

РОЛЬ ВАНІЛОЇДНОГО КОМПОНЕНТА В АНТИНОЦИЦЕПТИВНІЙ
ДІЇ КЕТОРОЛАКУ

Було досліджено вплив неопіоїдного аналгетика кеторолаку на TRPV1 на моделі спінальної ноцицептивної стимуляції "tail-flick" і супраспінальної аналгезії "Hot plate". Виявлено помірну модуляцію капсаїцином антиноцицептивного ефекту кеторолаку на моделі "гаряча пластина" і відсутність ефекту при експериментальному запаленні. Показано вплив капсаїцину на антиноцицептивні ефекти кеторолаку на моделі "tail-flick".

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кеторолак, капсаїцин, капсазепін, ванілоїдний рецептор TRPV1.

ВСТУП. Проблема фармакотерапії болю важлива й актуальна. На сьогодні немає аналгетичного засобу, який би оптимально відповідав вимогам клініки. Наркотичні аналгетики, незважаючи на їх високу ефективність, застосовують обмежено через здатність викликати фізичну та психічну залежність. Ненаркотичні знеболювальні засоби, як правило, ефективні при слабкому та помірному болю, хоча й можуть проявляти високу ефективність при окремих видах болю. Крім того, вони мають певні обмеження в застосуванні через свої побічні ефекти. Введення в медичну практику нових знеболювальних засобів (вибіркові інгібітори ЦОГ-2, флупертин, нефопам та ін.) зробило значний прогрес у знеболюванні, однак ця проблема все ще далека від вирішення.

Одним із шляхів вирішення проблеми знеболювання є оптимізація застосування вже широко відомих аналгетичних засобів шляхом поглибленого вивчення особливостей їх фармакодинаміки і токсичності. Детальне вивчення механізмів знеболювальної дії, поряд з поглибленою інформацією про нозологію, дає можливість знайти основний препарат для лікування певного больового синдрому. Наприклад, широко відомий нестероїдний протизапальний препарат "Індометацин", який на сьогодні є основним засобом для лікування пароксизмальних гемікраній [1]. Одним із підходів до вивчення фармакодинаміки аналге-

© О. Є. Ядловський, Т. А. Бухтіарова, 2012.

тика є оцінка його рецепторної дії. Ванілоїдний рецептор (TRPV1) – один зі специфічних іонних каналів, що відіграє значну роль у процесах болю, а також у процесах запалення [7, 8]. Значну кількість TRPV1 виявлено як у ноцицептивних нейронах периферичної нервової системи (на всьому протязі від периферичного нервового закінчення до центрального відрізка), так і в центральній нервовій системі [7, 8]. TRPV1 відіграє значну роль як у передачі та модуляції болю, так і в інтеграції різних больових стимулів.

Кеторолак на сьогодні є одним з найбільш ефективних ненаркотичних аналгетиків. Аналізуючи структуру кеторолаку та агоніста TRPV1 капсаїцину, нами було виявлено спільні структурні фрагменти між цими молекулами, що не виключає здатності препарату впливати на TRPV1. В попередніх наших дослідженнях у дослідах *in vitro* оцінено здатність кеторолаку впливати на TRPV1 ворітної вени [4].

Метою даної роботи було оцінити наявність ванілоїдного компонента в аналгетика в експериментах *in vivo*.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження виконано на білих статевозрілих нелінійних щурах масою 160–180 г і білих нелінійних мишах масою 18–22 г розведення віварію Інституту фармакології та токсикології АМН України. Тварини перебували на стандартному харчовому раціоні згідно із санітарно-

гігієнічними нормами. Усі дослідження проводили відповідно до методики і вимог ЕЦ МОЗ України та правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [3].

У дослідженні використовували агоніст TRPV1 капсаїцин (Sigma) та його антагоніст капсазепін (Sigma). В експерименті застосували метод фармакологічного аналізу, для чого аналізатор вводили до чи після введення аналгетика. Аналгезивну активність оцінювали на термічних моделях ноцицептивної стимуляції “гаряча пластина” і “tail-flick” [5, 6].

