенного лиганда с доказанными анальгезирующим и антиинфламаторным эффектами.

Реализация антиноцицептивного действия ВЕА и СЕА, также возможна путем прямого влияния на ядерные PPAR- $\alpha$  рецепторы либо связанные с G-белком орфанные рецепторы (GPR55), или за счёт активации ваниллоидных рецепторов 1 типа (TPRV1).



**Рис. 7.** Изменение ЛПНР у животных с артритом после введения ВЕА и СЕА. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с показателями до моделирования артрита; # –  $p < 0,05$  по сравнению с артритом (до введения субстанций).

**Fig. 7.** Changes in LPNR in animals with arthritis after administration of BEA and CEA. \* –  $p < 0.05$  compared to the values before the modeling of arthritis; # –  $p < 0.05$  compared to arthritis (before substance administration).



**Рис. 8.** Изменение ПНР у животных с артритом после введения СЕА. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с показателями до моделирования артрита; # –  $p < 0,05$  по сравнению с моделью артрита (до введения вещества).

**Fig. 8.** Changes of NRT in animals with arthritis after CEA injection. \* –  $p < 0.05$  compared to the values before the modeling of arthritis; # –  $p < 0.05$  compared to the arthritis model (before substance administration).

Экспрессия болевых рецепторов усиливается при патологических процессах и состояниях, а исследуемые субстанции являются производными эндогенных амидов жирных кислот, которые синтезируются «по требованию» в ответ на повреждение, что объясняет способность ВЕА и СЕА подавлять гипералгезию при моделировании воспалительной и нейропатической боли и отсутствие влияния указанных соединений на показатели ноцицепции у здоровых животных.

### Заключение

Исследование на здоровых животных показало, что внутрижелудочное однократное введение бутаноилэтаноламида во всех тестируемых дозах не влияет на чувствительность к ноцицептивным стимулам. Каприлоилэтаноламид в дозе 100 мг/кг вызывает слабый антиноцицептивный эффект в ответ на механическое воздействие. Биохимические показатели крови и результаты гистологического исследования свидетельствуют о наличии изменений функциональной активности печени и почек у экспериментальных животных в зависимости от дозы исследуемых субстанций.

Исследования, проведенные при моделировании нейропатии и артрита, указывают на анальгетический эффект бутаноилэтаноламида и каприлоилэтаноламида в дозе 100 мг/кг, который, предположительно, может реализовываться посредством либо прямого действия на рецепторы PPAR- $\alpha$  и GPR55, либо опосредованного влияния на рецепторы CB1, CB2 и TRPV1, а также ингибирования активации тучных клеток — аутоагонистического локального воспалительного антагонизма.

Таким образом, полученные результаты позволяют рассматривать изучаемые субстанции в качестве новых перспективных компонентов анальгетических средств, альтернативных РЕА.

### Литература

(п.п. 1-2; 5; 8-11 см. References)

3. Молчанова А.Ю., Жаворонок И.П., Пехтерева Е.И., Антипова О.А., Мелик-Касумов Т.Б., Павлють Т.О. и др. Антиноцицептивный эффект системного введения пальмитоилэтаноламида, стеарилоилэтаноламида и диклофенака натрия у крыс с экспериментальным нейрогенным болевым синдромом. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук*. 2018; 15(3): 331-8. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-331>
4. Молчанова А. Ю. *Эндоканнабиноидная система: физиология, патофизиология, терапевтический потенциал*. Минск: Беларуская навука. 2015.
6. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. Пер. с англ. под ред. И.В. Белозерцевой,

Д.В. Блинова, М.С. Красильщиковой. 8-е изд. М.: ИРБИС; 2017. DOI: 10.17226/12910

7. Об утверждении ветеринарно-санитарных правил по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станциях, лабораториях, учебных заведениях, а также в питомниках: постановление М-ва сельск. х-ва и продовольствия Респ. Беларусь, 21 мая 2010 г., № 36. Available at: <https://mshp.gov.by/documents/technical-acts/cb5d27ea51a49bea.html> (Accessed 22 September 2022).