В експерименті на моделі “гаряча пластина” досліджували речовини використовували у дозах: капсаїцин – 5 мг/кг підшкірно, кеторолак – 0,7 мг/кг внутрішньом’язово. Експеримент виконували за схемою: 1. Введення аналізатора, через 5 хв препарату. Вимірювання проводили через 15, 30, 60 хв після введення аналізатора. 2. Введення препарату, через 5 хв аналізатора. Вимірювання – через 15, 30, 60 хв після введення препарату. Знеболювальну активність оцінювали за зміною латентного періоду “облизування” лапки. В окремій групі дослідів оцінювали вплив капсаїцину на антиноцицептивний ефект аналгетиків у тварин із запаленням, яке моделювали шляхом субплантарного введення 10 % розчину каоліну в об’ємі 0,02 мл на мишу [4]. Експеримент проводили на приладі “Hot plate”, для чого відбирали тварин, в яких латентний період реакції “облизування” лапки не перевищував 20 с. Після цього у мишей моделювали експериментальне запалення. Через 24 год у піддослідних мишей вивчали рівень ноцицепції. Аналізатор та аналгетик вводили у дозах: капсаїцин – 5 мг/кг підшкірно, кеторолак – 0,7 мг/кг внутрішньом’язово. Експеримент виконували за схемою: 1. Введення аналізатора, через 5 хв препарату. Вимірювання – через 15, 30, 60 хв після введення аналізатора. 2. Введення препарату, через 5 хв аналізатора. Вимірювання – через 15, 30, 60 хв після введення препарату.

В експерименті на моделі “tail-flick” досліджували речовини використовували у дозах ED_{50} : капсаїцин – 10 мг/кг підшкірно, капсазепін – 1 мг/кг внутрішньочеревно, кеторолак – 3 мг/кг внутрішньом’язово. Експеримент виконували за схемою: 1. Введення аналізатора, через 5 хв препарату. Вимірювання – через 15, 30, 60 хв після введення аналізатора. 2. Введення препарату, через 5 хв аналізатора. Вимірювання – через 15, 30, 60 хв після введення препарату. Антиноцицептив-

ний ефект оцінювали за зміною латентного періоду відсмикування хвоста від інфрачервоного джерела тепла.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням критерію Стьюдента і непараметричних критеріїв – метод знаків [2]. Відмінності вважали достовірними при рівні $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для вивчення ванілоїдного компонента дії кеторолаку було обрано моделі термічної ноцицептивної стимуляції “tail-flick” та “гаряча пластина”. Модель “tail-flick” характеризує спінальний рівень ноцицепції та адекватна для використання, оскільки спінальні нейрони відіграють важливу роль у проведенні болювого збудження. Слід зазначити, що у спінальних нейронах міститься велика кількість TRPV1. Модель “гаряча пластина” характеризує супраспінальний рівень ноцицепції. Відомо, що значна кількість TRPV1 міститься і в головному мозку тварин, що повинно відігравати певну роль у регуляції болю. В окремих дослідях було оцінено вплив кеторолаку на TRPV1 при запаленні, оскільки відомо, що аферентні нейрони, що експресують TRPV1, продукують субстанцію P – один із медіаторів запалення [3]. Отримані результати наведено в таблицях 1–3.

На моделі ноцицептивної стимуляції “гаряча пластина” кеторолак проявляв суттєвий антиноцицептивний ефект, що виникав уже через 15 хв після введення препарату. Збільшення латентного періоду реакції у піддослідних тварин складало +83,33 % (табл. 1).

Попереднє введення кеторолаку призводило до значного збільшення латентного періоду реакції у тварин. Антиноцицептивний ефект у відповідні терміни спостереження зростав у 1,3–4 рази (табл. 1). Попереднє введення капсаїцину перед аналгетиком також викликало збільшення латентного періоду реакції, однак на дещо нижчому рівні. Слід відмітити той факт, що відмінності між цими групами були недостовірні. Максимум антиноцицептивного ефекту проявлявся через 30 хв після початку експерименту, що збігається з динамікою розвитку ефекту як кеторолаку, так і капсаїцину.

При експериментальному моделюванні реакції запалення (каоліновий набряк), застосуванні кеторолаку, в експерименті проявлялась достовірною активністю, що можна пояснити значною протизапальною дією препарату. Латентний період реакції зростав до +115,11 % на 15 хв експерименту і до +170,33 % через 60 хв. При введенні аналізатора як до,

так і після введення препарату суттєвих змін у розвитку антиноцицептивної активності кеторолаку не спостерігалось. Винятком є 60 хв експерименту при використанні схеми кеторолак+капсаїцин, однак ці відмінності не вірогідні. Максимальний ефект проявлявся через 30 хв (табл. 2). Аналізуючи отримані експериментальні дані, можна говорити про помірну модуляцію капсаїцином антиноцицептивного ефекту кеторолаку в інтактних тварин на моделі "гаряча пластина". При експериментальному запаленні (каоліновий набряк) ванілоїдний компонент фармакологічної дії кеторолаку, найімовірніше, відсутній, оскільки не спостерігається потенціювання або зниження його ефекту.

Кеторолак проявляв антиноцицептивну активність на моделі "tail-flick". Введення препарату викликало знеболювальний ефект, максимум якого проявлявся вже через 30 хв (табл. 3).