### References

1. Ezzili C., Otrubova K., Boger D.L. Fatty acid amide signaling molecule. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010; 20 (20): 5959-68. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.08.048>
2. Esposito E., Cuzzocrea S. Palmitoylethanolamide is a new possible pharmacological treatment for the inflammation associated with trauma. *Mini Rev Med Chem.* 2013; 13(2): 237-55. DOI:10.2174/1389557511313020006
3. Molchanova A.Ju., Zhavoronok I.P., Pehtereva E.I., Antipova O.A., Melik-Kasumov T.B., Pavljut' T.O., et al. Antinociceptive effect of systemic administration of palmitoylethanolamide, stearoylethanolamide and sodium diclofenac in rats with experimental neurogenic pain syndrome. *Izvestiya Natsional'noy akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk*. 2018; 15(3): 331-8. (in Russian) <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-331>
4. Molchanova A.Ju. *Endocannabinoid system: physiology, pathophysiology, therapeutic potential. [Endokannabinojdная sistema: fiziologiya, patofiziologiya, terapevticheskiy potentsial]*. Minsk: Belaruskaya navuka. 2015. (in Russian)
5. Lambert D.M., Vandevoorde S., Jonsson K.O., Fowler C.J. The palmitoylethanolamide family: a new class of anti-inflammatory agents? *Curr Med Chem.* 2002; 9(6): 663-74. DOI: 10.2174/0929867023370707
6. *Guidelines for the maintenance and use of laboratory animals. [Rukovodstvo po sodержaniyu i ispol'zovaniyu laboratornykh zhivotnykh]*. Transl. from Engl., ed. I.V. Belozercevoj, D.V. Blinova, M.S. Krasil'shnikovoj. 8-e izd. M.: IRBIS; 2017. DOI: 10.17226/12910
7. On the approval of the veterinary and sanitary rules for the reception, care and dissection of experimental animals in vivariums of research institutes, stations, laboratories, educational institutions, as well as in nurseries: resolution of the Ministry of Agriculture. x-va and food Rep. Belarus, 21 May 2010, № 36. Available at: <https://mshp.gov.by/documents/technical-acts/cb5d27ea51a49bea.html> (Accessed 22 September 2022).
8. Santos-Nogueira E., Castro E.R., Mancuso R., Navarro X. Randall-Selitto test: a new approach for the detection of neuropathic pain after spinal cord injury. *J. Neurotrauma*. 2012; 29(5): 898-904. DOI: 10.1089/neu.2010.1700
9. Menendez L., Lastra A., Hidalgo A., Baamonde A. Unilateral hot plate test: a simple and sensitive method for detecting central and peripheral hyperalgesia in mice. *J. of Neurosci. Meth.* 2002; 113(1): 91-7. DOI: 10.1016/s0165-0270(01)00483-6
10. Jaggi A.S., Jain V., Singh N. Animal models of neuropathic pain. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2011; 25(1): 1-28. doi: 10.1111/j.1472-8206.2009.00801.x
11. Castano A.P., Dai T., Yaroslavsky I., et al. Low-level laser therapy for zymosan-induced arthritis in rats: Importance of illumination time. *Lasers Surg Med.* 2007; 39(6): 543-50. DOI: 10.1002/lsm.20516

**Сведения об авторах:**

**Счастливая Надежда Ивановна**, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., лаб. модуляции функций организма Института физиологии НАН Беларуси, e-mail: nadezhda.schastnaya@yandex.by;

**Жаворонок Ирина Петровна**, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., лаб. модуляции функций организма Института физиологии НАН Беларуси, e-mail: iri8308@yandex.ru;

**Доронкина Анастасия Сергеевна**, аспирант, мл. науч. сотр., лаб. модуляции функций организма Института физиологии НАН Беларуси e-mail: doronkina\_nastasya1995@mail.ru;

**Кукса Марина Сергеевна**, мл. науч. сотр., лаб. модуляции функций организма Института физиологии НАН Беларуси;

**Филатова Дарья Владимировна**, аспирант, мл. науч. сотр., лаб. «Центр световой и электронной микроскопии» Института физиологии НАН Беларуси;

**Чудиловская Екатерина Николаевна**, науч. сотр., многопрофильная диагностическая лаб. Института физиологии НАН Беларуси, e-mail: e.chudilovskaya@gmail.com;

**Лисовская Марина Владимировна**, мл. науч. сотр., лаб. химии липидов Института биоорганической химии НАН Беларуси;

**Михальчук Александр Леонидович**, канд. хим. наук, вед. науч. сотр., зав. лаб. химии липидов Института биоорганической химии НАН Беларуси, e-mail: lipmal@iboch.by;

**Молчанова Алла Юрьевна**, канд. биол. наук, вед. науч. сотр., зав. лаб. модуляции функций организма Института физиологии НАН Беларуси, e-mail: alla@fizio.bas-net.by