При введенні антагоніста TRPV1 капсаїцину в перші 15 хв не спостерігалось вірогідних змін латентного періоду реакції порівняно з вихідним значенням. На 60 хв латентний період реакції достовірно збільшувався до +54,85 %, що можна пояснити блокуючою дією аналізатора на рецептор.

Застосування схеми кеторолак+капсаїцин викликало значне збільшення латентного періоду реакції, максимум якого припадав на 30 хв (+138,7 %) після початку експерименту.

Таблиця 1 – Вплив капсаїцину на антиноцицептивну активність кеторолаку при одноразовому внутрішньом'язовому введенні на моделі "гаряча пластина" (n=6)

Період спостереження	Вихід.	15 хв	30 хв	60 хв	90 хв	120 хв
Група	Латентний період реакції, с					
Кеторолак	8,1±3,1	14,37±2,58	14,85±4,83	14,17±6,13	12,26±6,60	10,5±1,27
Зміни до вихід., %	–	+77,41 %	+83,33 %*	+77,94 %	+51,36 %	+29,63 %
Капсаїцин	12,08±1,45	13,97±5,04	14,5±5,13	23,7±6,85	19,78±5,25	16,12±5,94
Зміни до вихід., %	–	+15,64 %	+20,03 %	+96,19 %*	+63,74 %	+33,44 %
Кеторолак+капсаїцин	13,75±1,95	60±0	47,8±19,21	27,57±8,48	38,36±13,36	28,53±7,33
Зміни до вихід., %	–	+336,2 %***	+247,6 %**	+100,51 %*	+178,9 %*	+107,49 %**
Капсаїцин+кеторолак	9,7±1,47	34,6±9,16	22,25±9,75	20,92±5,0	23,97±4,34	15,94±4,33
Зміни до вихід., %	–	+256,7 %**	+129,4 %	+115,67 %**	+147,11 %**	+64,33 %

Примітка * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

Таблиця 2 – Вплив капсаїцину на антиноцицептивну активність кеторолаку при одноразовому внутрішньом'язовому введенні на моделі "гаряча пластина" у мишей з каоліновим набряком (n=6)

Період спостереження	Вихід. 1 ¹	Вихід. 2 ²	15 хв	30 хв	60 хв
Група	Латентний період реакції, с				
Кеторолак	14,72±2,53	8,36±2,97	18,0±6,94	21,1±5,71	22,6±3,6
Зміни до вихід. 2, %	–	–	+115,11 %	+152,9 %*	+170,33 %**
Капсаїцин	13,5±4,46	7,11±3,11	4,06±1,7	5,96±0,61	8,38±0,41
Зміни до вихід. 2, %	–	–	-42,9 %	-16,2 %	+17,2 %
Кеторолак+капсаїцин	16,2±2,83	8,46±3,06	19,11±1,72	19,38±3,01	14,66±3,5
Зміни до вихід. 2, %	–	–	+125,8 %**	+129,1 %*	+73,2 %
Капсаїцин+кеторолак	14,32±0,99	8,34±3,76	19,76±6,7	21,32±7,1	22,76±5,11
Зміни до вихід. 2, %	–	–	+136,9 %	+155,6 %*	+172,9 %*

Примітки:

1. Вихід. 1¹ – латентний період до моделювання каолінового набряку; Вихід 2² – латентний період через 24 год після моделювання каолінового набряку.

2. * – p<0,05 – достовірні зміни відносно Вихід. 2.

Таблиця 3 – Вплив капсаїцину та капсазепіну на антиноцицептивну активність кеторолаку при одноразовому внутрішньом'язовому введенні на моделі "tail-flick" (n=5)

Період спостереження	Вихід.	15 хв	30 хв	60 хв
Група	Латентний період реакції, с			
Кеторолак	3,44±0,42	4,4±0,82	5,01±0,71	3,8±0,56
Зміни до вихід., %	–	+27,9 %*	+46,5 %*	+10,4 %
Капсаїцин	3,24±0,97	2,7±0,43	2,78±1,44	3,22±0,84
Зміни до вихід., %	–	-16,6 %	-14,19 %	-0,61 %
Кеторолак+капсаїцин	3,82±0,83	6,24±1,72	9,12±4,1	6,86±4,8
Зміни до вихід., %	–	+78,2 %*	+138,7 %*	+79,5 %
Капсаїцин+кеторолак	4,12±1,61	7,8±3,7	7,8±3,88	5,48±1,37
Зміни до вихід., %	–	+89,3 %*	+89,3 %*	+31,06 %*
Капсазепін	4,74±1,51	4,56±1,53	5,22±1,23	7,34±0,61
Зміни до вихід., %	–	-3,8 %	+10,12 %	+54,85 %*
Кеторолак+капсазепін	4,74±1,08	7,74±1,08	6,7±1,52	5,28±0,63
Зміни до вихід., %	–	+63,2 %*	+41,4 %*	+11,04 %
Капсазепін+кеторолак	5,14±1,04	7,78±1,37	6,70±1,49	6,3±1,1
Зміни до вихід., %	–	+51,36 %*	+30,5 %*	+22,7 %

Примітка. * – p<0,05 (непараметричні критерії, метод знаків).

Використання аналізатора і препарату в комбінації капсаїцин+кеторолак також спричиняло збільшення латентного періоду реакції, однак на дещо нижчому рівні (+89,3 %).

Введення антагоніста TRPV1 на фоні кеторолаку (як у схемі капсазепін+кеторолак, так і в схемі кеторолак+капсазепін) не викликало кардинальних змін порівняно з індивідуальним застосуванням кеторолаку (табл. 3).

Аналізуючи вищенаведені дані, можна говорити про вплив капсаїцину на антиноцицептивні ефекти кеторолаку і відсутність модуляції ефектів аналгетика з боку капсазепіну на моделі ноцицептивної стимуляції "tail-flick".

ВИСНОВКИ. 1. Виявлено помірну модуляцію капсаїцином антиноцицептивного ефекту кеторолаку в інтактних тварин на моделі "гаряча пластина".

2. При експериментальному запаленні ванілоїдний компонент фармакологічної дії кеторолаку, найімовірніше, відсутній, оскільки не спостерігається потенціювання або зниження його ефекту.

3. Показано вплив капсаїцину на антиноцицептивні ефекти кеторолаку і відсутність модуляції ефектів аналгетика з боку капсазепіну на моделі ноцицептивної стимуляції "tail-flick".

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Каннер Р. Секреты лечения боли / Р. Каннер. – М. : БИНОМ, 2006. – 400 с.
2. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабиц. – К. : Морион, 2002. – 640 с.
3. Миронов Н. Ю. Ванилоидные рецепторы: структура, участие в регулировании функций организма, терапевтический потенциал / Н. Ю. Миронов, В. В. Чурюканов // Экспер. и клин. фармакология. – 2006. – **69**, № 5. – С. 55–69.
4. Порівняльне дослідження впливу піродазолу, парацетамолу та кеторолаку на ванілоїдний рецептор TRPV1 / І. Л. Мончак, О. Є. Ядловський, Т. А. Бухтіарова, А. І. Соловйов // Фармакологія та лікарська Токсикологія. – **20**, № 1. – С. 35–39.

5. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств : методические рекомендации / А. В. Стефанов. – К. : Авицена, 2002. – 568 с.
6. D'Amoue F. E. A method for determining lose of pain sensation / F. E. D'Amoue, D. L. Smalh // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1941. – **72**. – P. 74.
7. Dissection of the components for PIP2 activation and thermosensation in TRP channels / S. Brauchi, G. Orta, C. Mascayano [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2007. – **104**, № 24. – P 10246–10251.
8. TRPV1 receptors in the CNS play a key role in broad-spectrum analgesia of TRPV1 antagonists / M. Cui, P. Honore, C. Zhong [et al.] // J. Neurosci. – 2006. – **26**, № 37. – P. 9385–9393.

РОЛЬ ВАНИЛОИДНОГО КОМПОНЕНТА В АНТИНОЦИЦЕПТИВНОМ ДЕЙСТВИИ КЕТОРОЛАКА

Резюме

Было исследовано влияние неопиоидного анальгетика кеторолака на TRPV1 на модели спинальной ноцицептивной стимуляции "tail-flick" и супраспинальной аналгезии "Hot plate". Выявлено умеренную модуляцию капсаицином антиноцицептивного эффекта кеторолака на модели "горячей пластины" и отсутствие эффекта при экспериментальном воспалении. Показано влияние капсаицина на антиноцицептивные эффекты кеторолака на модели "tail-flick".

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кеторолак, капсаицин, капсазепин, ванилоидный рецептор TRPV1.

О. Ye. Iadlovskiy, T. A. Bukhtiarova
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

THE ROLE OF VANILOID RECEPTOR IN ANTINOCICEPTIVE ACTION OF KETOROLAC

Summary

It was studied in the effect of non-opioid analgesic ketorolac to TRPV1 in the model of spinal nociceptive action tail-flick and supraspinal nociceptive action Hot plate. It was found out that capsaicin moderate modulation of antinociceptive effect of ketorolac is exposed on the models of hot plate model and absence of effect at experimental inflammation. It was shown the influence of capsaicin on the antinociceptive effects of ketorolac on the Tail-flick model.

KEY WORDS: capsaicin, capsazepin, ketorolac vaniloid receptor TRPV1.

Отримано 11.07.11

Адреса для листування: О. Е. Ядловський, Інститут фармакології та токсикології АМН України, вул. Ежена Потье, Київ, 03680, Україна.